

# 肝源性外泌体在非酒精性脂肪性肝病肝损伤发生发展中的作用\*

张卿<sup>1</sup> 刘素彤<sup>2</sup> 赵文霞<sup>2Δ</sup>

**[摘要]** 外泌体是由多种类型的细胞分泌的一类膜状囊泡,在正常和病理状态下进行着细胞间通信的功能。越来越多的报道显示外泌体,尤其是肝细胞来源的外泌体在非酒精性脂肪性肝病(N AFLD)/非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的发生中发挥重要作用。本文从肝细胞脂肪变性、凋亡和炎症、纤维化等肝损伤来阐释肝源性外泌体的影响机制,以期为 NAFLD/NASH 机制研究提供参考。

**[关键词]** 酒精性脂肪性肝病;肝源性外泌体;脂质代谢

**DOI:**10.3969/j.issn.1671-038X.2023.08.15

**[中图分类号]** R57 **[文献标志码]** A

## The role of hepatocellular derived exosomes in development of liver injuries in nonalcoholic fatty liver disease

ZHANG Qing<sup>1</sup> LIU Sutong<sup>2</sup> ZHAO Wenxia<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, 450046, China; <sup>2</sup>Department of Hepatology and Spleen-Stomach, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine)

Corresponding author: ZHAO Wenxia, E-mail: zhao\_wenxia@163.com

**Abstract** Exosomes are membranous vesicles secreted by a variety of cell types, and carry out the function of intercellular communication under normal and pathological conditions. More and more reports suggest that exosomes, especially hepatocellular derived exosomes, play an important role in the development of non-alcoholic steatohepatitis(N AFLD)/non-alcoholic steatohepatitis(NASH). In this review, we elucidate the mechanism of hepatogenic exosomes from the perspectives of liver injuries such as liver lipid metabolism, apoptosis, inflammation, and fibrosis, in order to provide reference for the study of NAFLD/NASH mechanism.

**Key words** non-alcoholic fatty liver disease; hepatocellular derived exosomes; lipid metabolism

近年来,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为影响全球儿童和成人的一种主要慢性肝病<sup>[1]</sup>。目前,全球非酒精性脂肪性肝病的患病率为 25%,北美为 24%,欧洲为 24%,亚洲为 27%<sup>[2]</sup>。中国 NAFLD 的全国患病率目前估计为 29.2%,超过了全球的患病率<sup>[3]</sup>。NAFLD 的疾病谱包括轻度脂肪变性、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌。其组织病理学特征包括脂肪堆积、肝脏炎症、凋亡和坏死<sup>[4]</sup>。具体发病机制尚不清楚。因此,探讨 NAFLD 的发病机制具有重要意义。

外泌体是大小为 30~120 nm 的球形或杯状的

膜状囊泡,可由多种类型的细胞分泌,如肝细胞、自然杀伤细胞和脂肪细胞。正常和病理状态下外泌体的主要功能是细胞间通信。它含有各种生物活性分子,包括蛋白质、脂类和遗传物质,并将这些分子传递给受体细胞,导致其功能改变<sup>[5-7]</sup>。在一项关于促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)刺激的 HepG2 细胞外泌体的蛋白质组学分析中, TSH 刺激后 140 个上调蛋白中有 40%以上参与了细胞质中的代谢,包括脂质、葡萄糖、蛋白质代谢和生物合成过程<sup>[8]</sup>。此外,研究表明脂质诱导肝细胞源性外泌体释放并参与 NAFLD 的肝损伤发生的病理过程,这意味着肝源性外泌体可能是 NAFLD 有前途的治疗靶点<sup>[9]</sup>。目前关于肝细胞来源的外泌体已有一些研究,我们将讨论其对 NAFLD 的病理过程的影响。

### 1 多种分子参与外泌体形成过程

生理情况下多种因子参与了外泌体生物合成和内化的过程。外泌体的形成过程始于细胞膜内

\*基金项目:国家自然科学基金(No:82205086);河南省特色骨干学科中医学学科建设项目(No:STG-ZYX02-202117)

<sup>1</sup>河南中医药大学(郑州,450046)

<sup>2</sup>河南中医药大学第一附属医院脾胃肝胆科

<sup>Δ</sup>审校者

通信作者:赵文霞, E-mail: zhao\_wenxia@163.com

陷形成内泌体,然后形成多泡体(multivesicular body, MVB)。一部分 MVB 直接与溶酶体融合并降解,一些被运送到高尔基体进行恢复,一些装载 miRNA 后与细胞膜融合释放到膜外形成外泌体。在与外泌体生物发生和脱落相关的机制中,许多分子发挥着重要作用。RAB-GTPASE 蛋白家族有助于 MVB 胞内运输、与细胞膜的融合及释放,可溶性 NSF 附着蛋白受体促进了外泌体与靶细胞细胞膜表面的融合<sup>[4,10]</sup>。

脂毒性的影响下多种机制调控肝细胞外泌体的分泌。在对几种不同刺激如脂肪酸(fatty acid, FAs)、胆固醇、油酸(oleic acid, OA)、棕榈酸(palmitic acid, PA)的响应中,外泌体显著增加,且外泌体中 miRNA 的表达存在差异<sup>[4,11]</sup>。研究表明脂毒性条件下可发生溶酶体膜透化导致的溶酶体功能障碍和数量下降,从而抑制 MVB 降解并增加外泌体的释放<sup>[12-13]</sup>。此外, Kakazu 等<sup>[14]</sup>报道了 PA 通过外泌体肌醇需要酶 1 $\alpha$ (inositol requiring enzyme 1 $\alpha$ , IRE1  $\alpha$ )诱导丝氨酸棕榈酰转移酶表达并促进神经酰胺生物合成,神经酰胺的积累最终导致了外泌体的释放。

## 2 肝细胞源性外泌体影响脂质代谢

肝脏作为脂质稳态的中心调节器官,负责组织新的脂肪酸的合成、输出、随后再分配以及其作为能量底物的利用。这些过程受到激素、核受体和转录因子之间复杂的相互作用的密切调控,使肝脏脂质稳态处于严格控制之下。其中一种或多种途径的破坏可能导致脂肪滞留在肝脏内,进一步导致细胞器功能障碍,例如内质网应激、线粒体功能障碍、溶酶体功能障碍等,从而促进 NAFLD 的发生发展<sup>[15-16]</sup>。肝源性的外泌体通过多种信号调控脂质代谢相关基因的表达,包括脂肪酸转运基因、胆固醇合成基因等,影响肝细胞的能量代谢。

### 2.1 TGF- $\beta$ -let-7b-5p、miRNA-34a 促进脂质堆积

此前研究发现,在 NASH 小鼠模型中,肝细胞中的转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )信号促进脂肪变性、体重增加和胰岛素敏感性受损<sup>[17]</sup>。外泌体 let-7b-5p 作为一种肝源性外泌体的 miRNA,被证明介导了肝细胞 TGF- $\beta$  信号传导对白色脂肪的影响。一方面,let-7b-5p 通过下调肾上腺素能受体  $\beta_3$  基因的表达抑制白色脂肪组织向米色转化。另一方面,let-7b-5p 显著增加了脂肪酸转运相关基因如血小板反应蛋白受体(thrombospondin receptor, CD36)、脂肪酸转运蛋白 1 和脂肪酸结合蛋白的基因表达;同时显著降低了脂肪细胞中线粒体标记基因,即细胞色素 c 氧化酶亚基 5B 的基因表达;还降低了产热基因,包括线粒体棕色脂肪解偶联蛋白 1、碘甲状腺素脱碘酶 2、PR 结构域蛋白 16 和 PPAR- $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  的基

因表达。通过上述机制, TGF- $\beta$ -let-7b-5p 抑制能量消耗,促进肥胖的发展<sup>[18]</sup>。

肝细胞源性外泌体 miRNA-34a 被报道增加了肝脏总胆固醇、游离胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)和胆汁酸(bile acids, BAs)水平。其机制为 miRNA-34a 的过表达调控多种基因 mRNA 水平:①上调胆汁酸代谢基因,包含胆固醇 7 $\alpha$  羟化酶(cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase, CYP7A1)和甾醇 12 $\alpha$  羟化酶(sterol 12 $\alpha$ -hydroxylase, CYP8B1);②上调胆固醇合成基因,包含固醇调节元件结合蛋白 2(sterol regulatory element-binding protein 2, SREBP2)、3-羟基-3 甲基戊二酰单酰辅酶 A(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMG-CoA)还原酶和 HMG-CoA 合成酶;③上调脂肪酸合成基因,涉及 SREBP1c、乙酰辅酶 a 羧化酶 1(acetyl-coa carboxylase, ACC)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN);④抑制胆固醇排泄到胆汁的基因,包含 ATP 结合盒转运蛋白 G5(ATP-binding cassette subfamily gmember 5, ABCG5)和 ABCG8;⑤抑制脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)基因,包含过氧化物酶体增殖激活受体 a(peroxisome proliferation activated receptor a, PPARa)、肉碱棕榈酰转移酶 2 和丙酮酸脱氢酶激酶 4。与 mRNA 水平的变化一致, miRNA-34a 显著增加了 CYP7A1、CYP8B1、ACC 和 SREBP1 蛋白水平,从而增加脂质吸收和合成并减少 FAO,加剧了饮食诱导的 NAFLD。此外, miRNA-34a 通过增加肠道和肝脏中的 BA 水平增加了肠道脂质的吸收<sup>[19]</sup>。

另一方面,从小鼠中分离出富含 miRNA-34a 的外泌体显著诱导 M1 巨噬细胞标记物肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素 1b(interleukin, IL-1b)和单核细胞趋化蛋白 1,表明肝细胞可能通过 miRNA-34a 的外泌体传递来调节 Kupffer(KCs)细胞的激活。

### 2.2 miRNA-192 负调控脂质合成

肝源性的外泌体 miRNA-192-5p 在脂毒性肝损伤条件下升高<sup>[20]</sup>。在此前的报道中, miRNA-192-5p 抑制硬脂酰辅酶 a 去饱和酶 1(SCD1)从而减少新生脂肪生成<sup>[21]</sup>。另一项研究中 miRNA-192 直接作用于 SREBF1 的 3'UTR 序列,降低了双酚 A(BPA)刺激的 SREBF1 及其靶基因 FASN、CD36、SCD1 和线粒体甘油-3-磷酸酰基转移酶的表达,使肝脏脂肪变性和脂质积累减轻<sup>[22]</sup>。此外, miRNA-192 的过表达抑制脂肪酸延长酶 1(elongase of verylong chain fatty acids 1, ELOVL1)、ELOVL5、极低密度脂蛋白受体、脂肪酸结合蛋白 3、胰岛素样生长因子 1 mRNA 表达,从而抑制脂肪合成<sup>[23]</sup>。

Liu 等<sup>[20]</sup>报道了脂毒性肝细胞来源的外泌体 miRNA-192-5p 在 NAFLD 中通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白伴侣的蛋白表达,进而抑制蛋白激酶 B 和 FOXO1 的磷酸化,促进 FOXO1 的激活,引发炎症反应。Lee 等<sup>[24]</sup>报道了 PA 处理的 Huh7 细胞外泌体中 miRNA-192 的表达增加了 10 倍。miRNA-192 增强了肝星状细胞纤维化标志物  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$  smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、TGF- $\beta$  和 I 型胶原蛋白 (collagenase 1A1, COL1A1) 的表达,促进了肝纤维化的发展。

### 3 肝细胞源性外泌体加重细胞凋亡和炎症

脂毒性是指由脂肪酸及其中间产物的累积引起的细胞损伤和死亡,包括氧化应激、内质网应激等。在 NASH 中,FFA 的大量涌入导致各种抗氧化通路迅速饱和而引起氧化应激。氧化应激可直接激活细胞坏死的脂质过氧化和凋亡 Fas-配体通路并导致细胞损伤。棕榈酸对内质网有毒性作用,当细胞无法应对内质网应激时,就会刺激活性氧产生并触发 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 介导的凋亡途径。Kupffer 细胞和招募的肝巨噬细胞通过激活巨噬细胞 M1 表型和改变的 M2 巨噬细胞在 NASH 的发展中发挥了关键作用。M1 激活并产生多种细胞因子招募促炎细胞,包括其他先天免疫细胞和 T 淋巴细胞,促进 NASH 中的炎症、纤维化和细胞死亡<sup>[25]</sup>。肝细胞源性的外泌体分泌多种 miRNA 及蛋白,通过介导细胞凋亡、促进巨噬细胞的招募和转化参与了 NAFLD 的进展。

#### 3.1 LPC 介导细胞凋亡

Kakisaka 等<sup>[26]</sup>发现肝细胞癌细胞外泌体富含的 LPC 可诱导 JNK 激活,活化的 JNK 与内质网应激诱导的 CAAT/增强子结合同源蛋白协同作用,上调 p53 凋亡调节剂并触发半胱天冬酶 (caspase) 依赖性细胞死亡。此外, LPC 的产生由磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 介导,抑制 PLA2 可显著减弱棕榈酸盐诱导的细胞死亡。

#### 3.2 S1P、ITG $\beta$ 1、miRNA-122-5p、组蛋白 H3 促进炎症发生

Guo 等<sup>[27]</sup>的研究表明脂毒性肝细胞来源的细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EV) 富含整合素  $\beta_1$  (integrin  $\beta_1$ , ITG $\beta_1$ ), 通过 ITG $\beta_1$  依赖机制促进单核细胞黏附到肝窦内皮细胞,促进炎症。此外, COL1A1 和骨桥蛋白的 mRNA 水平在 ITG $\beta_1$  Ab 治疗后显著降低,这表明 ITG $\beta_1$  可能具有促进纤维化的作用。Kakazu 等<sup>[14]</sup>报道了 PA 处理的肝细胞中释放神经酰胺富集的 EV, 神经酰胺向巨噬细胞转移并被磷酸化形成 1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine-1-phosphate, S1P)。最终 S1P 介导的巨噬细胞趋化作用促进了巨噬细胞向肝脏的招募。报道中的

EV 很可能代表外泌体。

Zhao 等<sup>[13]</sup>报道了胆固醇负荷的 Huh7 细胞衍生的外泌体通过 miRNA-122-5p 诱导 THP-1 巨噬细胞中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  基因的表达,促进了促炎性 M1 巨噬细胞的极化。同时 miRNA-122-5p 也抑制了 THP-1 细胞中抗炎因子血红素氧化酶-1 的表达,促进了炎症的发生。在另一项研究中,热打击诱导肝细胞内组蛋白 H3 核转位到细胞质,并通过内体系统上的 Toll 样受体 4 在外泌体中富集。热打击诱导肝细胞释放大量的外泌体将组蛋白 H3 水平传递给巨噬细胞并激活其向 M1 表型转化,诱导肝损伤及炎症<sup>[28]</sup>。

### 4 肝细胞源性外泌体加重肝纤维化

NAFLD 向 NASH 进展中的一系列肝损伤最终导致肝星状细胞的激活,增加胶原蛋白和细胞外基质的产生和沉积,从而促进肝纤维化和肝硬化<sup>[29]</sup>。McCommis 等<sup>[30]</sup>报道了从高脂喂养的小鼠分离的血浆外泌体增加了星形细胞中 COL1A1、COL3A1、基质金属蛋白酶 2 和基质金属蛋白酶抑制剂 1 的基因的表达。其中肝源性的外泌体在反应中发挥了重要作用。最近一些研究表明,肝源性的外泌体分泌多种因子激活肝星状细胞,促进肝纤维化的发展。

脂毒性条件下,肝细胞外泌体通过将 miRNA-107 和 miRNA-128-3p 转移到人肝星形细胞 (lieming Xu-2, LX-2) 诱导 LX-2 细胞激活,表现为细胞增殖增强和细胞中  $\alpha$ -SMA 和 COL1A1 水平升高。miRNA-107 的作用机制包括 2 种: ① miRNA-107 抑制 Dickkopf 相关蛋白 1 的表达并激活 Wnt 通路,从而增强造血干细胞的活化并促进肝纤维化; ② miRNA-107 通过抑制 CD4<sup>+</sup> T 细胞中的 T 细胞转录因子诱导了 Th9 分化及其标志因子 IL-9 表达, IL-9 通过激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路的 Raf 激酶/丝裂原活化蛋白激酶激酶/细胞外调节蛋白激酶通路促进了 LX-2 细胞的激活。而 miRNA-128-3p 则通过抑制 PPAR- $\gamma$  的表达从而促进了纤维化发展<sup>[11,31]</sup>。

血管生成在纤维化的发展中发挥核心作用。Povero 等<sup>[32]</sup>报道了脂毒性肝细胞以依赖于 caspase 3 激活的方式释放具有促血管生成作用的膜囊泡。其在体外诱导内皮细胞迁移和导管形成,在体内被内皮细胞摄取诱导血管生成。且膜囊泡被血管内皮内化需要血管非炎症蛋白 1 介导。

### 5 临床应用前景

目前 NAFLD 的多种评估方法各有其不足,多种无创检查如血清学肝酶水平、超声、瞬时弹性成像等检查缺乏敏感性和特异性,而肝穿刺活检作为侵入性检查风险较大、成本较高。目前的研究认为,肝源性外泌体作为敏感和特异的生物标志物,

用于 NAFLD(NASH) 的非侵入性诊断和监测具有潜力。一项研究表明血清外泌体来源的 miRNA 能够区分肝脏疾病的多种病因<sup>[33]</sup>。

肝细胞是肝脏的主要细胞类型,在所有类型的肝脏细胞中,肝细胞源性外泌体在 NAFLD 的发病机制中起着关键作用<sup>[34-35]</sup>,在人类和小鼠的实验均表明,肝细胞是循环 EV 水平增加的主要贡献者<sup>[36]</sup>。多个临床研究报道,在 NAFLD 患者中,总循环中细胞外囊泡和肝细胞来源外泌体升高,而在减肥手术 NAFLD 缓解后降低<sup>[37-38]</sup>。表明了肝细胞源性外泌体检测作为诊断及评估 NAFLD 治疗反应的即时生物标志物的可行性。除了血清外泌体数量的变化,在外泌体相关的 miRNA 中,目前关注较多的 miRNA-122 是一种主要的肝脏 miRNA,且是血清中外泌体 miRNA-122 的主要来源<sup>[39-40]</sup>。多项临床研究表明患者血液中 miRNA-122 随着纤维化阶段的增加而呈动态上升。而外泌体 miRNA-192 也有相似表现<sup>[24,41]</sup>。尽管大多数肝源性的 miRNA 虽然在 NAFLD 小鼠模型中检测到升高,但尚未在人类患者中评估其外泌体相关表达水平。最后,鉴于外泌体分离和表征的技术缺乏标准化,定性评估(即特定货物含量)以及准确和可重复的定量评估仍然具有挑战性。因此,仍需要大量的临床试验探索外泌体作为诊断标志物的可行性。

除了作为生物标志物,肝源性外泌体在 NAFLD 的治疗中也显示了巨大的潜力。第一种治疗思路是将外泌体用于药物输送的载体。由于外泌体自身的膜特性,理论上可将装载的药物靶向特定的细胞发挥治疗效果。目前已有多种方法可以实现药物的装载,如将 EV 与所需的负载分子孵育、挤压、超声、皂素渗透、冻融和电穿孔等<sup>[42]</sup>。另一种治疗方案是抑制外泌体释放从而减缓 NAFLD 进展,但这一方案仍在萌芽阶段,仍需要更多的基础和临床试验进行深入研究。

## 6 小结

通过之前的研究,我们明确了肝源性的外泌体对于 NAFLD 的影响十分重要,尤其是对其病理过程包括脂质代谢、巨噬细胞激活和肝纤维化的影响,因此,阻断外泌体或将外泌体用作药物载体将有益于 NAFLD 的治疗,但此种治疗的可行性有待评估。此外,目前仍存在问题待进一步探索,肝细胞源性外泌体对于胰岛素抵抗以及细胞凋亡的影响的证据仍不足,以及其他细胞来源的外泌体如何发挥作用等,未来还需要更多的实验研究来支持有关肝源性外泌体的理论。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Cannito S, Morello E, Bocca C, et al. Microvesicles released from fat-laden cells promote activation of hepatocellular NLRP3 inflammasome: A pro-inflammatory link between lipotoxicity and non-alcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0172575.
- [2] Zhou F, Zhou J, Wang W, et al. Unexpected Rapid Increase in the Burden of NAFLD in China From 2008 to 2018: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1119-1133.
- [3] Lee HW, Wong VW. Changing NAFLD Epidemiology in China[J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1095-1098.
- [4] Mahmoudi A, Butler AE, Jamialahmadi T, et al. The role of exosomal miRNA in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(4): 2078-2094.
- [5] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4): 213-228.
- [6] Cai S, Cheng X, Pan X, et al. Emerging role of exosomes in liver physiology and pathology[J]. *Hepatol Res*, 2017, 47(2): 194-203.
- [7] Wang W, Zhu N, Yan T, et al. The crosstalk: exosomes and lipid metabolism[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 119.
- [8] Ma S, Shao S, Yang C, et al. A preliminary study: proteomic analysis of exosomes derived from thyroid-stimulating hormone-stimulated HepG2 cells [J]. *J Endocrinol Invest*, 2020, 43(9): 1229-1238.
- [9] Hirsova P, Ibrahim SH, Krishnan A, et al. Lipid-Induced Signaling Causes Release of Inflammatory Extracellular Vesicles From Hepatocytes[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4): 956-967.
- [10] Shen M, Shen Y, Fan X, et al. Roles of Macrophages and Exosomes in Liver Diseases[J]. *Front Med(Lausanne)*, 2020, 7: 583691.
- [11] Wang W, Li F, Lai X, et al. Exosomes secreted by palmitic acid-treated hepatocytes promote LX-2 cell activation by transferring miRNA-107[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 174.
- [12] Zhang J, Tan J, Wang M, et al. Lipid-induced DRAM recruits STOM to lysosomes and induces LMP to promote exosome release from hepatocytes in NAFLD [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(45): eabh1541.
- [13] Zhao Z, Zhong L, Li P, et al. Cholesterol impairs hepatocyte lysosomal function causing M1 polarization of macrophages via exosomal miR-122-5p[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 387(1): 111738.
- [14] Kakazu E, Mauer AS, Yin M, et al. Hepatocytes release ceramide-enriched pro-inflammatory extracellular vesicles in an IRE1 $\alpha$ -dependent manner[J]. *J Lipid Res*, 2016, 57(2): 233-245.
- [15] Ipsen DH, Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(18): 3313-3327.
- [16] Geng Y, Faber KN, de Meijer VE, et al. How does hepatic lipid accumulation lead to lipotoxicity in non-al-

- coholic fatty liver disease? [J]. *Hepato Int*, 2021, 15(1):21-35.
- [17] Yang L, Roh YS, Song J, et al. Transforming growth factor beta signaling in hepatocytes participates in steatohepatitis through regulation of cell death and lipid metabolism in mice [J]. *Hepatology*, 2014, 59(2):483-495.
- [18] Zhao J, Hu L, Gui W, et al. Hepatocyte TGF- $\beta$  Signaling Inhibiting WAT Browning to Promote NAFLD and Obesity Is Associated With Let-7b-5p [J]. *Hepato Commun*, 2022, 6(6):1301-1321.
- [19] Xu Y, Zhu Y, Hu S, et al. Hepatocyte miR-34a is a key regulator in the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Mol Metab*, 2021, 51:101244.
- [20] Liu XL, Pan Q, Cao HX, et al. Lipotoxic hepatocyte-derived exosomal miR-192-5p activates macrophages via Rictor/Akt/FoxO1 signaling in NAFLD [J]. *Hepatology*, 2020, 72(2):454-469.
- [21] Liu XL, Cao HX, Wang BC, et al. miR-192-5p regulates lipid synthesis in non-alcoholic fatty liver disease through SCD-1 [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(46):8140-8151.
- [22] Lin Y, Ding D, Huang Q, et al. Downregulation of miR-192 causes hepatic steatosis and lipid accumulation by inducing SREBF1: Novel mechanism for bisphenol A-triggered non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862(9):869-882.
- [23] Gil-Zamorano J, Martin R, Daimiel L, et al. Docosahexaenoic acid modulates the enterocyte Caco-2 cell expression of microRNAs involved in lipid metabolism [J]. *J Nutr*, 2014, 144(5):575-585.
- [24] Lee YS, Kim SY, Ko E, et al. Exosomes derived from palmitic acid-treated hepatocytes induce fibrotic activation of hepatic stellate cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):3710.
- [25] Manne V, Handa P, Kowdley KV. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis [J]. *Clin Liver Dis*, 2018, 22(1):23-37.
- [26] Kakisaka K, Cazanave SC, Fingas CD, et al. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced hepatocyte lipoapoptosis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(1):G77-G84.
- [27] Guo Q, Furuta K, Lucien F, et al. Integrin  $\beta$ 1-enriched extracellular vesicles mediate monocyte adhesion and promote liver inflammation in murine NASH [J]. *J Hepato*, 2019, 71(6):1193-1205.
- [28] 张杰. DRAM 在 NAFLD 发生发展过程中促进肝细胞外泌体分泌的作用及机制研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2021.
- [29] Kumar S, Duan Q, Wu R, et al. Pathophysiological communication between hepatocytes and non-parenchymal cells in liver injury from NAFLD to liver fibrosis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 176:113869.
- [30] McCommis KS, Hodges WT, Brunt EM, et al. Targeting the mitochondrial pyruvate carrier attenuates fibrosis in a mouse model of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2017, 65(5):1543-1556.
- [31] Povero D, Panera N, Eguchi A, et al. Lipid-induced hepatocyte-derived extracellular vesicles regulate hepatic stellate cell via microRNAs targeting PPAR- $\gamma$  [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(6):646-663. e4.
- [32] Povero D, Eguchi A, Niesman IR, et al. Lipid-induced toxicity stimulates hepatocytes to release angiogenic microparticles that require Vanin-1 for uptake by endothelial cells [J]. *Sci Signal*, 2013, 6(296):ra88.
- [33] Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, et al. Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e48366.
- [34] Garcia-Martinez I, Alen R, Rada P, et al. Insights Into Extracellular Vesicles as Biomarker of NAFLD Pathogenesis [J]. *Front Med(Lausanne)*, 2020, 7:395.
- [35] Overi D, Carpino G, Franchitto A, et al. Hepatocyte Injury and Hepatic Stem Cell Niche in the Progression of Non-Alcoholic Steatohepatitis [J]. *Cells*, 2020, 9(3):590.
- [36] Newman LA, Sorich MJ, Rowland A. Role of Extracellular Vesicles in the Pathophysiology, Diagnosis and Tracking of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(7):2032.
- [37] Nakao Y, Amrollahi P, Parthasarathy G, et al. Circulating extracellular vesicles are a biomarker for NAFLD resolution and response to weight loss surgery [J]. *Nanomedicine*, 2021, 36:102430.
- [38] Rega-Kaun G, Ritzel D, Kaun C, et al. Changes of Circulating Extracellular Vesicles from the Liver after Roux-en-Y Bariatric Surgery [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9):2153.
- [39] Povero D, Eguchi A, Li H, et al. Circulating extracellular vesicles with specific proteome and liver microRNAs are potential biomarkers for liver injury in experimental fatty liver disease [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12):e113651.
- [40] Maji S, Matsuda A, Yan IK, et al. Extracellular vesicles in liver diseases [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2017, 312(3):G194-G200.
- [41] Pirola CJ, Fernández Gianotti T, Castaño GO, et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis [J]. *Gut*, 2015, 64(5):800-812.
- [42] 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.