

• 基础研究 •

中性粒细胞源性外泌体促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭

李 玲 陈佳豪 陈发林 陈良远

【摘要】 目的 研究中性粒细胞源性外泌体对肺腺癌细胞迁移和侵袭的影响。**方法** 采用 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 全反式维甲酸 (ATRA) 诱导人早幼粒细胞白血病 NB4 细胞分化成中性粒细胞, MGG 染色分析其形态学的改变, 流式细胞技术检测其表面标志物 CD11b 及 CD18 的表达。采用总外泌体试剂盒分离提取 NB4 细胞和中性粒细胞来源的外泌体, 利用透射电镜技术鉴定外泌体的形态与大小。通过细胞划痕和 Transwell 迁移实验分析 NB4 细胞和中性粒细胞来源的外泌体对 A549 细胞迁移能力的影响。采用 Transwell 侵袭实验研究 NB4 细胞和中性粒细胞来源的外泌体对 A549 细胞侵袭能力的影响。**结果** MGG 染色结果显示 NB4 细胞经 ATRA 诱导后分化成中性粒细胞, 且流式细胞检测结果表明中性粒细胞表面标志物 CD11b 及 CD18 表达明显升高。电镜下观察到 NB4 细胞和中性粒细胞来源的外泌体大小为 $40\sim 100\text{ nm}$, 形态呈双层膜, 中空, 圆形或椭圆形。细胞划痕和 Transwell 实验证实, 中性粒细胞源性外泌体比 NB4 细胞源性外泌体能更明显地增强肺腺癌细胞的迁移和侵袭能力。**结论** 中性粒细胞源性外泌体能明显促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭, 参与肺腺癌的发生发展。

【关键词】 中性粒细胞; 外泌体; 肺腺癌; 迁移; 侵袭

【中图分类号】 R392-33; R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2024)02-0107-07

Neutrophil-derived exosomes promote migration and invasion of lung adenocarcinoma cells

LI Ling, CHEN Jiahao, CHEN Falin, CHEN Liangyuan. Department of Clinical Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Provincial Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350001, China

Corresponding author: CHEN Liangyuan, Email: liangyuan039083@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the influence of neutrophil-derived exosomes on migration and invasion of lung adenocarcinoma cells. **Methods** All-trans retinoic acid (ATRA) was used to induce differentiation of human promyelocytic leukemia NB4 cells into neutrophils. The morphologic changes of neutrophils were analyzed by MGG staining, and the expressions of CD11b and CD18 for the neutrophils specific markers were detected by flow cytometry. The total exosome kit was used to isolate and extract exosomes derived from NB4 cells and neutrophils, the morphology and size of exosomes were identified by transmission electron microscopy. The wound healing and Transwell assay were used to investigate the effects of NB4-derived and neutrophil-derived exosomes on the migration and invasion of A549 cells. **Results** The NB4 cells were differentiated into neutrophils successfully and the expressions of CD11b and CD18 were significantly increased after ATRA induction. The NB4-derived and neutrophil-derived exosomes ranged from 40 nm to 100 nm , and were bilayer, hollow, round or oval. The NB4-derived and neutrophil-derived exosomes could promote the migration and invasion of A549 cells, and the effect of neutrophil-derived exosomes in promoting the migration and invasion of A549 cells was more pronounced. **Conclusion** Neutrophil-derived exosomes could promote the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells significantly, and play a major role in the occurrence and progression of lung adenocarcinoma.

【Key words】 neutrophils; exosomes; lung adenocarcinoma; migration; invasion

近年来肺腺癌在早期诊断和及时治疗两方面均 实现了跨越, 但患者的预后依然不容乐观, 其根本

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2020J05259)

作者单位: 福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院检验科, 福州 350001

通信作者: 陈良远, Email: liangyuan039083@163.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.02.030

原因在于肿瘤细胞易侵袭邻近组织和转移至远处器官^[1]。因此,探究肺腺癌转移、侵袭的影响因素及其作用机制,降低甚至阻断肿瘤细胞的转移和侵袭,将对提高肺腺癌诊疗效果与降低患者死亡率具有重要意义。

外泌体(exosome, EXO)是由内体出芽形成,与质膜融合后释放到细胞外的微小囊泡,直径在 40~100 nm^[2]。外泌体几乎存在于所有类型的细胞中,能通过传输异质性生物分子启动或抑制受体细胞中的各种信号通路,参与肿瘤微环境重塑、血管生成、侵袭和转移等不同癌症过程的形成和进展^[3]。其中,免疫细胞衍生的外泌体可以介导先天性和适应性免疫应答,并在肿瘤的发生发展进程中发挥重要作用^[4-5]。

中性粒细胞作为最有代表性的免疫细胞已经被证实,可以通过促进肿瘤细胞的生长转移、血管生成和免疫抑制等过程介导肿瘤的发生发展^[6-7]。全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)能通过诱导急性早幼粒细胞白血病 NB4 细胞获得成熟的中性粒细胞。其中,CD11b 和 CD18 均在 NB4 细胞中表达,并且在经 ATRA 诱导后的中性粒细胞中表达明显上调^[8-9]。研究显示,中性粒细胞能分泌产生外泌体,且中性粒细胞来源的外泌体参与了不同疾病的发生与演变;来自中性粒细胞的外泌体通过 IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 等炎症分子激活 NF- κ B 和 MAPK 信号通路,调节全身性脓疱型银屑病的免疫细胞迁移^[10]。然而,中性粒细胞源性外泌体在肺癌细胞转移和侵袭中的作用尚不清楚。本研究拟采用 ATRA 诱导 NB4 细胞获得成熟中性粒细胞,再通过体外实验分析中性粒细胞来源的外泌体对肺腺癌细胞迁移和侵袭的影响,为肺腺癌患者的及时诊疗及预后评估提供理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

A549 肺腺癌细胞由福建医科大学省立临床医学院检验科保存,NB4 髓系白血病细胞株购自中国科学院干细胞库;ATRA、MGG 染色试剂盒、4%多聚甲醛、无水乙醇和 0.5%结晶紫染色液购自北京索莱宝公司;PEAnti-CD18 抗体、Anti-CD11b 抗体和山羊抗兔荧光二抗 IgG 购自英国 Abcam 公司;无菌 PBS、DMEM 培养基、RPMI 1640 培养基、胰酶和胎牛血清(FBS)购自美国 Gibco 公司;细胞上清外泌体提取试剂盒购自美国 Thermo 公司;BCA 蛋白定量试剂盒、细胞裂解液购自上海

碧云天生物公司;基质胶(Matrigel)购自美国 BD 公司;Transwell 小室购自美国 Corning 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 A549 肺腺癌细胞接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,于 37℃、5% CO₂ 和 95% 饱和湿度的培养箱内培养,每 48 h 更换培养液 1 次,培养瓶中的细胞生长到 80%~95% 融合时进行细胞传代或收集细胞铺板培养。NB4 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,于 37℃、5% CO₂ 和 95% 饱和湿度的培养箱内培养,每 24 h 更换培养液 1 次,培养瓶中的细胞生长到 80%~90% 融合时进行细胞传代或收集细胞铺板培养。

1.2.2 诱导中性粒细胞分化 NB4 细胞被 1 μ mol/L 全反式维甲酸处理后,分别在不同时间(0、1、2、3、4、5 d)收集细胞,110 g 离心 5 min,弃上清;用 PBS 重悬细胞并调整细胞浓度到 1 \times 10⁷ 个/mL;取 20 μ L 细胞悬液滴在载玻片上,室温静置 30 min,使细胞完全贴附于载玻片上;以 4%多聚甲醛室温固定 30 min,自然晾干;加入 May-Grunwald 工作液 1 mL 染色 10 min,倾去染液;加入 Giemsa 工作液 1 mL 染色 20 min,倾去染液;无水乙醇速洗 3 次,弃尽无水乙醇,自然晾干;在 400 倍显微镜下观察细胞形态变化,并拍照。

1.2.3 中性粒细胞的鉴定 NB4 细胞接种密度 4 \times 10⁵ 个/mL 于 6 孔板,以 1 μ mol/L 全反式维甲酸处理 4 d;把细胞及培养液收集到离心管中,300 \times g 离心 5 min,弃上清;用 1 mL PBS 洗涤收集到的细胞,300 \times g 离心 5 min,弃上清;用 PBS 将细胞密度调整至 1 \times 10⁷ 个/mL;取 100 μ L 细胞悬液,加入 PEAnti-CD18 抗体及 Anti-CD11b 抗体混匀后,室温下避光反应 15 min;用 2 mL PBS 洗涤抗体标记细胞,300 \times g 离心 5 min,弃上清;用 200 μ L PBS 重悬细胞,加入山羊抗兔荧光二抗混匀后,室温下避光反应 15 min;用 2 mL PBS 洗涤抗体标记细胞,300 \times g 离心 5 min,弃上清;用 400 μ L PBS 重悬细胞进行流式细胞仪的检测。

1.2.4 外泌体的提取和鉴定 采用经典的差速离心+超速离心方法分离 NB4 细胞和中性粒细胞上清来源外泌体。收集的 NB4 细胞和中性粒细胞上清经 300 \times g 4℃离心 10 min 后弃沉淀,上清继续以 3 000 \times g 4℃离心 10 min 弃沉淀,经 0.22 μ m 过滤。100 000 \times g, 4℃,离心 2 h 弃上清,沉淀用 PBS 重悬后,再次 100 000 \times g, 4℃,离心 2 h

充上清, 沉淀用 PBS 重悬后 4 ℃ 保存待用。用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 重悬提取的外泌体, 并滴于孔径 2 nm 的铜网栅格上。室温下, 3% 磷钨酸溶液负染 5 min 后用清洁滤纸吸干多余负染液。晾干后, 在透射电子显微镜 (TEM) 下分别观察 NB4 细胞和中性粒细胞来源外泌体的形态。

1.2.5 细胞划痕实验 用 marker 笔沿直尺在 6 孔板背后均匀地画横线, 大约每隔 0.5~1 cm 画 1 条, 横穿过孔, 不少于 3 条; 设置 NC 对照组、NB4-EXO 组和 (NB4+ATRA)-EXO 组, 分别加入 PBS、10 μ g 未经诱导的 NB4 细胞来源外泌体、10 μ g 经 ATRA 诱导分化后的 NB4 细胞 (诱导性中性粒细胞) 来源外泌体; 胰酶消化 A549 细胞并计数, 240 \times g r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入配好的完全培养基重悬细胞, 铺于 6 孔板, 每孔加入约 3.5×10^5 个细胞; 次日, 用白枪头顺着直尺于孔中竖直划下 3 条划痕 (左、中、右各 1 条), 尽量垂直于背后的横线, 枪头要竖直, 不能倾斜, PBS 洗去悬浮细胞; PBS 轻洗细胞, 去除划下的细胞, 再加入等量的 DMEM 培养基, 选择合适的区域对划完的细胞进行拍照 (0 h); 放入 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 于 24 h 观察同一区域并拍照。

1.2.6 细胞迁移实验 准备 8 μ m 孔径 24 孔板专用 Transwell 小室, 加入 600 μ L 含血清培养基, 将小室放入其中, 避免膜与液面间产生气泡; 设置 NC 对照组、NB4-EXO 组和 (NB4+ATRA)-EXO 组, 分别加入 PBS、10 μ g 未经诱导的 NB4 细胞来源外泌体、10 μ g 经 ATRA 诱导分化后的 NB4 细胞 (诱导性中性粒细胞) 来源外泌体; 细胞消化后混匀计数, 室温条件下, 300 \times g r/min 离心 3 min, 更换为无血清 DMEM 培养基, 依据计数的结果计算所需无血清 DMEM 培养基的体积, 使终浓度为 8×10^4 个/100 μ L; 向 Transwell 小室中加入 100 μ L 细胞悬液, 置于细胞培养箱中培养 24 h; 培养结束之后用 PBS 漂洗, 接着加入 1 mL 4% 多聚甲醛固定 30 min, 随后用 0.5% 结晶紫染色 30 min, 然后再用棉签擦去滤膜上表面未穿过膜的细胞, 最后用 PBS 清洗干净; 显微镜下对 Transwell 小室进行拍照。

1.2.7 细胞侵袭实验 设置 NC 对照组、NB4-EXO 组和 (NB4+ATRA)-EXO 组, 分别加入

PBS、10 μ g 未经诱导的 NB4 细胞来源外泌体、10 μ g 经 ATRA 诱导分化后的 NB4 细胞 (诱导性中性粒细胞) 来源外泌体; 将保存于 -80 ℃ 的 Matrigel 放在 4 ℃ 过夜, 使其解冻变为液态; 向无血清 DMEM 培养基中加入适量 Matrigel, 然后混匀 (1:15 稀释, 整个过程中在冰上操作); 向 Transwell 小室中各加入 70 μ L 上述培养基 (培养基需提前预冷, 基质胶温度高于 10 ℃ 会凝固), 在 37 ℃ 细胞培养箱中放置 5 h 使其成为固态; 在 Transwell 上室中加入 100 μ L 无血清细胞悬液 (含 1×10^5 个细胞), 下室中加入 600 μ L 正常的培养基, 放入 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h; 余下步骤同细胞迁移实验。

1.2.8 统计学分析 应用 SPSS 24.0 软件进行数据处理, 多组间的两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 中性粒细胞的诱导与鉴定

MGG 染色结果显示, NB4 细胞被 1 μ mol/L ATRA 处理 3 d 后细胞核开始出现凹陷, 处理 4 d 后的细胞核有明显的凹陷, 表明成功诱导并获得中性粒细胞 (图 1)。此外, 选择 ATRA 未处理和 4 d 的细胞, 应用流式细胞仪检测其 CD11b 和 CD18 表达。结果显示, NC 组中 CD11b 单阳性的细胞占总细胞数的 54.91% (50.17%+4.74%)、CD18 单阳性的细胞占总细胞数的 82.63% (50.17%+32.46%), CD11b 和 CD18 均阳性的细胞占总细胞数的 50.17% [图 2 (b)]。与 NC 组相比, ATRA 处理组中 CD11b 及 CD18 表达明显升高, 其中 CD11b 单阳性的细胞占总细胞数的 68.95% (68.67%+0.28%)、CD18 单阳性的细胞占总细胞数的 98.54% (68.67%+29.87%), CD11b 和 CD18 均阳性的细胞占总细胞数的 68.67% [图 2 (c)]。此外, 如图 2 (d) 和 2 (e) 所示, NC 组中 CD11b 和 CD18 的荧光强度分别为 1 157 和 1 648, 而 ATRA 处理组中 CD11b 和 CD18 的荧光强度则分别达到了 1 767 和 3 349。综合 MGG 染色和流式细胞分析结果, 判定经 ATRA 处理 4 d 后, 中性粒细胞被成功诱导。后续采用 1 μ mol/L ATRA 诱导 4 d 的中性粒细胞来量产外泌体。

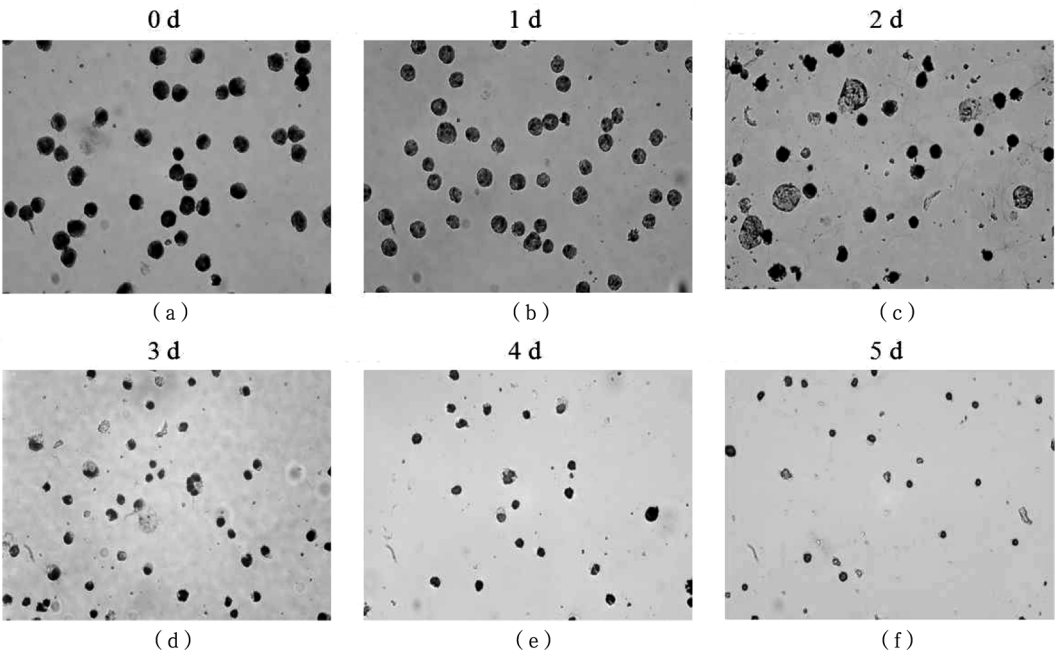
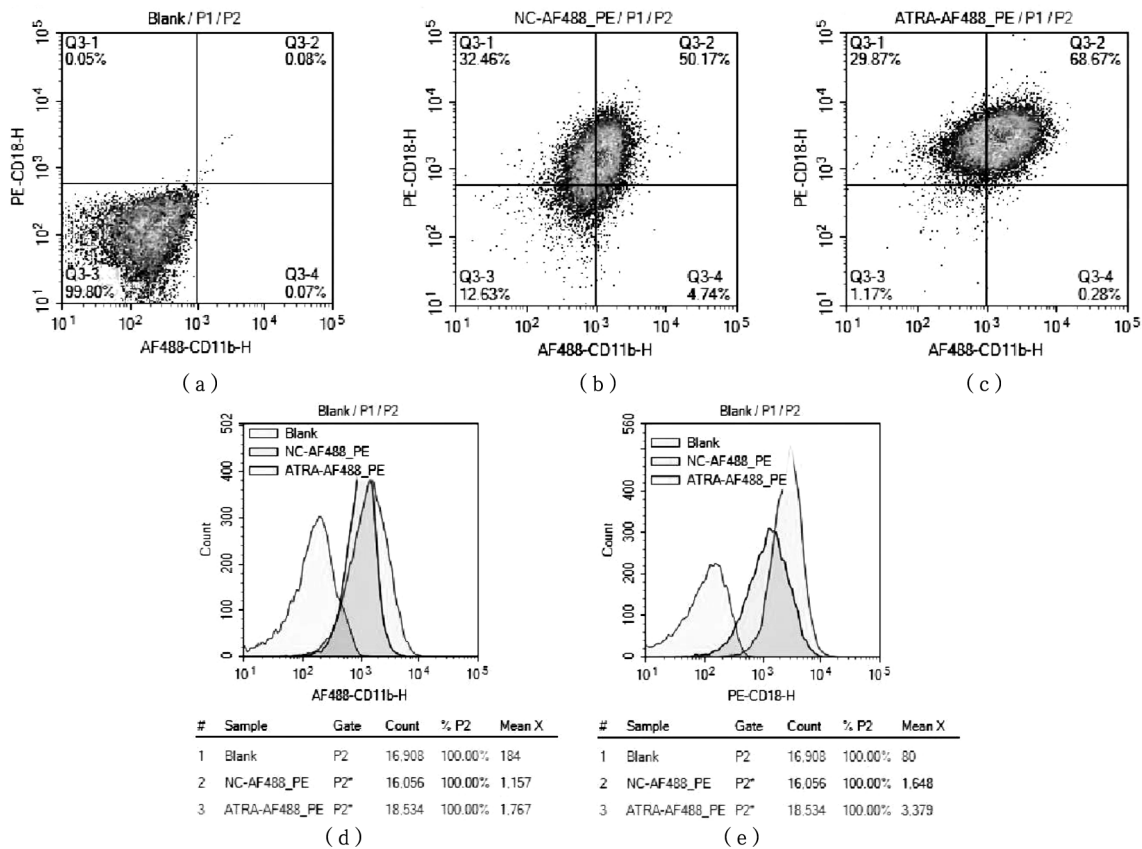


图 1 NB4 细胞被 ATRA 处理前和处理后细胞核凹陷程度的改变 (MGG 染色 $\times 400$)



注：(a) 为 NB4 细胞未被 ATRA 处理未孵育抗体，即 Blank；(b) 为 NB4 细胞未被 ATRA 处理，即 NC；(c) 为 NB4 细胞被 ATRA 处理 4 d；(d) 为 CD11b 在不同组中的表达差异；(e) 为 CD18 在不同组中的表达差异。

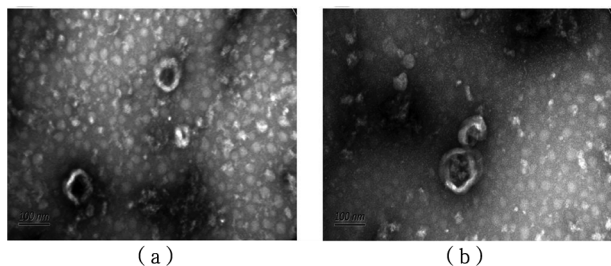
图 2 NB4 细胞被 ATRA 处理 4 d 后 CD11b 和 CD18 表达水平的变化

2.2 外泌体的提取和鉴定

通过透射电镜分别对 NB4 细胞和中性粒细胞

培养液中分离出来的上清外泌体进行观察，发现了直径为 40~100 nm 的球形囊泡，与外泌体的形态

特征相符 (图 3)。



注: (a) 为 NB4 细胞源性外泌体的形态; (b) 为中性粒细胞源性外泌体的形态。

图 3 透射电镜下 NB4 细胞和中性粒细胞源性外泌体的形态

2.3 中性粒细胞源性外泌体促进肺腺癌细胞迁移

细胞划痕实验结果显示, 与 NC 对照组相比,

NB4-EXO 组中 A549 细胞的迁移能力无明显改变, (NB4+ATRA)-EXO 组的 A549 细胞迁移能力增强 ($P<0.05$, 图 4)。进一步的 Transwell 迁移分析表明, 在 NB4-EXO 组 ($P<0.01$, 图 5) 和 (NB4+ATRA)-EXO 组 ($P<0.001$, 图 5) 中, 穿过 Transwell 小室的 A549 细胞数量多于 NC 对照组, 且 (NB4+ATRA)-EXO 组迁移的 A549 细胞数量更多, 说明 NB4-EXO 组和 (NB4+ATRA)-EXO 组均能有效促进 A549 细胞的迁移速率, 并且 (NB4+ATRA)-EXO 组表现出更强的迁移能力。因此, 未经诱导的 NB4 细胞来源外泌体和 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞来源外泌体均能促进肺腺癌细胞迁移, 但 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞来源外泌体具有更强的促进作用。

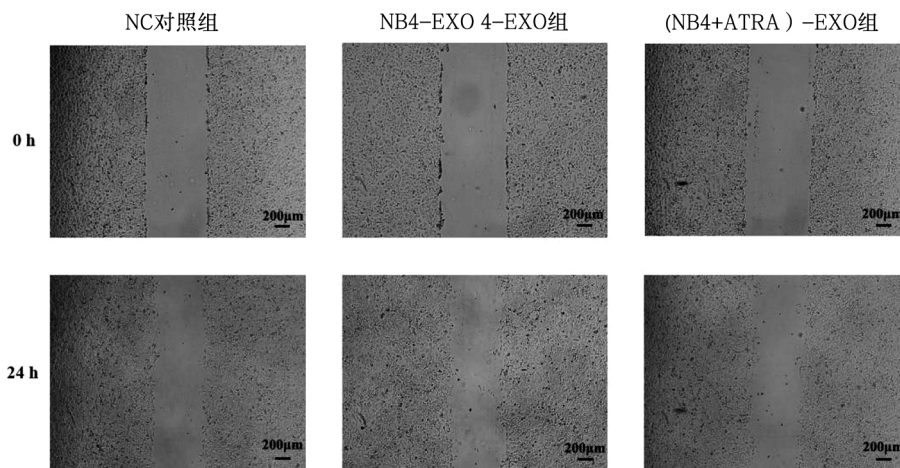


图 4 细胞划痕实验检测 NB4 细胞源性外泌体和中性粒细胞源性外泌体对 A549 肺腺癌细胞迁移的影响

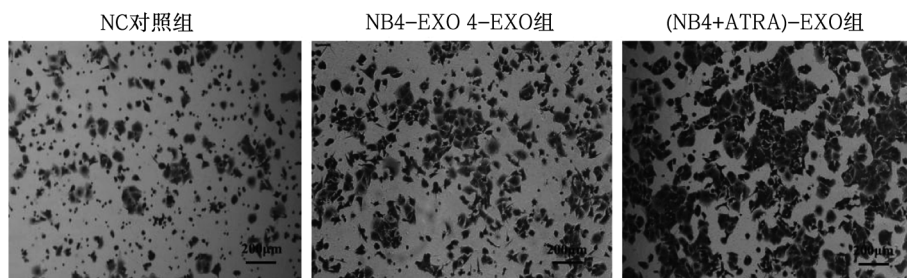


图 5 Transwell 迁移实验检测 NB4 细胞源性外泌体和中性粒细胞源性外泌体对 A549 肺腺癌细胞迁移的影响

2.4 中性粒细胞源性外泌体促进肺腺癌细胞侵袭

Transwell 侵袭实验的结果表明, NB4-EXO 组 ($P<0.05$, 图 6) 和 (NB4+ATRA)-EXO 组 ($P<0.01$, 图 6) 与 NC 对照组相比, 其穿过基质胶和 Transwell 小室的 A549 细胞明显增多, 说明 NB4-EXO 组和 (NB4+ATRA)-EXO 组能提高

A549 细胞的侵袭速率。此外, (NB4+ATRA)-EXO 组的 A549 细胞较 NB4-EXO 组具有更高的侵袭速率。以上结果证实, 未经诱导的 NB4 细胞来源外泌体和 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞来源外泌体均能增强肺腺癌细胞侵袭, 但 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞来源外泌体具有更强的增强侵

袭作用。

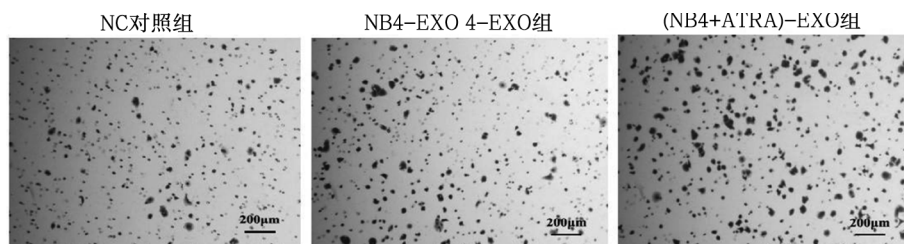


图 6 Transwell 侵袭实验检测 NB4 细胞源性外泌体和中性粒细胞源性外泌体对 A549 肺腺癌细胞侵袭的影响

3 讨论

BHATIA 等^[11]研究表明,急性早幼粒细胞白血病 NB4 细胞经全反式维甲酸诱导后分化为中性粒细胞。这与本研究的流式检测结果相符,且其特异性表面标志物 CD11b 和 CD18 的表达水平明显升高。长期以来,中性粒细胞被认为是免疫系统的先驱细胞,通过产生活性氧、释放裂解酶和诱导吞噬作用调节机体先天性和适应性免疫应答^[12];能稳定地存在于体液循环中,在临床的诊断和治疗中得到广泛应用^[13-14]。此前的研究指出人急性早幼粒细胞白血病细胞系 NB4 细胞与中性粒细胞均能合成并释放外泌体^[15-16]。

本研究的 Transwell 迁移实验显示,来源于人早幼粒细胞白血病 NB4 细胞经过 ATRA 诱导分化中性粒细胞的外泌体,相较于未处理对照和未经 ATRA 诱导处理的 NB4 细胞外泌体,能加快 A549 肺腺癌细胞的迁移速率。与本实验结果相一致, MKHOBONGO 等^[17]发现黑色素瘤衍生的外泌体通过重塑细胞外基质、诱导炎症和增加血管通透性,促进肿瘤转移。事实上,肿瘤的转移是一系列复杂的细胞生物学事件构成的级联反应,除了远处转移外,局部侵袭也是不可或缺的环节^[18]。本研究中的 Transwell 侵袭实验进一步证实, ATRA 处理 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞来源的外泌体,相较于未处理对照和未经 ATRA 诱导处理的 NB4 细胞外泌体,能加快 A549 肺腺癌细胞的侵袭能力。PRITCHARD 等^[19]也指出肺肿瘤来源的外泌体通过调节肺肿瘤微环境中 M2 巨噬细胞极化,参与肿瘤的恶性进展。所以,本研究表明 ATRA 处理 NB4 细胞诱导分化的中性粒细胞源性外泌体能有效促进 A549 细胞的迁移和侵袭能力。随着研究的深入,陆续有研究人员发现来自中性粒细胞的外泌体参与了多种疾病的发生和进展。LI 等^[20]表明,中性粒细胞分泌的外泌体通过分泌非编码 RNA,介

导 PI3K-Akt、MAPK、AMPK 和 FoxO 信号通路,进而参与调控皮炎的发生。此外,中性粒细胞分泌的外泌体能通过抑制人真皮微血管内皮细胞的增殖和迁移,影响系统性硬化症的进展^[21]。然而,目前关于中性粒细胞源性外泌体在肿瘤中的作用研究并不多见。最新的研究发现中性粒细胞源性外泌体合成并携带的化学引诱物白三烯,参与介导肿瘤细胞的趋化性运动^[22]。本研究进一步分析中性粒细胞源性外泌体对 A549 细胞侵袭速率的影响,结果显示中性粒细胞源性外泌体比 NB4 细胞源性外泌体更能促进肺腺癌细胞的侵袭能力。WANG 等^[23]报道, N2 型中性粒细胞分泌的外泌体能通过 miRNA 调控结直肠癌细胞侵袭和转移,与本研究一致。最近也有学者提出,中性粒细胞的外泌体系统可以输送多柔比星,并直接靶向脑胶质瘤中的浸润性肿瘤细胞^[24]。可见,中性粒细胞源性外泌体不仅在肿瘤的进展中发挥作用,还在肿瘤的治疗中显现出较高价值。

综上所述,本研究证实 NB4 细胞经 ATRA 诱导后分化成中性粒细胞,且中性粒细胞能合成并释放外泌体。此外,本研究还首次通过细胞功能实验表明,中性粒细胞源性外泌体能显著增强肺腺癌细胞的迁移和侵袭能力,从而促进肺腺癌的发生发展。然而,其具体的作用机制尚不清晰,仍需更进一步的临床样本分析和动物实验加以验证。

参考文献

- [1] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389 (10066): 299-311.
- [2] KAHLERT C, KALLURI R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91 (4): 431-437.
- [3] GURUNG S, PEROCHAU D, TOURAMANIDOU L, et al. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling [J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19

- (1): 47.
- [4] YAN W, JIANG S. Immune cell-derived exosomes in the cancer-immunity cycle [J]. Trends Cancer, 2020, 6 (6): 506-517.
- [5] CAI Z, YANG F, YU L, et al. Activated T cell exosomes promote tumor invasion via Fas signaling pathway [J]. J Immunol [J]. 2012, 188 (12): 5954-5961.
- [6] LIANG W, FERRARA N. The complex role of neutrophils in tumor angiogenesis and metastasis [J]. Cancer Immunol Res, 2016, 4 (2): 83-91.
- [7] SWIERCZAK A, MOUCHEMORE K A, HAMILTON J A, et al. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis [J]. Cancer Metastasis Rev, 2015, 34 (4): 735-751.
- [8] KHANNA-GUPTA A, KOLIBABA K, ZIBELLO T A, et al. NB4 cells show bilineage potential and an aberrant pattern of neutrophil secondary granule protein gene expression [J]. Blood, 1994, 84 (1): 294-302.
- [9] DELLA VIA F I, SHIRAISHI R N, SANTOS I, et al. (—)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis and differentiation in leukaemia by targeting reactive oxygen species and PIN1 [J]. Sci Rep, 2021, 11 (1): 9103.
- [10] SHAO S, FANG H, ZHANG J L, et al. Neutrophil exosomes enhance the skin autoinflammation in generalized pustular psoriasis via activating keratinocytes [J]. FASEB J, 2019, 33 (6): 6813-6828.
- [11] BHATIA M, KIRKLAND J B, MECKLING-GILL K A. Modulation of poly (ADP-ribose) polymerase during neutrophilic and monocytic differentiation of promyelocytic (NB4) and myelocytic (HL-60) leukaemia cells [J]. Biochem J, 1995, 308 (Pt 1): 131-137.
- [12] NATHAN C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6 (3): 173-182.
- [13] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. Science, 2020, 367 (6478): 6977.
- [14] CUI Z L, LI Y, GAO Y N, et al. Cancer-testis antigen lactate dehydrogenase C4 in hepatocellular carcinoma: a promising biomarker for early diagnosis, efficacy evaluation and prognosis prediction [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12 (19): 19455-19467.
- [15] SHEN C, HAO S G, ZHAO C X, et al. Antileukaemia immunity: effect of exosomes against NB4 acute promyelocytic leukaemia cells [J]. J Int Med Res, 2011, 39 (3): 740-747.
- [16] JIAO Y, ZHANG T, ZHANG C M, et al. Exosomal miR-30d-5p of neutrophils induces M1 macrophage polarization and primes macrophage pyroptosis in sepsis-related acute lung injury [J]. Crit Care, 2021, 25 (1): 356.
- [17] MKHOBONGO B, CHANDRAN R, ABRAHAMSE H. The role of melanoma cell-derived exosomes (mtex) and photodynamic therapy (pdt) within a tumor microenvironment [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (18): 9726.
- [18] VALASTYAN S, WEINBERG R A. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms [J]. Cell, 2011, 147 (2): 275-292.
- [19] PRITCHARD A, TOUSIF S, WANG Y, et al. Lung tumor cell-derived exosomes promote M2 macrophage polarization [J]. Cells, 2020, 9 (5): 1303.
- [20] LI L Y, ZUO X X, LIU D, et al. The functional roles of RNAs cargoes released by neutrophil-derived exosomes in dermatomyositis [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 727901.
- [21] LI L Y, ZUO X X, XIAO Y Z, et al. Neutrophil-derived exosome from systemic sclerosis inhibits the proliferation and migration of endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526 (2): 334-340.
- [22] JALA V R, BODDULURI S R, SATPATHY S R, et al. The yin and yang of leukotriene B4 mediated inflammation in cancer [J]. Semin Immunol, 2017, 33: 58-64.
- [23] WANG L, YANG J, HUANG J, et al. miRNA expression profile in the N2 phenotype neutrophils of colorectal cancer and screen of putative key miRNAs [J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 5491-5503.
- [24] WANG J, TANG W, YANG M, et al. Inflammatory tumor microenvironment responsive neutrophil exosomes-based drug delivery system for targeted glioma therapy [J]. Biomaterials, 2021, 273: 120784.

• 读者 • 作者 • 编者 •

关于基金项目的书写规定及要求

本刊对承担省部级以上基金课题发表的论文,将启用“快速通道”优先发表。凡投稿论文涉及的课题获得国家或省部级等项目基金资助,请将基金项目名称脚注于文题页左下方并括注基金编号,投稿时随文附上基金证明文件扫描件。若在本刊发表论文所属的项目获得科技成果奖,请务必及时通知编辑部,并将获奖证书扫描件发给本刊,同时注明论文发表的卷、期及第一作者姓名。以便编辑部统计备案,并编入作者数据库。