

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2024.07.022

综 述

外泌体检测在同种器官移植排斥反应中的应用进展

王祎涵* 雷子龙* 高煜 林森豪综述 贾钰审校



基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81801587)

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肾内科

通信作者: 贾钰 E-mail: jiayudr@foxmail.com

【摘要】 实体器官移植是终末期器官衰竭最有效的治疗方法,然而移植后排斥反应会对移植器官造成损伤,减少移植存活时间。近年来,液体活检成为一种检测和诊断排斥反应的重要手段,其中外泌体的研究尤其受到关注。外泌体作为生物标志物,具有非侵入性、诊断准确性高等优点,可用于诊断移植排斥反应。文章就外泌体检测在同种器官(包括肾、肺、心脏、肝脏等)移植排斥反应中的研究进展进行综述。

【关键词】 外泌体; 器官移植; 排斥反应; 液体活检**【中图分类号】** R446.1 **【文献标识码】** A

Progress in the application of exosome detection in rejection after allogeneic organ transplantation Wang Yihan* Lei Zilong Gao Yu Lin Senhao Jia Yu.* Department of Nephrology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Province, Wuhan 430030, China

Funding program: Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China(81801587)

Corresponding author: Jia Yu E-mail: jiayudr@foxmail.com

【Abstract】 Solid organ transplantation is the most effective treatment for end-stage organ failure. However, post-transplant rejection can damage the transplanted organ and reduce the survival time of the transplant. In recent years, liquid biopsy has become an important means for detecting and diagnosing rejection reactions, with particular attention paid to the study of exosomes. As biomarkers, exosomes have the advantages of being non-invasive and highly accurate in diagnosis, and can be used to diagnose transplant rejection. This article reviews the research progress of exosome detection in allogeneic organ transplant rejection, including kidneys, lungs, hearts, livers, etc.

【Key words】 Exosomes; Organ transplantation; Rejection; Liquid biopsy

实体器官移植后排斥反应会对移植器官造成损伤,并减少移植存活时间。因此,迫切需要更多、更精确的用于诊断排斥反应的生物标志物。近年来,液体活检已成为一种备受关注的诊断方法,它主要通过检测患者血液、尿液中游离的循环肿瘤 DNA(ctDNA)、循环肿瘤细胞(CTC)和外泌体(Exosome)等,对疾病进行诊断。相比于传统的组织活检,液体活检是非侵入手段,对患者几乎不会造成损害,并且有灵活的取样时间,同时利于保存。Vallabhajosyula等^[1]证明外泌体在液体活检中具有可行性:移植植物可以向受体的循环中释放供体特异性外泌体;在排斥反应中外泌体信号量随时间明显变化,其RNA和蛋白质组特征也具有组织特异性,并随排斥反应的发生而变化。相比于其他液体活检,外泌体有着显著的优越性:几乎存在于所有体液中,鉴定清晰明了,诊断准确性相对较高,对于亲代细胞更具有代表性等^[2-5]。因此可以应用于诊断器官移植排斥反应,现对其研究进展进行综述。

1 外泌体概述

20世纪80年代早期,Pan和Johnstone首次提出了外泌体的概念,将其定义为一种在细胞的多泡体中形成的特殊细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV),直径30~150 nm^[6]。这些囊泡通过其脂质双层结构封装并运输包括DNA、mRNA、各类RNA及蛋白质等多种重要的生物分子,从而在细胞间实现信息的传递^[7]。外泌体由包括免疫细胞(如T细胞、B细胞、巨噬细胞)和非免疫细胞(如成纤维细胞、内皮细胞、肿瘤细胞)在内的多种类型细胞分泌,可以在人体的血液、尿液等体液中被检测到,并通过特定的标志物蛋白如CD63、ALIX、TS101和HSP70来区分外泌体与其他类型的细胞外囊泡,为疾病的非侵入式检测提供新的可能性^[8-10]。

在临床实践中,外泌体的应用较广泛。肿瘤源性外泌体与肿瘤的进展、转移及免疫逃逸紧密相关,它们在癌症的诊断、治疗及预后评估中提供了一种相对于传统活检更具优势的早期筛查方法^[11]。在心血管疾病方面,通过携带特定的miRNA和蛋白质,外泌体能够精确反映疾病的状态和进展,为心血管

*注:王祎涵、雷子龙为共同第一作者

疾病的早期诊断、病情监测及治疗效果评估提供重要的依据^[12]。此外,外泌体在器官移植领域中扮演着关键角色,通过传递免疫调节分子和蛋白质,为移植器官排斥反应的诊断提供了一种无创且创新的方法^[13]。

2 器官移植后排斥反应

近数十年来实体器官移植发展迅速,作为终末期器官衰竭患者的终极治疗手段,实体器官移植病例的数量日渐增加。尽管移植技术以及免疫抑制疗法不断进步,器官移植后排斥反应仍然成为移植失败的主要原因^[14]。器官移植后排斥反应可分为超急性、急性和慢性排斥反应。

超急性排斥反应(hyperacute rejection, HAR)一般指移植物与血管接通 24 h 内发生的移植物破坏,通常持续数分钟至数小时。发生机制主要为受者体内预存的供体特异性抗体与移植物内皮细胞的抗原结合,诱发补体 C3b 形成,补体活化产生膜攻击复合物,从而导致内皮细胞溶解,血管破坏最终造成移植物排斥反应^[15]。

急性排斥反应(acute rejection, AR)是最常见的排斥反应类型,主要在移植早期发生,于移植后 2~10 周发病率达到高峰。其主要可分为两大类,分别是 T 细胞介导的排斥反应(T cell-mediated rejection, TCMR)以及抗体介导的排斥反应(antibody-mediated rejection, ABMR)^[16-17]。TCMR 是急性排斥反应中最主要的类型,其发病机制包括 T 细胞识别移植物抗原并通过分泌多种细胞因子,如干扰素- γ (IFN- γ)等,导致炎症反应和组织损伤。此过程引起慢性炎症反应、纤维化及动脉内皮病变,并可能作为致敏事件触发 ABMR,进一步影响移植物功能^[18]。ABMR 的发病机制则为供者特异性抗体(donor-specific antibodies, DSAs)识别并结合移植物内皮细胞表面的 HLA 抗原或其他靶点,导致内皮细胞损伤。随后,通过补体依赖和非依赖机制,内皮细胞受到进一步损伤,引发炎症反应。如果 DSAs 激活补体,经典补体途径被迅速激活,生成化学趋化因子 C3a 和 C5a,最终形成膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC),导致细胞裂解和组织损伤。损伤的内皮细胞会释放炎症因子,吸引白细胞附着到肾小球和扩张的管周毛细血管,进一步加剧炎症反应。持续的抗体介导的损伤会导致慢性炎症反应、纤维化及动脉内皮病变,最终造成移植物受损^[19]。

慢性排斥反应(chronic rejection, CR)是一种导致移植物功能逐渐且缓慢恶化的排斥反应,通常发生于移植手术后 3 个月,并持续 6 个月以上,伴有特征性的组织学和影像学变化。CR 的发病机制通常是多重性的,包括免疫性和非免疫性的肾脏损伤机制。免疫因素包括组织相容性差、既往致敏史、DSA (HLA 和非 HLA 抗体)以及免疫抑制剂剂量不足等。非免疫因素则包括缺血一再灌注损伤、移植物功能延迟恢复(delayed graft function, DGF)、老年和扩大标准的尸体供者、心脏死亡器官捐献供肾、供者和受者肾脏大小不匹配、钙神经蛋白抑制剂(calcineurin inhibitors, CNI)肾毒性、高血压、高血脂、吸烟及巨细胞病毒感染等^[20]。

3 外泌体在排斥反应中的应用

3.1 肾移植 外泌体作为排斥反应标志物在肾移植中具有广

泛的研究。在肾移植排斥反应中, Palmieri 等^[21]发现尿液外泌体的 mRNA 可以鉴别肾移植排斥反应,其中 3 个基因(CX-CL11、CD74 和 C3)的转录本存在于所有原因导致的排斥反应特征中,另外 2 个基因(IFNAR2、CD44)可以帮助区分 ABMR 和 TCMR,具有成为肾移植后排斥反应生物标志物的潜力。此外, Park 等^[22]则通过一个基于尿液的综合肾脏外泌体分析(iKEA)的平台在肾排斥患者体内发现了高水平的 CD3 阳性 EV,这也可能作为肾移植排斥的标志物。

Seo 等^[23]对急性排斥反应患者 29 种尿液外泌体 miRNA 进行了鉴定,并发现了 7 种差异表达的 miRNA,其中由 hsa-miR-21-5p、hsa-miR-31-5p 和 hsa-miR-4532 组成的 3 种 miRNA 模型可以用作肾移植 AR 的潜在生物标志物,尿液外泌体(Ue)特异性蛋白也可能是 AR 的潜在生物标志物^[24]。

Tower 等^[25]发现血浆中 C4d⁺ 内皮微囊泡定量测定可用于诊断 ABMR,还可以反映其严重程度;另一研究发现血浆外泌体中的 gp130、SH2D1B、TNF- α 和 CCL4 的 mRNA 转录谱可以用来诊断和预测正在或即将发生的 ABMR^[26]。此外,一项研究发现胱抑素 C(Cys-C)和脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein, LBP)在 ABMR 中存在差异性表达^[27],所以,认为 Cys-C 和 LBP 可能也是 ABMR 潜在的生物标志物。

TCMR 的生物标志物也获得了许多研究人员的关注。Lim 等^[28]研究发现,TCMR 患者的尿液外泌体中四跨膜蛋白(Tetraspanin-1)和血红蛋白结合蛋白(hemopexin)明显升高,可以作为 TCMR 的潜在诊断蛋白。日本一项在全国范围内进行的研究发现,TCMR 患者样本的 EV 中 CXCL9、CXCL10 和尿调节素(UMOD)升高^[29],并且准确度相对较高,可以作为 mRNA 类生物标志物。

除了上述关于急性排斥反应的标志物之外,肾移植后移植物功能延迟恢复的生物标志物也有重要的意义。Alvarez 等^[30]发现尿液外泌体内中性粒细胞膜脂酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)可用于评估肾移植后 DGF 的发生。Wang 等^[31]发现 3 种 miRNA(hsa-miR-33a-5p、R-1、hsa-miR-98-5p 和 hsa-miR-151a-5p)在 DGF 肾移植受者中表达显著增加,笔者认为这些 miRNA 可以作为 DGF 的候选生物标志物。与这项研究相似,Chen 等^[32]发现血浆外泌体 miR-21、miR-210 和 miR-4639 可以区分慢性移植物功能障碍和移植物功能正常的患者,这些循环外泌体 miRNA 或许可以用于诊断慢性移植物功能障碍。

3.2 肺移植 研究人员在肺移植后发生急性排斥反应患者的支气管肺泡灌洗液及血清、血浆中发现了潜在的生物标志物。Gregson 等^[33]发现发生急性排斥反应的肺移植患者支气管肺泡灌洗液中外泌体 RNA 谱发生改变;Gunasekaran 等^[34]发现在 AR 期间释放到循环中的外泌体,表达供体的同种抗原和超抗原(SAGs)在 AR 诊断前 3 个月表达 V 型胶原蛋白(Col-V)。急性排斥反应不仅会导致移植物损伤,还可能导致慢性肺移植功能障碍,因此这些生物标志物可以作为诊断和预测的标准,指导肺移植患者的早期治疗干预。

对于肺移植慢性移植排斥反应, Rahman 等^[35]发现小鼠肺

移植后,通过 LKB1-STRAD α 通路下调诱导纤维化增加,循环外泌体中肿瘤抑制基因肝脏激酶 B1(LK-B1)水平下调,可导致慢性排斥反应,因此可作为肺移植慢性排斥反应的潜在生物标志物。然而慢性肺移植功能障碍有 2 种不同的表型,即闭塞性细支气管炎综合征(bronchiolitis obliterans syndrome, BOS)和限制性同种异体移植综合征(restrictive allograft syndrome, RAS),因此需要寻找两者特异的生物标志物。Sharma 等^[36]发现患有 BOS 的小儿肺移植受者外周血外泌体中的 SAgs、供体 HLA-I 类、MHC-II、转录因子、共刺激分子和 20S 蛋白酶体的水平均较高,并且在 BOS 之前的循环中可以检测到含有 SAg 的外泌体。Bansal 等^[37]则发现发生 BOS 和 RAS 的肺移植受者具有不同的分子和免疫学特征的外泌体,相比于 BOS 患者,RAS 患者的外泌体具有较高浓度的促炎因子、人类白细胞抗原 II 类、抗人类白细胞抗原 II 类分子抗体,而 BOS 外泌体诱导了轻度到斑片状的炎性反应并伴有肺纤维化。这些循环外泌体可能是区分和诊断 BOS 和 RAS 的潜在生物标志物。

3.3 心脏移植 在心脏移植中,心内膜心肌活检(endomyocardial biopsy, EMB)是同种异体排斥反应的金标准,但由于其侵入性和取样误差等缺点,临床需要发现非侵入性且可靠的新检测方法。一些研究已经发现了潜在的心脏移植后排斥反应的非侵入性生物标志物。Habberthuer 等^[38]发现来自受体血浆的供体心脏特异性外泌体可以高精度无创监测早期急性排斥反应,因此可以作为非侵入性生物标志物。Kennel 等^[39]研究表明急性心脏同种异体移植排斥反应的发生会引起几种血清外泌体蛋白的显著变化,可以作为监测急性移植排斥反应的新方法。Castellani 等^[40]则发现,无论是抗体介导的排斥反应还是急性细胞性排斥反应,患者的 EV 浓度均升高,并且与对照组相比, EV 表面标记 CD3、CD2、ROR1、SSEA-4、HLA-I 和 CD41b 可以鉴别 TCMR,而 HLA-II、CD326、CD19、CD25、CD20、ROR1、SSEA-4、HLA-I 和 CD41b 可鉴别 ABMR 患者。这些生物标志物在心脏排斥反应的诊断和检测方面具有很大的潜力,并且可能作为 EMB 的辅助和补充检测方法。

3.4 肝移植 肝移植中也有一些生物标志物方面的研究。Zhang 等^[41]发现 TCMR 患者的循环外泌体中半乳糖凝集素-9(galectin-9)蛋白水平显著升高。进一步通过组织芯片免疫组化分析发现,TCMR 组患者切除肝脏中 galectin-9 的表达明显高于非排斥组。这些结果表明 galectin-9 在肝移植排斥反应中具有重要作用,可能成为预测肝移植后排斥反应的潜在生物标志物。Niu 等^[42]则发现,肝移植后外泌体 miR-155 与肝硬化的进展及临床预后指标密切相关,因此,外泌体 miR-155 可以作为肝移植后肝纤维化发生及进展的非侵入性标志物。

肝移植后仍有部分患者会出现肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)复发^[43]。研究发现血清外泌体 miR-718 和循环外泌体 miR-92b 在肝移植后 HCC 复发和不复发病例中表达水平显著不同,因此,二者可以作为预测早期肝移植后肝细胞癌复发的潜在生物标志物^[44-47]。

4 小结与展望

外泌体作为生物标志物在器官移植中的应用具有显著优

点。首先,外泌体存在于几乎所有体液中,提取方便,非侵入性检测使其对患者无损害。其次,外泌体携带的 RNA 和蛋白质组特征能够反映供体与受体之间的生物信息交换,具有诊断准确性。外泌体标志物能够早期诊断急性和慢性排斥反应,提高移植后的监测和管理水平。最后,外泌体标志物还可用于监测移植后的并发症,如病毒感和药物反应,为个性化治疗提供依据。这些优点使外泌体成为一种有应用前景的工具,有助于提高移植器官的存活率和患者的生存质量。

但同时目前的研究也存在着许多的限制:(1)在上述发现的生物标志物中绝大多数都是 RNA 类和蛋白质类,并且主要样本来源是血液与尿液,还有许多可能的标志物类型及不同的样本来源等待发掘。(2)绝大部分研究只研究了某一种或某一类生物标志物,笔者认为将不同的生物标志物组合起来或将生物标志物与临床现有的诊断监测手段联合起来,可能会有新的发现。(3)不同移植器官可能会发生不同类型的排斥反应,针对每种类型的排斥反应需要更加特异性的生物标志物来监测并指导治疗。(4)目前许多的生物标志物仅停留在实验室研究的阶段,还未应用于临床,如何将相关实验成果应用于临床,是未来发展的方向。

参考文献

- [1] Vallabhajosyula P, Korutla L, Habberthuer A, et al. Tissue-specific exosome biomarkers for noninvasively monitoring immunologic rejection of transplanted tissue [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1375-1391. DOI: 10.1172/JCI87993.
- [2] Cheruvanky A, Zhou H, Pisitkun T, et al. Rapid isolation of urinary exosomal biomarkers using a nanomembrane ultrafiltration concentrator [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292(5): F1657-F1661. DOI: 10.1152/ajprenal.00434.2006.
- [3] Cheng Y, Zeng Q, Han Q, et al. Effect of pH, temperature and freezing-thawing on quantity changes and cellular uptake of exosomes [J]. *Protein Cell*, 2019, 10(4): 295-299. DOI: 10.1007/s13238-018-0529-4.
- [4] Sun B, Li Y, Zhou Y, et al. Circulating exosomal CPNE3 as a diagnostic and prognostic biomarker for colorectal cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1416-1425. DOI: 10.1002/jcp.26936.
- [5] Cai X, Janku F, Zhan Q, et al. Accessing genetic information with liquid biopsies [J]. *Trends Genet*, 2015, 31(10): 564-575. DOI: 10.1016/j.tig.2015.06.001.
- [6] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: Selective externalization of the receptor [J]. *Cell*, 1983, 33(3): 967-978. DOI: 10.1016/0092-8674(83)90040-5.
- [7] Thery C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function [J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 569-579. DOI: 10.1038/nri855.
- [8] Okoye IS, Coomes SM, Pelly VS, et al. MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells [J]. *Immunity*, 2014, 41(1): 89-103. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.05.019.
- [9] Sun IO, Lerman LO. Urinary extracellular vesicles as biomarkers of kidney disease: From diagnostics to therapeutics [J]. *Diagnostics*

- (Basel) 2020 ,10(5) : 311. DOI: 10.3390/diagnostics10050311.
- [10] Xu R ,Greening DW ,Zhu HJ et al. Extracellular vesicle isolation and characterization: Toward clinical application [J]. *J Clin Invest* 2016 , 126(4) : 1152-1162. DOI: 10.1172/JCI81129.
- [11] Macias M ,Alegre E ,Diaz-Lagares A et al. Liquid biopsy: From basic research to clinical practice [J]. *Adv Clin Chem* 2018 ,83: 73-119. DOI: 10.1016/bs.acc.2017.10.003.
- [12] Ghafarian F ,Pashirzad M ,Khazaei M et al. The clinical impact of exosomes in cardiovascular disorders: From basic science to clinical application [J]. *J Cell Physiol* 2019 ,234(8) : 12226-12236. DOI: 10.1002/jcp.27964.
- [13] Benichou G ,Valujskikh A ,Heeger PS. Contributions of direct and indirect T cell alloreactivity during allograft rejection in mice [J]. *J Immunol* 1999 ,162(1) : 352-358.
- [14] Golebiewska JE ,Wardowska A ,Pietrowska M et al. Small extracellular vesicles in transplant rejection [J]. *Cells* 2021 ,10(11) : 2989. DOI: 10.3390/cells10112989.
- [15] Zeyland J ,Lipinski D ,Slomski R. The current state of xenotransplantation [J]. *J Appl Genet* 2015 ,56(2) : 211-218. DOI: 10.1007/s13353-014-0261-6.
- [16] Halloran PF ,Reeve JP ,Pereira AB et al. Antibody-mediated rejection ,T cell-mediated rejection ,and the injury-repair response: New insights from the Genome Canada studies of kidney transplant biopsies [J]. *Kidney Int* 2014 ,85(2) : 258-264. DOI: 10.1038/ki.2013.300.
- [17] Chong AS. Mechanisms of organ transplant injury mediated by B cells and antibodies: Implications for antibody-mediated rejection [J]. *Am J Transplant* 2020 ,20(Suppl 4) : 23-32. DOI: 10.1111/ajt.15844.
- [18] Randhawa P. T-cell-mediated rejection of the kidney in the era of donor-specific antibodies: Diagnostic challenges and clinical significance [J]. *Curr Opin Organ Transplant* 2015 ,20(3) : 325-332. DOI: 10.1097/MOT.000000000000189.
- [19] Davis S ,Cooper JE. Acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients [J]. *Transplant Rev (Orlando)* 2017 ,31(1) : 47-54. DOI: 10.1016/j.trre.2016.10.004.
- [20] 石炳毅 ,李宁. 肾移植排斥反应临床诊疗技术规范(2019版) [J]. *器官移植* 2019 ,10(5) : 505-512. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.05.008.
- [21] Palmieri V ,Mansueto G ,Coscioni E et al. Novel biomarkers useful in surveillance of graft rejection after heart transplantation [J]. *Transpl Immunol* 2021 ,67: 101406. DOI: 10.1016/j.trim.2021.101406.
- [22] Park J ,Lin HY ,Assaker JP et al. Integrated kidney exosome analysis for the detection of kidney transplant rejection [J]. *ACS Nano* 2017 , 11(11) : 11041-11046. DOI: 10.1021/acsnano.7b05083.
- [23] Seo JW ,Lee YH ,Tae DH et al. Development and validation of urinary exosomal microRNA biomarkers for the diagnosis of acute rejection in kidney transplant recipients [J]. *Front Immunol* 2023 ,14: 1190576. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1190576.
- [24] Sigdel TK ,Ng YW ,Lee S et al. Perturbations in the urinary exosome in transplant rejection [J]. *Front Med (Lausanne)* 2014 ,1: 57. DOI: 10.3389/fmed.2014.00057.
- [25] Tower CM ,Reyes M ,Nelson K et al. Plasma C4d + endothelial microvesicles increase in acute antibody-mediated rejection [J]. *Transplantation* 2017 , 101(9) : 2235-2243. DOI: 10.1097/TP.0000000000001572.
- [26] Zhang H ,Huang E ,Kahwaji J et al. Plasma exosomes from HLA-sensitized kidney transplant recipients contain mRNA transcripts which predict development of antibody-mediated rejection [J]. *Transplantation* 2017 , 101(10) : 2419-2428. DOI: 10.1097/TP.0000000000001834.
- [27] Kim MJ ,Lim SJ ,Ko Y et al. Urinary exosomal cystatin C and lipopolysaccharide binding protein as biomarkers for antibody-mediated rejection after kidney transplantation [J]. *Biomedicine* 2022 ,10(10) : 2346. DOI: 10.3390/biomedicine10102346.
- [28] Lim JH ,Lee CH ,Kim KY et al. Novel urinary exosomal biomarkers of acute T cell-mediated rejection in kidney transplant recipients: A cross-sectional study [J]. *PLoS One* 2018 ,13(9) : e0204204. DOI: 10.1371/journal.pone.0204204.
- [29] Cui B ,Chen XJ ,Sun J et al. Dendritic cells originating exosomal miR-193b-3p induces regulatory T cells to alleviate liver transplant rejection [J]. *Int Immunopharmacol* 2023 ,114: 109541. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109541.
- [30] Alvarez S ,Suazo C ,Boltansky A et al. Urinary exosomes as a source of kidney dysfunction biomarker in renal transplantation [J]. *Transplant Proc* 2013 ,45(10) : 3719-3723. DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.08.079.
- [31] Wang J ,Li X ,Wu X et al. Expression profiling of exosomal miRNAs derived from the peripheral blood of kidney recipients with DGF using High-Throughput Sequencing [J]. *Biomed Res Int* 2019 , 2019: 1759697. DOI: 10.1155/2019/1759697.
- [32] Chen Y ,Han X ,Sun Y et al. A circulating exosomal microRNA panel as a novel biomarker for monitoring post-transplant renal graft function [J]. *J Cell Mol Med* 2020 ,24(20) : 12154-12163. DOI: 10.1111/jcmm.15861.
- [33] Gregson AL ,Hoji A ,Njean P et al. Altered exosomal RNA profiles in bronchoalveolar lavage from lung transplants with acute rejection [J]. *Am J Respir Crit Care Med* 2015 ,192(12) : 1490-1503. DOI: 10.1164/rccm.201503-0558OC.
- [34] Gunasekaran M ,Xu Z ,Nayak DK et al. Donor-derived exosomes with lung self-antigens in human lung allograft rejection [J]. *Am J Transplant* 2017 ,17(2) : 474-484. DOI: 10.1111/ajt.13915.
- [35] Rahman M ,Ravichandran R ,Sankpal NV et al. Downregulation of a tumor suppressor gene LKB1 in lung transplantation as a biomarker for chronic murine lung allograft rejection [J]. *Cell Immunol* 2023 , 386: 104690. DOI: 10.1016/j.cellimm.2023.104690.
- [36] Sharma M ,Ravichandran R ,Perincheri S et al. Distinct molecular and immunological properties of circulating exosomes isolated from pediatric lung transplant recipients with bronchiolitis obliterans syndrome-a retrospective study [J]. *Transpl Int* 2020 ,33(11) : 1491-1502. DOI: 10.1111/tri.13720.
- [37] Bansal S ,Arjuna A ,Perincheri S et al. Restrictive allograft syndrome vs bronchiolitis obliterans syndrome: Immunological and molecular characterization of circulating exosomes [J]. *J Heart Lung Transplant* 2022 ,41(1) : 24-33. DOI: 10.1016/j.healun.2021.09.001.

- [38] Habbertheuer A ,Korutla L ,Rostami S ,et al. Donor tissue-specific exosome profiling enables noninvasive monitoring of acute rejection in mouse allogeneic heart transplantation [J]. J Thorac Cardiovasc Surg ,2018 ,155 (6) : 2479-2489. DOI: 10. 1016/j. jtcvs. 2017. 12. 125.
- [39] Kennel PJ ,Saha A ,Maldonado DA ,et al. Serum exosomal protein profiling for the non-invasive detection of cardiac allograft rejection [J]. J Heart Lung Transplant ,2018 ,37 (3) : 409-417. DOI: 10. 1016/j. healun. 2017. 07. 012.
- [40] Castellani C ,Burrello J ,Fedrigo M ,et al. Circulating extracellular vesicles as non-invasive biomarker of rejection in heart transplant [J]. J Heart Lung Transplant ,2020 ,39 (10) : 1136-1148. DOI: 10. 1016/j. healun. 2020. 06. 011.
- [41] Zhang AB ,Peng YF ,Jia JJ ,et al. Exosome-derived galectin-9 may be a novel predictor of rejection and prognosis after liver transplantation [J]. J Zhejiang Univ Sci B ,2019 ,20 (7) : 605-612. DOI: 10. 1631/jzus. B1900051.
- [42] Niu LJ ,Zhang YM ,Huang T ,et al. Exosomal microRNA-155 as a biomarker for hepatic fibrosis diagnosis and progression [J]. Ann Transl Med ,2021 ,9 (2) : 137. DOI: 10. 21037/atm-20-7787
- [43] Concejero A ,Chen CL ,Wang CC ,et al. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: A single-center experience in Taiwan [J]. Transplantation ,2008 ,85 (3) : 398-406. DOI: 10. 1097/TP. 0b013e3181622ff8.
- [44] 罗静. 肿瘤源性外泌体参与肿瘤转移的相关信号通路研究 [J]. 疑难病杂志 ,2022 ,21 (9) : 1001-1004. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 09. 024.
- [45] Sugimachi K ,Matsumura T ,Hirata H ,et al. Identification of a bona fide microRNA biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation [J]. Br J Cancer ,2015 ,112 (3) : 532-538. DOI: 10. 1038/bjc. 2014. 621.
- [46] 比木赤布 ,余佳 ,王卫星. 肝移植术后早期急性肾损伤预测指标的研究进展 [J]. 疑难病杂志 ,2021 ,20 (2) : 203-206 ,211. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 022.
- [47] Nakano T ,Chen IH ,Wang CC ,et al. Circulating exosomal miR-92b: Its role for cancer immunoeediting and clinical value for prediction of posttransplant hepatocellular carcinoma recurrence [J]. Am J Transplant ,2019 ,19 (12) : 3250-3262. DOI: 10. 1111/ajt. 15490.

(收稿日期: 2024 - 01 - 26)

作者 · 编者 · 读者

撰写医学论文主体部分的要求

1 前言 概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据、研究方法、预期结果和意义等。仅提供与研究主题紧密相关的参考文献,切忌写成文献综述。一般以 200 ~ 300 个汉字为宜,占全文字数的 5% 左右。

2 资(材)料与方法 实验研究论文常写成“材料与方法”,临床研究论文常写成“资料与方法”。

2.1 研究对象:研究对象为人,需注明时间、地点、分组方法、一般情况、选择标准与排除标准等,并说明经所在单位伦理委员会批准,研究对象知情同意。研究对象为实验动物,需注明动物的名称、种系、雌雄、年龄、饲养条件、健康状况及合格证号等。

2.2 药品、试剂及仪器、设备:药品及化学试剂使用通用名称,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位及给药途径。仪器、设备应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围,无须描述工作原理。

2.3 观察指标与方法:选用相应观察指标,详述新创的方法及改良方法的改进之处,以备他人重复。采用他人方法,以引用参考文献的方式给出即可。

3 统计学方法 说明所使用的统计学软件及版本,明确资料的表达及统计学方法的选择。用 $\bar{x} \pm s$ 表达服从或近似服从正态分布的计量资料,可采用 t 检验、方差分析;用 $M (Q_1, Q_3)$ 表达呈偏态分布的计量资料或生存时间资料,可采用秩和检验,若考虑协变量的影响,可采用协方差分析;用频数或率(%)表达计数资料或等级资料,可采用卡方检验或秩和检验。

4 结果 是指与设计的观察指标相对应的实(试)验所得数据、观察记录,经过综合分析和统计学处理的结果,而不是原始数据,更不是原始记录。按逻辑顺序在正文的文字、表格和图中描述所获得的结果。结果的叙述应实事求是,简洁明了,数据准确,层次清楚,逻辑严谨。以数据反映结果时,应注意不能只描述导数(如百分数),还应同时给出据以计算导数的绝对数。一般应对所得数据进行统计学处理,并给出具体的统计检验值,如: $t = 2.85, P < 0.01$ 。

5 讨论 是对研究结果的科学解释与评价,是研究所形成的科学理论,不必重述结果部分具体数据或资料。着重讨论研究结果的创新之处及从中得出的结论,包括理论意义、实际应用价值、局限性,及其对进一步研究的启示。应将本研究结果与其他有关的研究相比较,并将本研究结论与目的联系起来讨论,同时列出相关参考文献。