

外泌体在布鲁氏菌感染中的调控机制及其应用价值

王晓阁, 王琦, 佟仁冬, 朱小洁, 王龙喜, 王豪杰, 胡云皓*, 朱良全*

中国兽医药品监察所, 北京 100081

王晓阁, 王琦, 佟仁冬, 朱小洁, 王龙喜, 王豪杰, 胡云皓, 朱良全. 外泌体在布鲁氏菌感染中的调控机制及其应用价值[J]. 微生物学通报, 2025, 52(2): 552-560.

WANG Xiaoge, WANG Qi, TONG Rendong, ZHU Xiaojie, WANG Longxi, WANG Haojie, HU Yunhao, ZHU Liangquan. Exosomes regulate *Brucella* infection: mechanism and application value[J]. Microbiology China, 2025, 52(2): 552-560.

摘要: 外泌体(exosomes)为细胞间通讯的媒介, 在布鲁氏菌(*Brucella*)的传播和免疫调节中发挥重要作用。本文重点阐明了外泌体在布鲁氏菌感染中的调控作用, 探讨了外泌体在诊断、疫苗及药物中的应用价值, 以期利用外泌体防控布鲁氏菌等胞内菌提供参考。

关键词: 布鲁氏菌; 外泌体; 免疫调节; 防控

Exosomes regulate *Brucella* infection: mechanism and application value

WANG Xiaoge, WANG Qi, TONG Rendong, ZHU Xiaojie, WANG Longxi, WANG Haojie, HU Yunhao*, ZHU Liangquan*

China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China

Abstract: Exosomes are the mediators of intercellular communication and play a key role in the spread and immune regulation of *Brucella*. This article elaborates on the regulatory role of exosomes in *Brucella* infection and discusses the application value of exosomes in diagnosis, vaccines, and drugs, aiming to provide reference for the application of exosomes in the prevention and control of intracellular bacteria such as *Brucella*.

Keywords: *Brucella*; exosomes; immune regulation; prevention and control

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFD1800703); 中国兽医药品监察所第三批公益性专项(GY202403)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFD1800703) and the Third Batch of Public Welfare Projects of China Institute of Veterinary Drug Control (GY202403).

*Corresponding authors. E-mail: HU Yunhao, huyhaoo@163.com; ZHU Liangquan, 1367391894@qq.com

Received: 2024-08-30; Accepted: 2024-10-15; Published online: 2024-11-12

布鲁氏菌病(布病)是一种由布鲁氏菌(*Brucella*)引起的人畜共患病,导致家畜特别是牛、羊等严重生殖障碍,对畜牧业生产造成重大影响,并威胁人类健康^[1]。鉴于布鲁氏菌的强传染性及其对公共卫生和动物健康的危害,快速准确的诊断方法对于防控该病至关重要。布病在全球范围内广泛流行,特别是在发展中国家和资源有限的地区。目前,主要的防控策略包括疫情监测、疫苗接种和消除传染源。尽管疫苗接种在控制布病方面发挥了重要作用,但现有疫苗仍存在一些局限性,例如干扰血清学检测结果、毒力恢复感染接种动物等潜在风险^[2]。近年来,我们对布病的研究已取得显著进展,在诊断方面,开发了多种高灵敏度和特异性的布鲁氏菌检测试剂盒,如荧光偏振免疫分析(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)抗体检测试剂盒、竞争性酶联免疫吸附试验(competitive enzyme-linked immunosorbent assay, cELISA)抗体检测试剂盒、间接酶联免疫吸附试验(indirect enzyme-linked immunosorbent assay, iELISA)抗体检测试剂盒,以及胶体金免疫层析法抗体检测试纸条等^[3-4];在疫苗方面,对于布病的防控,进行了对减毒活疫苗等传统疫苗的优化以及对基因工程亚单位疫苗等新型疫苗应用的探索^[5-6]。

外泌体(exosomes)是由脂质双分子层包裹的一种胞外囊泡,由细胞内多囊泡体(multivesicular body, MVB)与细胞膜融合释放至胞外形成,直径大小为 30–150 nm^[7]。目前认为外泌体的形成过程为细胞膜内陷形成早期核内体,生物活性物质和相关蛋白质在内吞分选机制下进入核内体,最终形成晚期核内体,晚期核内体再次通过向内出芽形成多囊泡体,最后多囊泡体与细胞膜融合释放至胞外形成外泌体^[8-9]。外泌体携带有蛋白质、脂质、DNA 和 miRNA、lncRNA 等多种物质,外泌体通过与靶细胞表面的受体

结合,激活信号传导途径,产生生物学效应,或者通过与靶细胞的质膜融合,将包含的生物分子直接转移到靶细胞内,实现细胞间物质运输和信息传递,从而调控机体抗原呈递、免疫调节、炎症调控、细胞凋亡等多种生物学功能^[10-11]。研究表明外泌体 miRNA、lncRNA 和蛋白质在调节机体抗菌反应中发挥重要作用^[12]。外泌体物质运输特性,使其成为新型疫苗和药物载体的潜在选择,为开发靶向治疗策略提供了新思路^[13-14]。

目前,外泌体在布鲁氏菌病的研究中尚处于起步阶段,但已有研究表明外泌体在布鲁氏菌病传播和宿主免疫调节中的潜在作用^[7]。本文梳理了外泌体在布鲁氏菌的病理过程中的作用机制,并探索了其在布鲁氏菌等胞内菌防控中的潜在应用价值,以期对防控布鲁氏菌等胞内菌提供参考。

1 外泌体在布鲁氏菌感染中的多重作用

在布鲁氏菌感染中,外泌体为理解宿主与病原体之间相互作用提供了新视角。研究表明,布鲁氏菌感染巨噬细胞后能够释放外泌体,这些外泌体不仅携带病原体抗原促进布鲁氏菌传播,还可影响宿主免疫反应。

1.1 外泌体促进布鲁氏菌传播

布鲁氏菌能够利用外泌体的前体——多囊泡体将其排出宿主细胞外,并且这些外泌体还携带有与布鲁氏菌感染相关的抗原和蛋白,随之释放参与布鲁氏菌的传播和感染^[15]。布鲁氏菌利用 MVB 传播的过程设计如图 1 所示。布鲁氏菌首先通过黏附及胞吞作用入侵宿主细胞,逃避溶酶体的降解,并在宿主细胞内建立复制位点,进行复制^[16]。MVB 是由内吞体途径形成的细胞内囊泡结构,含有多个内部小囊泡,

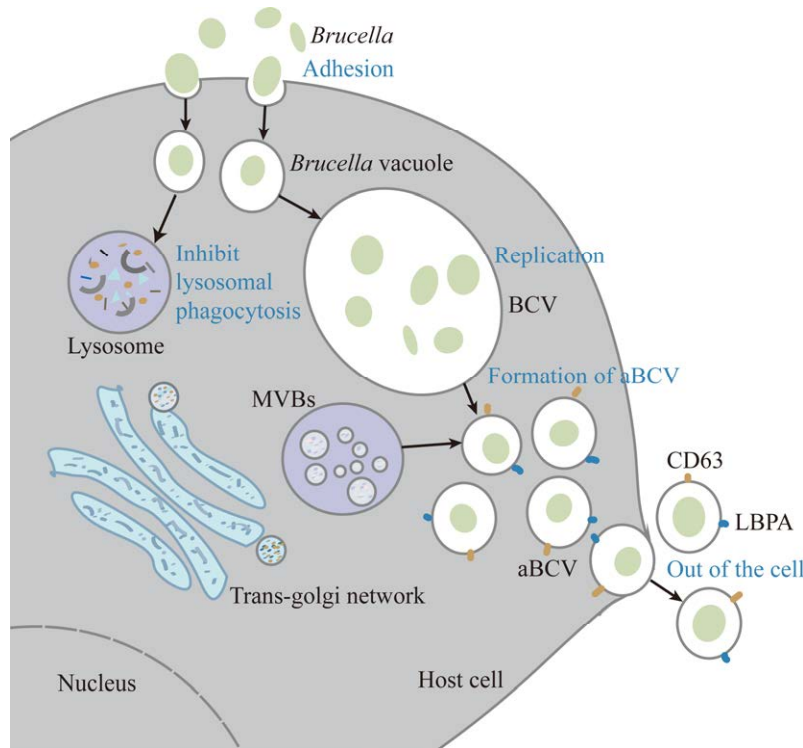


图 1 布鲁氏菌利用多囊泡体传播的过程 MVB: 多囊泡体; BCV: 布鲁氏菌含泡; aBCV: 自噬性布鲁氏菌含泡; CD63: 分化抗原 63 分子; LBPA: 脂质双磷酸。

Figure 1 The process of *Brucella* spreading by multivesicular body. MVB: Multivesicular bodies; BCV: *Brucella*-containing vacuole; aBCV: Autophagic *Brucella*-containing vacuole; CD63: Cluster of differentiation 63; LBPA: Lysobisphosphatidic acid.

布鲁氏菌在完成胞内复制后, 会诱导形成类似自噬体的布鲁氏菌含泡 (autophagic *Brucella*-containing vacuole, aBCV), 这些泡体具有自噬能力, 并能够获得 MVB 的标志物, 如分化抗原 63 分子 (cluster of differentiation 63, CD63) 和脂质双磷酸 (lysobisphosphatidic acid, LBPA), aBCV 与宿主细胞的质膜融合进而将布鲁氏菌排出胞外^[15]。

Spera 等^[15]通过实时视频显微镜观察到布鲁氏菌在感染后 48–72 h, 通过 MVB 从宿主细胞中排出, 感染邻近细胞或驻留在胞外。当利用抑制 MVB 形成的药物 (DMA、GW4869) 处理宿主细胞后, 观察到布鲁氏菌的排出数量与对照组相比分别减少了 36.5%、58.6%, 当利用促进 MVB 形成的药物 (莫能菌素) 处理宿主细胞

后, 观察到布鲁氏菌的排出数量与对照组相比增加了 290.5%, 进一步证实了 MVB 在布鲁氏菌排出过程中的作用^[15]。同时, 发现布鲁氏菌的排出和再感染过程能够显著增加感染效率, 导致感染细胞的数量增加了 350%^[15]。这表明 MVB 在布鲁氏菌的排出和感染新宿主细胞中起正调控作用。了解布鲁氏菌如何利用 MVB 进行排出, 对揭示其在宿主细胞间的传播机制具有重要意义。通过针对性地干预 MVB 的形成过程或功能, 可有助于阻止布鲁氏菌的有效排出, 限制其在宿主体内传播, 从而为防控布鲁氏菌病提供新策略^[17]。

1.2 外泌体调节免疫反应

外泌体通过调节免疫细胞的激活或抑制状

态,对免疫应答进行精细调控。针对布鲁氏菌免疫应答主要依赖特异性细胞免疫,包括 T 细胞激活和细胞毒性作用。胞内菌在宿主细胞内存活并增殖限制了病原分子与免疫系统的直接接触,进而降低了免疫系统的识别效率^[18-19]。然而,外泌体携带的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP),如细菌的 DNA、RNA、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等,它们能够增强免疫系统对胞内菌的识别和反应,这些分子被宿主的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别后,激活宿主的先天免疫反应,引发细胞因子和趋化因子的释放。这些因子有助于招募和激活免疫细胞,如树突状细胞,从而启动适应性免疫反应,促进抗原特异性的 T 细胞应答^[20]。

外泌体能够调节机体对细菌感染的免疫反应,参与感染过程中病原识别、抗原呈递、自噬调节、免疫激活和免疫抑制^[21]。外泌体 miRNA、lncRNA 和蛋白质在以上环节发挥重要作用,例如 miR-130c 和 miR-82a 通过降低自噬蛋白 ATG12 和 ATG5L16 的表达来抑制自噬,从而帮助病原体逃避清除;miR-18a 通过抑制自噬相关基因 *ATM* 的表达,影响细胞清除病原体的能力;lncRNA,如 lncAFTR,能够抑制细胞凋亡和炎症反应,减轻宿主对病原体的免疫应答^[21]。另外,外泌体中的蛋白质,如 ADAM10,能够中和细菌毒素,增强细胞对病原体的抵抗力^[22]。

1.3 外泌体阻断布鲁氏菌的增殖

宿主细胞会利用自噬等途径来抑制胞内菌的存活,外泌体在这一过程中发挥了双重作用。外泌体一方面通过 miRNA 抑制自噬过程来促进细菌的胞内存活,另一方面通过转运干扰素诱导跨膜蛋白抑制胞内菌感染。Yi 等^[23]通过动物实验研究发现,羊种马耳他布鲁氏菌(*Brucella melitensis*) strain M5 能够刺激巨噬细胞分泌大

量的外泌体。这些外泌体富含干扰素诱导的跨膜蛋白 3 (interferon-inducible transmembrane protein 3, IFITM3)。IFITM3 是一种高效的抗细胞内病原体蛋白,能够抑制多种病原体的入侵,并且能够通过外泌体在细胞间传递,有效增强细胞对布鲁氏菌的抵抗力^[23]。通过小鼠模型实验发现,接种含有 IFITM3 的外泌体能够有效减少小鼠布鲁氏菌感染过程中的脾组织损伤和菌落形成单位,这证实了含 IFITM3 的外泌体可能是改善免疫应答和抑制布鲁氏菌增殖的治疗方法之一^[23]。

此外,布鲁氏菌感染的巨噬细胞释放的外泌体能够促进 M1 型巨噬细胞的极化,通过 NF- κ B 信号通路促进 M1 型相关因子的表达(如 TNF- α 和 IFN- γ),抑制 M2 型因子的表达(如 IL-10),从而抑制布鲁氏菌在细胞内的生存,同时外泌体激活了先天免疫,促进 IgG2a 抗体的释放,有助于保护小鼠免受布鲁氏菌感染,并减少脾脏中布鲁氏菌的数量^[24]。这些发现为布病的预防和治疗提供了新思路。

2 外泌体在布鲁氏菌等胞内菌防控中的应用价值

2.1 作为诊断标志物

外泌体广泛存在于各种生物体液中,携带着丰富的蛋白质、核酸、脂质和代谢产物等生物分子,这些分子标志物能够指示细胞不同状态和生理过程。对于胞内寄生菌,从外泌体中寻找其分子标记具有重要意义^[25]。细菌抗原蛋白是重要的生物标志物,布鲁氏菌感染细胞后外泌体可含有 Omp31 和 OmpA 等特有抗原,通过对特定抗原检测,可为诊断布鲁氏菌病提供一种新方法^[26]。

Kruh-Garcia 等^[27]首次在结核病患者的外泌体中发现了结核分枝杆菌(*Mycobacterium*

tuberculosis, Mtb)的肽段,在检测的33种独特Mtb蛋白中,有20种蛋白的肽段出现在结核病患者的外泌体中,其中包括已知的黏附素及与细菌细胞内生存相关的蛋白,如antigen 85B (Ag85B)、antigen 85C (Ag85C)、Apa蛋白等,其中Ag85B能够显著促进Th1型细胞免疫和体液免疫反应,在Mtb的早期感染过程中发挥作用。屈蓉等^[28]的研究发现,结核病患者血清中的MPT64特异性抗体IgG和IgA水平远高于健康个体,并且重组MPT64蛋白在血清学诊断中表现出较高的准确性,这表明MPT64蛋白可能是结核病早期诊断的一个有效标志物。由以上可以得出,外泌体中的抗原成分具有作为诊断胞内菌感染的潜力。

除了抗原蛋白,外泌体miRNA的特定表达模式在不同病理状态下也为疾病早期诊断和治疗提供了新工具。结核病患者体内感染的细胞释放含有特定miRNA的外泌体,这些miRNA的表达水平与正常水平存在显著差异。Kaushik等^[29]通过高通量测序分析,识别出与结核感染相关的外泌体circRNA和miRNA,并特别关注了miR-185-5p的表达。在结核病患者血浆外泌体中,miR-185-5p表达水平显著增加,通过接收者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)分析,miR-185-5p的ROC曲线下面积为0.750,灵敏度和特异性分别达到50%和93.75%,这表明外泌体miR-185-5p有潜力成为诊断结核病的一个有效生物标志物^[29]。

有研究公开了布鲁氏菌病的外泌体miRNA标志物,包括hsamiR11400、hsamiR199a5p或hsamiR148a5p,其在患者和健康对照组血清外泌体中存在显著差异表达,通过ROC曲线分析,曲线下面积分别为0.79、0.81、0.74,进一步评估miRNA组合的诊断能力,hsamiR11400和hsamiR199a5p组合的曲线下面积为0.90,三

重组的曲线下面积为0.92,表明单独的miRNA及它们的组合都可以有效地区分布鲁氏菌病患者和健康对照,具有较高的敏感性和特异性,这些表明外泌体miRNA标志物在布鲁氏菌病中具有诊断潜力^[30]。

2.2 作为药物载体

外泌体外层由磷脂双分子层构成,其可保护内容物不受各种生物酶的影响,维持生物分子活性;其体积小(纳米级尺寸),结构、组成与细胞膜类似,有较好稳定性和生物相容性,具有低免疫原性和低毒性等治疗安全性方面优势^[31]。有研究发现,低剂量注射外泌体并不引起明显的免疫排斥反应,改造后的外泌体能够诱导适应性和先天免疫反应^[32]。因此,其在药物运输载体方面具有良好应用前景^[33]。

Alvarez-Erviti等^[34]在2011年首次证实了外泌体可以作为药物载体,将药物包载在外泌体内,药物可以随外泌体定向运送到受体细胞并进入细胞质,进一步靶向清除胞内菌,从而解决抗生素难以穿透细胞膜的难题。Yang等^[35]以外泌体为载体分别包载利奈唑胺、万古霉素,分析它们对胞内耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)感染的治疗效果。研究发现,在小鼠巨噬细胞内MRSA感染模型中,在以外泌体作为载体的药物治疗组中,胞内菌数显著下降,注射利奈唑胺治疗24h,胞内菌数下降约0.5 log₁₀ CFU/mL,注射包装利奈唑胺的外泌体24h后,胞内菌数下降2.44 log₁₀ CFU/mL,万古霉素对巨噬细胞内的MRSA有微弱的清除作用,而包载万古霉素外泌体注射后巨噬细胞内的MRSA活菌数量相较于原来下降了90%以上^[36]。Yang等^[37]研究制备一种甘露糖基化外泌体(mannosylated exosomes, MExos),相较于未修饰的外泌体,其能够被巨噬细胞更有效地摄取,具有良好的靶

向性,对细胞几乎没有毒性且能升高药物的胞内蓄积量;利用超声 MEXos 成功负载了万古霉素(MExoVan)或溶葡萄球菌酶(MExoLy),药效试验结果表明,MEXos 显著增强了抗菌药的胞内抗菌作用,MExoVan 和 MExoLy 联合给药较单独用药抗菌作用更强,联合用药后胞内菌数量下降了约 $3.1 \log_{10}$ CFU/mL,而单独用药胞内菌数量分别下降了约 1.56 和 $1.87 \log_{10}$ CFU/mL。综上,外泌体作为一种有潜力的药物递送系统,为治疗胞内菌感染提供了一种新的策略。

2.3 作为疫苗抗原来源以及载体

外泌体作为一种新型疫苗载体,因其免疫原性、靶向性、稳定性、安全性和多功能性在疫苗研究中显示出巨大潜力。它们能够有效携带胞内菌的抗原,提高抗原递呈效率,促进交叉呈递以激活 $CD8^+$ T 细胞,这对于清除细胞内的病原体至关重要^[38]。

Sun 等^[39]研究人员发现 Mtb 感染的巨噬细胞释放的外泌体能显著激活 $CD4^+$ T 和 $CD8^+$ T 细胞,表现为 $IFN-\gamma$ 分泌水平提高约 2 倍;Sharma 等^[40]筛选来自 Mtb 感染巨噬细胞的外泌体蛋白,选择了具有免疫原性的蛋白构建多表位肽疫苗,通过免疫刺激试验发现构建的多表位肽疫苗使小鼠抗体水平升高 3 倍,Mtb 培养滤液蛋白(culture filtrate protein, CFP)处理的巨噬细胞释放的外泌体显著增强小鼠 Th1 样免疫反应,提高 $IFN-\gamma$ 分泌 2.5 倍。这些数据表明外泌体在结核病的疫苗开发中的巨大潜力。

Hui 等^[41]从小鼠 RAW264.7 巨噬细胞中获取被野生型沙门氏菌 UK-1 株感染后的外泌体,对 BALB/c 小鼠进行鼻腔接种后,观察到小鼠肺部和脾脏中单核细胞中特定类型的 $CD4^+$ T 细胞分泌 $IFN-\gamma$ 、白介素 2 (IL-2)和 $TNF-\alpha$ 的水平显著增加,表明外泌体能够有效激活 Th1 型免疫反应。通过 ELISA 和四参数逻辑曲线拟合,

分析了用来自感染鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)巨噬细胞的外泌体、PBS (阴性对照)或 $\Delta aroA$ 鼠伤寒沙门氏菌(阳性对照)免疫的小鼠血清中是否存在抗沙门氏菌抗体,包括总 IgG、IgG 亚类 IgG1、IgG2a 及 IgM,评估了针对整个沙门氏菌抗原、LPS 去毒沙门氏菌抗原和重组 OmpA 的抗体效价,实验结果表明,使用 $40 \mu\text{g}$ 外泌体免疫的小鼠,无论是单独使用还是与霍乱菌素佐剂(cholera toxin, CT)结合,都显示出了与 $\Delta aroA$ 鼠伤寒沙门氏菌疫苗相当的抗整个沙门氏菌抗原的抗体效价^[41]。对于 LPS 去毒的沙门氏菌抗原,外泌体免疫的小鼠产生的抗体效价与活疫苗株相当,表明外泌体激发的免疫反应并不偏向于 LPS,对于重组 OmpA 蛋白,外泌体免疫的小鼠产生的抗体水平显著低于活疫苗株,这可能表明外泌体携带了与活疫苗不同的抗原组合^[41]。在 IgG 亚型的分析中,所有用外泌体免疫的小鼠组中都检测到了 IgG1 和 IgG2a 抗体,其中 IgG1 在用感染巨噬细胞的外泌体免疫的小鼠中显著高于活疫苗株^[41]。这些发现表明,外泌体能够诱导小鼠产生针对沙门氏菌的特异性抗体,并且免疫反应的质量和类型与活疫苗株存在差异。外泌体通过传递特定的抗原组合来激发免疫反应,显示出了其在疫苗开发中的潜力。

3 展望

外泌体在布鲁氏菌等胞内菌的诊断与治疗领域中显示出巨大的应用潜力。在诊断方面,外泌体携带的特定抗原蛋白和 miRNA 为早期感染的检测提供了新的生物标记物^[42]。在应用方面,外泌体的天然生物相容性和低免疫原性特性,使其成为药物和疫苗的理想载体,能够有效地将治疗分子递送到宿主细胞内,增强体内疗效并减少副作用^[43]。

外泌体的研究正成为生物医学领域的新热点。为了实现外泌体在临床上的广泛应用,未来的研究须深入探究外泌体在细胞间通讯和免疫调节中的复杂作用,以及它们如何参与疾病的发生和发展。同时在技术层面,需开发高效的外泌体分离和纯化方法,实现其规模化生产技术,以满足临床应用的需求。此外,提高外泌体的载药效率和生产量,降低成本,对于推动外泌体技术的普及应用至关重要^[44]。

在布鲁氏菌等胞内菌的防控中,外泌体的研究具有重要的潜力。在疾病诊断方面,通过探究外泌体携带的特定抗原蛋白和 miRNA 这些生物标志物,为布鲁氏菌等胞内菌早期检测和预后评估提供新策略^[45]。在治疗领域,外泌体作为药物递送系统和用于疫苗的制备在肿瘤和癌症研究中已有较多进展,但其在布鲁氏菌等胞内菌疾病中的应用仍需进一步探索^[7]。外泌体能够有效地帮助携带药物穿透生物屏障,如细胞膜,从而有效地杀死胞内菌^[46]。开发特定的靶向修饰策略至关重要,通过改造外泌体以增强其对特定细胞类型的靶向性,可以高效治疗布鲁氏菌感染^[47]。如在 MRSA 感染模型中所示,外泌体可以携带多种药物联合治疗,可能对布鲁氏菌感染同样有效^[35]。因此,需要筛选和测试确定哪些药物最适合通过外泌体传递,以及最佳的药物剂量和给药频率,这将为外泌体作为药物载体在布鲁氏菌治疗中的应用提供重要价值。利用外泌体携带的抗原构建多肽疫苗或将外泌体作为疫苗载体包裹抗原实现靶向治疗是布鲁氏菌病疫苗防控中一个重点研究方向。

REFERENCES

- [1] 朱良全, 秦玉明, 丁家波. 我国家畜布鲁氏菌病防控面临形势及思考[J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(6): 137-140.
ZHU LQ, QIN YM, DING JB. The situation and thinking of prevention and control of livestock brucellosis in China[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2020, 56(6): 137-140 (in Chinese).
- [2] 刘志国, 王妙, 崔步云, 李振军. 布鲁氏菌胞内存活及疫苗研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(5): 430-439.
LIU ZG, WANG M, CUI BY, LI ZJ. Research progress on *Brucella* intracellular survival and vaccine[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2019, 35(5): 430-439 (in Chinese).
- [3] 李巧玲, 孙佳丽, 彭小微, 冯宇, 蒋卉, 范学政, 朱良全, 丁家波, 董浩, 秦玉明. 3种胶体金试纸条检测羊布鲁氏菌病效果的比较[J]. 中国兽医杂志, 2021, 57(12): 24-27.
LI QL, SUN JL, PENG XW, FENG Y, JIANG H, FAN XZ, ZHU LQ, DING JB, DONG H, QIN YM. Comparison of three colloidal gold test strips for detection of brucellosis in sheep[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2021, 57(12): 24-27 (in Chinese).
- [4] 董浩, 李巧玲, 孙佳丽, 冯宇, 蒋卉, 沈青春, 许冠龙, 朱良全, 秦玉明, 梁春南. 4种胶体金试纸条检测牛布鲁氏菌病的比较分析[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(7): 21-24, 32.
DONG H, LI QL, SUN JL, FENG Y, JIANG H, SHEN QC, XU GL, ZHU LQ, QIN YM, LIANG CN. Comparative analysis of four colloidal gold strips for diagnosis of bovine brucellosis[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2022, 58(7): 21-24, 32 (in Chinese).
- [5] 孙石静, 王芳, 蒋卉, 朱良全, 秦玉明, 许冠龙, 丁家波, 彭小微, 冯宇, 范学政, 王楠. 一株重组 A 型口蹄疫病毒 VP1 基因的粗糙型布鲁氏菌及其疫苗生产方法: CN201910284347.6[P]. 2024-10-29.
SUN SJ, WANG F, JIANG H, ZHU LQ, QIN YM, XU GL, DING JB, PENG XW, FENG Y, FAN XZ, WANG N. A recombinant type A foot-and-mouth disease virus VP1 gene of rough *Brucella* and its vaccine production method: CN201910284347.6[P]. 2024-10-29 (in Chinese).
- [6] 丁家波, 范学政, 朱良全, 冯宇, 彭小微, 秦玉明, 王芳, 许冠龙, 李秋辰, 蒋卉. 一株重组鸚鵡热衣原体外膜蛋白 MOMP 基因的粗糙型布鲁氏菌及其疫苗生产方法: CN201910284652.5[P]. 2024-10-29.
DING JB, FAN XZ, ZHU LQ, FENG Y, PENG XW, QIN YM, WANG F, XU GL, LI QC, JIANG H. A recombinant *Brucella* with MOMP gene of *Chlamydia psittaci* outer membrane protein and its vaccine production method: CN201910284652.5[P]. 2024-10-29 (in Chinese).
- [7] 李书灵, 李智伟. 外泌体对细菌感染免疫调节机制的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(1): 158-164.
LI SL, LI ZW. Research progress into the mechanisms of exosome immunoregulation of bacterial infection[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2024, 34(1): 158-164 (in Chinese).
- [8] GLITSCHER M, SPANNAUS IM, BEHR F, MURRA RO, WOYTINEK K, BENDER D, HILDT E. The protease domain in HEV pORF1 mediates the replicase's localization to multivesicular bodies and its exosomal release[J]. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology, 2024, 17(4): 589-605.

- [9] BEBELMAN MP, BUN P, HUVENEERS S, van NIEL G, PEGTEL DM, VERWEIJ FJ. Real-time imaging of multivesicular body-plasma membrane fusion to quantify exosome release from single cells[J]. *Nature Protocols*, 2020, 15(1): 102-121.
- [10] XU F, LUO SM, LU PP, CAI C, LI WH, LI CY. Composition, functions, and applications of exosomal membrane proteins[J]. *Frontiers in Immunology*, 2024, 15: 1408415.
- [11] 黄宁宇, 齐莉莉, 王进波, 王梦婷, 吴玉琴. 细胞外囊泡的靶细胞摄取机制及其在疾病诊疗中的应用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 21(12): 3136-3150. HUANG NN, QI LL, WANG JB, WANG MT, WU YQ. The target cell uptake mechanism of extracellular vesicles and its application in the diagnosis and treatment of diseases[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2024, 21(12): 3136-3150 (in Chinese).
- [12] ALIPOOR SD. Editorial: exosomes and exosomal miRNAs as biomarkers in infection with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1239739.
- [13] DAI ZL, CAI RR, ZENG H, ZHU HL, DOU YW, SUN SB. Exosome may be the next generation of promising cell-free vaccines[J]. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2024, 20(1): 2345940.
- [14] FILIPOVIĆ L, KOJADINOVIĆ M, POPOVIĆ M. Exosomes and exosome-mimetics as targeted drug carriers: Where we stand and what the future holds?[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 68: 103057.
- [15] SPERA JM, GUAIMAS F, CZIBENER C, UGALDE JE. *Brucella* egresses from host cells exploiting multivesicular bodies[J]. *mBio*, 2023, 14(1): e0333822.
- [16] YU H, GU XY, WANG DF, WANG ZL. *Brucella* infection and toll-like receptors[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, 14: 1342684.
- [17] ZHANG GD, HU H, YIN Y, TIAN MX, BU ZG, DING C, YU SQ. *Brucella* manipulates host cell ferroptosis to facilitate its intracellular replication and egress in RAW264.7 macrophages[J]. *Antioxidants*, 2024, 13(5): 577.
- [18] 刘诗斯, 张斌, 孙强. 外泌体在细菌感染性疾病中的作用机制研究进展[J]. *中华危重病急救医学*, 2023, 35(12): 1327-1330. LIU SS, ZHANG B, SUN Q. Research progress on the mechanism of exosomes in bacterial infectious diseases[J]. *Chinese Critical Care Medicine*, 2023, 35(12): 1327-1330 (in Chinese).
- [19] SPENCER N, YERUVA L. Role of bacterial infections in extracellular vesicles release and impact on immune response[J]. *Biomedical Journal*, 2021, 44(2): 157-164.
- [20] LIU M, WANG ZG, REN SL, ZHAO HL. Exosomes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected MSCs induce a pro-inflammatory response of macrophages[J]. *Aging*, 2021, 13(8): 11595-11609.
- [21] RANGEL-RAMÍREZ VV, GONZÁLEZ-SÁNCHEZ HM, LUCIO-GARCÍA C. Exosomes: from biology to immunotherapy in infectious diseases[J]. *Infectious Diseases*, 2023, 55(2): 79-107.
- [22] WANG JJ, LI YJ, WANG N, WU JH, YE XJ, JIANG YB, TANG LJ. Functions of exosomal non-coding RNAs to the infection with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1127214.
- [23] YI JH, WANG YL, ZHANG H, DENG XY, XI J, LI HH, YANG NN, MA ZC, WANG Y, CHEN CF. Interferon-inducible transmembrane protein 3-containing exosome as a new carrier for the cell-to-cell transmission of anti-*Brucella* activity[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 642968.
- [24] WANG YL, LI HH, XU ZY, YI JH, LI W, MENG C, ZHANG H, DENG XY, MA ZC, WANG Y, CHEN CF. Exosomes released by *Brucella*-infected macrophages inhibit the intracellular survival of *Brucella* by promoting the polarization of M1 macrophages[J]. *Microbial Biotechnology*, 2023, 16(7): 1524-1535.
- [25] 王楠, 吴建红, 李玉洁, 郑志焕, 姚丽洪, 王建军. 外泌体作为诊断结核分枝杆菌感染的标志物研究[J]. *生命科学研究*, 2024, 28(1): 33-40. WANG N, WU JH, LI YJ, ZHENG ZH, YAO LH, WANG JJ. Exosomes as potential markers for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Life Science Research*, 2024, 28(1): 33-40 (in Chinese).
- [26] 刘佳音, 姜海. 我国布鲁氏菌病诊断方法应用及思考[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(1): 160-163. LIU JY, JIANG H. Application and thinking of diagnostic methods of brucellosis in China[J]. *Chinese Journal of Epidemiology*, 2021, 42(1): 160-163 (in Chinese).
- [27] KRUIH-GARCIA NA, WOLFE LM, CHAISSON LH, WORODRIA WO, NAHID P, SCHOREY JS, DAVIS JL, DOBOS KM. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* peptides in the exosomes of patients with active and latent *M. tuberculosis* infection using MRM-MS[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e103811.
- [28] 屈蓉, 吴康, 吴娟, 范小勇, 吕建新. 结核分枝杆菌早期分泌蛋白 MPT64 的原核表达及其在结核病血清学诊断上的初步应用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2021, 34(5): 566-570. QU R, WU K, WU J, FAN XY, (LÜ/LV/LU/LYU) JX. Prokaryotic expression of early secretory protein MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* and its application in serological diagnosis of tuberculosis[J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2021, 34(5): 566-570 (in Chinese).
- [29] KAUSHIK AC, WU QQ, LIN L, LI HB, ZHAO LQ, WEN ZL, SONG YZ, WU QH, WANG J, GUO XK, WANG HL, YU XL, WEI DQ, ZHANG SL. Exosomal ncRNAs profiling of mycobacterial infection identified miRNA-185-5p as a novel biomarker for tuberculosis[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, 22(6): bbab210.
- [30] 李智伟, 陈志强, 王倩, 李书灵, 丁剑冰, 张峰波. 布鲁氏菌病的外泌体 miRNA 标志物及应用: CN202310433397.2[P]. 2024-10-12. LI ZW, CHEN ZQ, WANG Q, LI SL, DING JB, ZHANG FB. Exosomal miRNA markers and application of brucellosis: CN202310433397.2[P]. 2024-10-12 (in Chinese).
- [31] LI TW, LI XQ, HAN GP, LIANG M, YANG ZR, ZHANG CY, HUANG SZ, TAI S, YU S. The therapeutic potential and clinical significance of exosomes as carriers of drug delivery system[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 15(1): 21.
- [32] ZHANG MJ, ZANG XL, WANG MY, LI Z, QIAO MX, HU HY, CHEN DW. Exosome-based nanocarriers as bio-inspired and versatile vehicles for drug delivery:

- recent advances and challenges[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(15): 2421-2433.
- [33] 巨晓洁, 宋婉璐, 周宸宇, 沈秋彤, 廖雨田, 龚玉颖, 褚良银. 纳米药物载体用于治疗胞内菌感染的研究进展[J]. *化工学报*, 2024, 75(4): 1153-1166.
JU XJ, SONG WL, ZHOU CY, SHEN QT, LIAO YT, GONG JY, CHU LY. Research progress of nano-drug carriers for the treatment of intracellular bacterial infection[J]. *CIESC Journal*, 2024, 75(4): 1153-1166 (in Chinese).
- [34] ALVAREZ-ERVITI L, SEOW Y, YIN HF, BETTS C, LAKHAL S, WOOD MJA. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes[J]. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(4): 341-345
- [35] YANG XH, SHI GM, GUO J, WANG CH, HE Y. Exosome-encapsulated antibiotic against intracellular infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13: 8095-8104.
- [36] 杨晓洪. 负载抗菌药物的外泌体制备及其在抗胞内MRSA感染中的应用[D]. 重庆: 重庆大学博士学位论文, 2019.
YANG XH. Preparation of antibiotic-loaded exosomes and its application in anti-intracellular MRSA infection[D]. Chongqing: Doctoral Dissertation of Chongqing University, 2019 (in Chinese).
- [37] YANG X, XIE B, PENG H, SHI G, SREENIVAS B, GUO J, WANG C, HE Y. Eradicating intracellular MRSA via targeted delivery of lysostaphin and vancomycin with mannose-modified exosomes[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 329: 454-467.
- [38] BIADGLEGNE F, KÖNIG B, RODLOFF AC, DORHOI A, SACK U. Composition and clinical significance of exosomes in tuberculosis: a systematic literature review[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2021, 10(1): 145.
- [39] SUN XZ, LI W, ZHAO L, FAN K, QIN FF, SHI LW, GAO F, ZHENG CL. Current landscape of exosomes in tuberculosis development, diagnosis, and treatment applications[J]. *Frontiers in Immunology*, 2024, 15: 1401867.
- [40] SHARMA R, RAJPUT VS, JAMAL S, GROVER A, GROVER S. Author Correction: an immunoinformatics approach to design a multi-epitope vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* exploiting secreted exosome proteins[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 16844.
- [41] HUI WW, EMERSON LE, CLAPP B, SHEPPE AE, SHARMA J, del CASTILLO J, OU M, MAEGAWA GHB, HOFFMAN C, LARKIN III J, PASCUAL DW, FERRARO MJ. Antigen-encapsulating host extracellular vesicles derived from *Salmonella*-infected cells stimulate pathogen-specific Th1-type responses *in vivo*[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(5): e1009465.
- [42] XI XY, WANG BH, ZHANG RM, LING CH. Serum exosome tRFs as a promising biomarker for active tuberculosis and latent tuberculosis infection[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2024, 222: 106944.
- [43] UBANAKO P, MIRZA S, RUFF P, PENNY C. Exosome-mediated delivery of siRNA molecules in cancer therapy: triumphs and challenges[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2024, 11: 1447953.
- [44] KANG SR, NGUYEN DH, YOO SW, MIN JJ. Bacteria and bacterial derivatives as delivery carriers for immunotherapy[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, 181: 114085.
- [45] MUKHTAR F, GUARNIERI A, BRANCAZIO N, FALCONE M, Di NARO M, AZEEM M, ZUBAIR M, NICOLOSI D, Di MARCO R, PETRONIO GP. The role of *Mycobacterium tuberculosis* exosomal miRNAs in host pathogen cross-talk as diagnostic and therapeutic biomarkers[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1441781.
- [46] CHINNAPPAN M, SRIVASTAVA A, AMREDDY N, RAZAQ M, PAREEK V, AHMED R, MEHTA M, PETERSON JE, MUNSHI A, RAMESH R. Exosomes as drug delivery vehicle and contributor of resistance to anticancer drugs[J]. *Cancer Letters*, 2020, 486: 18-28.
- [47] AL-ANI SA, LEE QY, MAHESWARAN D, SIN YM, LOH JS, FOO JB, HAMZAH S, NG JF, TAN LKS. Potential of exosomes as multifunctional nanocarriers for targeted drug delivery[J]. *Molecular Biotechnology*, 2024. DOI: 10.1007/s12033-024-01268-6.