

细胞外囊泡在呼吸道病毒感染的作用机制

陈染 黄佳佳 王楚雯 钱国清

宁波大学附属第一医院感染科, 宁波大学附属第一医院医学数据中心, 宁波 315211

通信作者: 钱国清, Email: bill.qian@outlook.com

【摘要】 细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是起源于细胞膜的多囊泡体, EVs 在病毒性炎症中发挥重要作用, 可以充当病毒载体, 协助病毒的感染和传播; 调节细胞炎症通路的表达以及炎症因子的释放; 诱导机体免疫应答, 抑制病毒复制和传播, 发挥抗病毒作用。上皮细胞是病毒入侵肺组织时的首要感染目标, 随后巨噬细胞迅速对病毒的感染做出反应, 上皮细胞和巨噬细胞之间的“串话”在细胞炎症反应中起重要作用, 而细胞释放的 EVs 在“串话”中发挥关键作用。本文综述了感染不同病毒后, 上皮细胞和巨噬细胞释放的 EVs 在病毒传播及其引发肺部炎症的作用机制。

【关键词】 上皮细胞; 细胞外囊泡; 病毒感染

基金项目: 浙江省基础公益研究计划 (LY23H190003); 宁波市青年科技创新领军人才项目 (2023QL055); 浙江省卫生高层次人才培养基金 (浙卫发[2021]-40)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20231115-00087

Mechanism of extracellular vesicles in respiratory virus infection

Chen Ran, Huang Jiajia, Wang Chuwen, Qian Guoqing

Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Ningbo University; Medical Data Center, the First Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo 315211, China

Corresponding author: Qian Guoqing, Email: bill.qian@outlook.com

【Abstract】 Extracellular vesicles (EVs) are multivesicular bodies originating from the cell membrane. EVs play an important role in viral infection and inflammation by acting as viral vectors to assist in viral infection and dissemination. Cellular inflammatory pathways and inflammatory factors can also be regulated by EVs. EVs can induce an immune response, inhibit virus replication, thus exerting antiviral effects. Epithelial cells are the primary targets of viral invasion into lung tissue, and macrophages quickly respond to viral infection. EVs released by the cells play a key role in the "crosstalk" between epithelial cells and macrophages, and the "crosstalk" plays an important role in cellular inflammatory response. In this review, the role of EVs released by epithelial and macrophage cells in viral spread and the resulting pulmonary inflammation after infection with different viruses is summarized.

【Key words】 Epithelial cells; Extracellular vesicles; Viral infections

Fund program: Zhejiang Province Basic Public Welfare Research Project (LY23H190003); Youth Science and Technology Innovation Leading Talent Project of Ningbo (2023QL055); Zhejiang Provincial Foundation for the Cultivation of High-level Health Talents ([2021]-40)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20231115-00087

病毒感染肺部后引起急性呼吸道感染, 临床症状表现为咳嗽、发热、呼吸困难, 严重者发展为病毒性肺炎, 诱发急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS), 对患者肺部功能造成严重损伤。病毒在体内不断突变、重组、

持续进化, 极易产生耐药性, 现有抗病毒药物很难有效控制病毒的感染和传播。深入了解病毒在肺部引起炎症反应的机制有助于开发新的有效抗病毒方法及药物。细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 在病毒性炎症反应中发挥重要作

用,本文将就 EVs 在呼吸道病毒感染的作用机制进行综述。

一、EVs 的概述

细胞内吞囊泡与细胞膜结合形成早期核内体,在发展为晚期核内体过程中形成多囊泡体, EVs 起源于细胞膜的多囊泡体,与细胞膜融合后释放到胞外。EVs 可存在于尿液、血液和组织液等体液中^[1],其内包含核酸、蛋白质和脂类等。核酸含信使 RNA(mRNA)、微 RNA(microRNA, miRNA)等可通过 EVs 调节靶细胞基因的转录和表达,影响靶细胞的状态与功能^[2]。EVs 包含的蛋白质有标识蛋白和免疫蛋白等,与 EVs 的形成和通讯功能密切相关^[3],脂类则与 EVs 稳定性有关^[4]。EVs 通过被细胞摄取和分泌参与细胞间物质和信息的传递,发挥生物学功能。细胞释放的 EVs 可以反映来源细胞的生理状态,其充当细胞间通讯介质,传递信息,参与病毒感染散播,激活机体免疫应答,调节机体炎症反应等功能。

二、上皮细胞和巨噬细胞间的“串话”作用

上皮细胞位于呼吸道和肺泡表面,病毒通常将上皮细胞作为侵入点感染肺组织,随后巨噬细胞迅速对病毒感染做出反应。上皮细胞与巨噬细胞间的“串话”在细胞炎症反应中发挥关键作用。Narasaraju 等^[5]发现小鼠巨噬细胞与感染病毒的上皮细胞共培养后,巨噬细胞可以吞噬感染的上皮细胞,产生生长因子诱导损伤的上皮细胞增殖修复。正常生理状态下,上皮细胞传导抗炎信号通路,抑制巨噬细胞的极化,而病毒的入侵会抑制抗炎信号通路的传导,启动机体抗病毒反应。而上皮细胞和巨噬细胞间的“串话”可能由细胞释放的 EVs 调控。Soni 等^[6]发现,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)处理小鼠后,小鼠肺泡灌洗液内的 EVs 大多由肺上皮细胞和巨噬细胞分泌释放。Neri 等^[7]进一步发现,巨噬细胞释放的 EVs 可以诱导上皮细胞合成和释放促炎介质,影响细胞炎症反应。可见,上皮细胞和巨噬细胞释放的 EVs 在肺部病毒性感染中发挥重要作用,细胞感染病毒后,病毒选择性地自身遗传物质包裹进细胞分泌的 EVs。因此人体感染不同病毒后,细胞释放 EVs 所携带的物质各不相同, EVs 发挥的生物学作用和相关机制也有所不同。

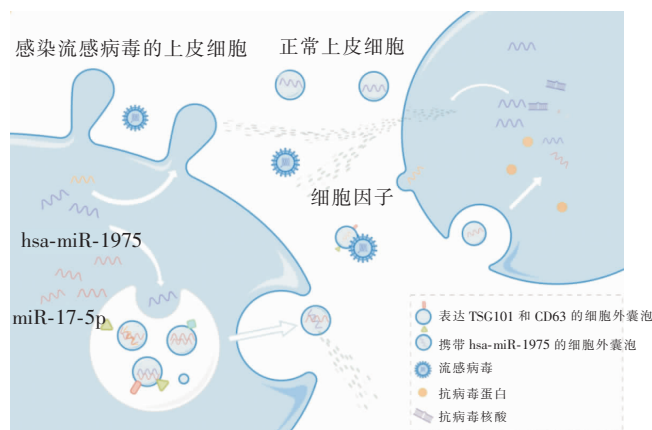
三、不同类型病毒通过 EVs 发挥生物学功能

1. 流感病毒

流感病毒破坏支气管黏液屏障,与上皮细胞表面唾液酸受体结合,通过细胞内吞作用进入宿主细胞后,被运送到细胞核附近,最后与核内体融合形成核糖核蛋白(virus ribonucleoprotein, vRNPs)。vRNPs 进入细胞核,合成病毒翻译和复制相关的 mRNA 和 cRNA,通过 Rab11 将新合成的 vRNPs 从细胞核定向运输至细胞质膜,进入处于出芽状态的病毒,随病毒出胞^[8]。感染流感病毒后,不同状态的上皮细胞

释放 EVs 内容物不同,作用也不同。Scheller 等^[9]发现感染流感病毒后,上皮细胞释放 EVs 和支气管肺泡灌洗液中 miR-17-5p 高表达,细胞抗黏液病毒基因(myxovirus-resistant, Mx)1 的表达下降,促进流感病毒的复制(图 1)。而 Liu 等^[10]发现感染流感病毒的上皮细胞在凋亡时会表达 hsa-miR-1975,随后 EVs 携带 hsa-miR-1975 进入邻近细胞,与抗病毒蛋白或核苷酸结合,产生 IFN,抑制流感病毒复制和传播。此外,流感病毒进化出多种免疫逃逸机制,如产生多功能蛋白比如非结构蛋白-1(Non-structural protein-1, NS1)蛋白和碱性聚合酶蛋白 1-F2(PB1-F2)蛋白,抑制机体固有免疫^[11]。具有较低的免疫原性和较好的生物相容性的 EVs 可引发“特洛伊木马”现象,协助病毒免疫逃逸、感染靶细胞^[9]。

EVs 参与调节流感病毒的免疫应答机制主要是上皮细胞分泌的 EVs 诱导细胞分泌细胞因子和趋化因子,激活和调节机体固有免疫和获得性免疫,发挥抗病毒作用^[12]。Kesimer 等^[13]发现上皮细胞分泌的表达肿瘤易感基因 101(tumor susceptibility gene 101, TSG101)和 CD63 的 EVs 通过其表面的 α -2,6 连接唾液酸中和流感病毒,参与黏膜先天免疫,发挥抗病毒作用。Diebold 等^[14]发现细胞感染流感病毒后,其释放的 EVs 内包含病毒遗传物质,DC 和巨噬细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)能识别 EVs 内的病毒 RNA,产生大量 I 型 IFN 和促炎细胞因子,发挥抗病毒作用。Maemura 等^[15]进一步发现感染流感病毒后,小鼠肺泡巨噬细胞和肺泡灌洗液来源 EVs 内含大量 miR-483-3p,靶向调节维甲酸诱导基因蛋白 I(RIG-I)信号通路负调控因子,诱导 IFN-1 和促炎细胞因子的表达增加,发挥作用。



注:miR:微 RNA;TSG101:肿瘤易感基因 101

图 1 上皮细胞感染流感病毒后释放的细胞外囊泡在病毒感染中的作用过程

2. 腺病毒

腺病毒主要感染胃肠道和呼吸道上皮细胞,被感染上皮

细胞释放的 EVs 可作为腺病毒载体,协助腺病毒在机体内传播和感染。Crenshaw 等^[16]发现感染腺病毒细胞释放的 EVs 通过磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine,PS)和 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白域分子(T cell immunoglobulin domain and mucin domain protein,TIM)-4 与腺病毒结合,协助腺病毒入侵感染细胞,在靶细胞内释放病毒遗传物质,随后病毒在胞内复制、合成相关蛋白,感染邻近细胞。腺病毒与上皮细胞表面受体结合后,通过戊烷碱基蛋白与 $\alpha v\beta 3$ 或 $\alpha v\beta 5$ 整合素之间的二次结合侵入感染细胞的溶酶体^[17],腺病毒处于溶酶体的酸性环境时,其衣壳的构象发生改变,可躲避溶酶体的消化。最终,腺病毒进入细胞核,将病毒 DNA 释放到细胞核内,影响细胞的状态和功能^[18]。

感染腺病毒的上皮细胞释放 EVs 并参与机体免疫调节过程。Ipinmoroti 等^[19]发现,腺病毒诱导感染上皮细胞内 Rab5、Rab7 和 Rab35 表达上调,细胞 EVs 释放量增加,EVs 内热休克蛋白(heat shock proteins,Hsps)70 和 Hsps 100 表达上调,抑制细胞促炎反应。IL-1 β 、IFN 调节因子(interferon regulatory factor,IRF)-3 及 Toll 样受体(Toll-like receptor,TLR)7 表达显著上调,诱导核因子 κB (nuclear factor kappa-B,NF- κB)活化,调节免疫和炎症相关基因的差异表达^[20],诱导机体识别病原体^[19]。此外,Huang 等^[21]发现腺病毒肺炎患儿血清 EVs 内 miR-450a-5p、miR-103a-3p、miR-103b-5p 和 miR-98-5p 的表达改变,其中 miR-450a-5p 可以调控信号转导因子和转录激活因子的 mRNA 表达^[22],miR-98-5p 可以抑制 IFN- α 信号通路的激活^[23]。因此 miR-450a-5p 和 miR-98-5p 可能是通过调节 IFN- α 信号通路的表达影响患儿肺部炎症的发生发展。

3. 人呼吸道合胞病毒

人呼吸道合胞病毒可以调节感染细胞内 miRNAs 的表达,影响感染细胞的功能状态。Bakre 等^[24]发现病毒感染上皮细胞后,胞内 Let-7f、miR-24、miR-221 表达显著上调,合胞病毒在胞内复制能力增加,上皮细胞感染合胞病毒后,其释放的 EVs 内携带病毒 RNA、蛋白质,改变 EVs 内宿主 mRNA、rRNA 片段、miRNA、piRNA 和 tRNA 的数量,可调控靶细胞和邻近未感染细胞的基因表达。此外细胞感染合胞病毒后,其释放 EVs 中虽然携带合胞病毒的 RNA 和蛋白质,但该病毒不能感染靶细胞,这可能与 EVs 内的合胞病毒缺少全长基因组相关。

上皮细胞表面的 PRRs 可以识别合胞病毒,包括 TLRs、RIG-I 在内的 PRRs 可以调控、激活转录因子 IRF-3 和 NF- κB ^[25-26],诱导分泌细胞因子和抗病毒分子,激活机体固有免疫应答^[27-28]。合胞病毒还可以刺激上皮细胞内 RIG-I 和 TLR3 产生胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal

lymphopoietin,TSLP),增强 Th2 介导的免疫反应,进而引发哮喘和过敏性炎症,进一步释放细胞因子和抗病毒分子^[27-30]。合胞病毒感染上皮细胞后,其释放 EVs 诱导促炎介质单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1,MCP-1)、IP-10 和趋化因子配体 5(C-C motif chemokine ligand 5,CCL5)的释放,进一步激活固有免疫。另外 Chahar 等^[31]发现合胞病毒感染上皮细胞释放的 EVs 刺激单核细胞产生趋化因子,但单核细胞的活化机制尚不明确。在巨噬细胞和淋巴细胞聚集过程中,合胞病毒可以诱导宿主细胞产生非编码 RNA,干扰宿主 mRNA 转录后的生物活性,因此,可通过血液来源 EVs 调节靶细胞基因组^[32-33],决定免疫细胞的极化,引起免疫稳态偏移^[34]。

4. 鼻病毒

鼻病毒通过 TLR 3 与上皮细胞结合,诱导支气管上皮细胞释放炎性细胞因子、趋化因子、细胞黏合素 C(tenascin-C,TN-C)和 EVs。Triantafyllou 等^[35]发现感染鼻病毒后,上皮细胞释放的 EVs 内 miRNA 的表达水平发生改变,诱导释放 IL-8、IL-6 和 CCL5,调节 TN-C 的释放量,加剧气道炎症反应和机体抗病毒反应。此外,TN-C 的释放量还受肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β ,TGF- β)的调节,大量 TN-C 的存在诱导蛋白在气道沉积,加重患者憋喘症状。

研究证明,鼻病毒感染是造成哮喘恶化的主要原因,占儿童和成人急性发作病因的 50%至 80%^[36-37]。Wang 等^[38]发现,上皮细胞感染鼻病毒后,感染细胞释放的 EVs 中有 26 个 miRNA 在哮喘患者和非哮喘患者中出现差异表达,并且其在哮喘患者感染鼻病毒前后也存在差异表达。miRNA 分为表达上调、下降的两簇,表达上调的 miRNA 与辅助型 T 细胞 1(T helper 1 cell,Th1)、IFN- γ 和 IFN 诱导蛋白(interferon-induced proteins,IP)-1 有关,可以诱导 IFN- γ 和 IP-10 的表达,在抗病毒和抗炎反应中发挥关键作用,但在哮喘患者体内鼻病毒对 IFN- γ 和 IP-10 的诱导作用下降,导致哮喘患者感染风险显著提高。EVs 中表达下调的 miRNA 与辅助型 T 细胞 2(T helper 2 cell,Th2)密切相关,正向调 TLR7 和 TLR9 信号通路介导病原体识别,发挥抗病毒作用^[38]。

5. SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 通过呼吸道进入肺泡,其主要感染目标是表达血管紧张素转换酶 2 受体(angiotensin-converting enzyme 2,ACE2)的 II 型肺泡上皮细胞^[39-40]。Bansal 等^[41]发现 EVs 将病毒遗传物质和蛋白质递送至正常细胞,增加细胞病毒易感性,而 EVs 携带的 CD81 和 CD9 蛋白参与 EVs 和细胞质膜的融合,协助病毒进入肺泡上皮细胞。此外 Wang 等^[42]发现 EVs 还可以携带 ACE2,增加靶细胞膜表面 ACE2 水平,促进

病毒黏附靶细胞。

SARS-CoV-2 感染细胞后, EVs 通过携带不同内容物影响机体免疫应答。Su 等^[43]发现上皮细胞分泌含肺相关自身抗原和病毒抗原的 EVs, 传递至巨噬细胞, 巨噬细胞极化后, 递呈抗原, 活化其他免疫细胞。上皮细胞和巨噬细胞间的“串话”在引发细胞因子风暴中发挥关键作用。实验表明, 用 LPS 刺激小鼠 1 h 后, 肺泡灌洗液中大部分的 EVs 来自巨噬细胞, EVs 内含有各种促炎因子 TNF- α 和谷氨酰胺酶, TNF- α 激活上皮细胞中的 NF- κ B, 产生大量 IL-8 和单核细胞趋化蛋白 1 (MCP1), 促进免疫细胞迁移到肺部, 引发细胞因子风暴^[6]。此外, 巨噬细胞可以内化上皮细胞来源的 EVs, 携带 miR-221 和 miR320a 的 EVs 被巨噬细胞摄取后, 诱导细胞分泌释放 TNF- α 、IL-6 和巨噬细胞炎症蛋白, 促进巨噬细胞迁移到炎症部位^[44]。

四、结语

上皮细胞和巨噬细胞释放 EVs 在多种病毒感染及其引发的炎症反应中起着重要作用。目前肺组织上皮细胞和巨噬细胞释放 EVs 的研究主要聚焦于 EVs 在肺部炎症疾病中作用及相关机制。而 EVs 在 SARS-CoV-2 感染中的作用大多集中于 EVs 在病毒感染的诊断和治疗等方面, 缺少关于感染 SARS-CoV-2 后, 肺巨噬细胞来源 EVs 在病毒感染及其引发的肺部炎症中的作用及机制的研究。从发展来看, EVs 非常有潜力成为新的诊断病毒感染的标记物, 并且基于 EVs 的载体功能, 其也有望成为新型靶向药物, 值得进一步研究探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- Urbanelli L, Buratta S, Tancini B, et al. The role of extracellular vesicles in viral infection and transmission[J]. *Vaccines (Basel)*, 2019, 7(3):102. DOI: 10.3390/vaccines7030102.
- Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-659. DOI: 10.1038/ncb1596.
- Meldolesi J. Exosomes and ectosomes in intercellular communication [J]. *Curr Biol*, 2018, 28(8): R435-r444. DOI: 10.1016/j.cub.2018.01.059.
- Sagini K, Costanzi E, Emiliani C, et al. Extracellular vesicles as conveyors of membrane-derived bioactive lipids in immune system [J]. *Int J Mol Sci*, 2018,19(4):1227. DOI: 10.3390/ijms19041227.
- Narasaraju T, Ng HH, Phoon MC, et al. MCP-1 antibody treatment enhances damage and impedes repair of the alveolar epithelium in influenza pneumonitis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(6): 732-743. DOI: 10.1165/rcmb.2008-0423OC.
- Soni S, Wilson MR, O'Dea KP, et al. Alveolar macrophage-derived microvesicles mediate acute lung injury[J]. *Thorax*, 2016, 71(11): 1020-1029. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-208032.
- Neri T, Armani C, Pegoli A, et al. Role of NF-kappaB and PPAR-gamma in lung inflammation induced by monocyte-derived microparticles[J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(6): 1494-1502. DOI: 10.1183/09031936.00023310.
- Keshavarz M, Dianat-Moghadam H, Sofiani VH, et al. miRNA-based strategy for modulation of influenza A virus infection [J]. *Epigenomics*, 2018, 10(6): 829-844. DOI: 10.2217/epi-2017-0170.
- Scheller N, Herold S, Kellner R, et al. Proviral microRNA detected in extracellular vesicles from bronchoalveolar lavage fluid of patients with influenza virus-induced acute respiratory distress syndrome[J]. *J Infect Dis*, 2019, 219(4): 540-543. DOI: 10.1093/infdis/jiy554.
- Liu YM, Tseng CH, Chen YC, et al. Exosome-delivered and Y RNA-derived small RNA suppresses influenza virus replication[J]. *J Biomed Sci*, 2019, 26(1): 58. DOI: 10.1186/s12929-019-0553-6.
- Chen X, Liu S, Goraya MU, et al. Host immune response to influenza a virus infection [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(320). DOI: 10.3389/fimmu.2018.00320.
- Miura TA. Respiratory epithelial cells as master communicators during viral infections[J]. *Curr Clin Microbiol Rep*, 2019, 6(1): 10-17. DOI: 10.1007/s40588-019-0111-8.
- Kesimer M, Scull M, Brighton B, et al. Characterization of exosome-like vesicles released from human tracheobronchial ciliated epithelium: A possible role in innate defense[J]. *FASEB J*, 2009, 23(6): 1858-1868. DOI: 10.1096/fj.08-119131.
- Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, et al. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA [J]. *Science*, 2004, 303 (5663): 1529-1531. DOI: 10.1126/science.1093616.
- Maemura T, Fukuyama S, Sugita Y, et al. Lung-derived exosomal mir-483-3p regulates the innate immune response to influenza virus infection [J]. *J Infect Dis*, 2018, 217(9): 1372-1382. DOI: 10.1093/infdis/jiy035.
- Crenshaw BJ, Jones LB, Bell CR, et al. Perspective on adenoviruses: Epidemiology, pathogenicity, and gene therapy[J]. *Biomedicines*, 2019,7(3):61. DOI: 10.3390/biomedicines7030061.
- Wickham TJ, Mathias P, Cheresch DA, et al. Integrins alpha v beta 3 and alpha v beta 5 promote adenovirus internalization but not virus attachment[J]. *Cell*, 1993, 73(2): 309-319. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90231-e.
- Seth P, Pastan I, Willingham MC. Adenovirus-dependent changes in cell membrane permeability: Role of Na+, K+-ATPase [J]. *J Virol*, 1987, 61(3): 883-888. DOI: 10.1128/JVI.61.3.883-888.1987.
- Ipinmoroti AO, Crenshaw BJ, Pandit R, et al. Human adenovirus serotype 3 infection modulates the biogenesis and composition of lung cell-derived extracellular vesicles [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 2958394. DOI: 10.1155/2021/2958394.
- Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, et al. Exosomes: Composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug

- resistance[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75. DOI: 10.1186/s12943-019-0991-5.
- [21] Huang F, Bai J, Zhang J, et al. Identification of potential diagnostic biomarkers for pneumonia caused by adenovirus infection in children by screening serum exosomal micromRNAs [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 4306-4314. DOI: 10.3892/mmr.2019.10107.
- [22] Dernowsek JA, Pereira MC, Fornari TA, et al. Posttranscriptional interaction between miR-450a-5p and miR-28-5p and STAT1 mRNA triggers osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(11): 4045-4062. DOI: 10.1002/jcb.26060.
- [23] Dong G, Fan H, Yang Y, et al. 17 β -Estradiol enhances the activation of IFN- α signaling in B cells by down-regulating the expression of let-7e-5p, miR-98-5p and miR-145a-5p that target IKK ϵ [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(8): 1585-1598. DOI: 10.1016/j.bbdis.2015.04.019.
- [24] Bakre A, Mitchell P, Coleman JK, et al. Respiratory syncytial virus modifies microRNAs regulating host genes that affect virus replication[J]. *J Gen Virol*, 2012, 93(Pt 11): 2346-2356. DOI: 10.1099/vir.0.044255-0.
- [25] Zheng J, Yang P, Tang Y, et al. A respiratory syncytial virus persistent-infected cell line system reveals the involvement of SOCS1 in the innate antiviral response[J]. *Virol Sin*, 2015, 30(3): 190-199. DOI: 10.1007/s12250-015-3597-0.
- [26] Tian B, Yang J, Zhao Y, et al. BRD4 couples NF- κ B/RelA with airway inflammation and the IRF-RIG- I amplification loop in respiratory syncytial virus infection [J]. *J Virol*, 2017, 91(6):e00007-00017. DOI: 10.1128/JVI.00007-17.
- [27] Rossi GA, Colin AA. Infantile respiratory syncytial virus and human rhinovirus infections: Respective role in inception and persistence of wheezing [J]. *Eur Respir J*, 2015, 45(3): 774-789. DOI: 10.1183/09031936.00062714.
- [28] Lay MK, Bueno SM, Gálvez N, et al. New insights on the viral and host factors contributing to the airway pathogenesis caused by the respiratory syncytial virus[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2016, 42(5): 800-812. DOI: 10.3109/1040841X.2015.1055711.
- [29] Lee HC, Headley MB, Loo YM, et al. Thymic stromal lymphopoietin is induced by respiratory syncytial virus-infected airway epithelial cells and promotes a type 2 response to infection[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(5): 1187-1196.e5. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.07.031.
- [30] Feng S, Zhang L, Bian XH, et al. Role of the TSLP-DC-OX40L pathway in asthma pathogenesis and airway inflammation in mice [J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96 (3): 306-316. DOI: 10.1139/bcb-2017-0126.
- [31] Chahar HS, Corsello T, Kudlicki AS, et al. Respiratory syncytial virus infection changes cargo composition of exosome released from airway epithelial cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 387. DOI: 10.1038/s41598-017-18672-5.
- [32] Anderson L, Jorquera PA, Tripp RA. MicroRNA profiling from RSV-infected biofluids, whole blood, and tissue samples[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1442: 195-208. DOI: 10.1007/978-1-4939-3687-8_14.
- [33] Hasegawa K, Pérez-Losada M, Hoptay CE, et al. RSV *vs.* rhinovirus bronchiolitis: Difference in nasal airway microRNA profiles and NF κ B signaling[J]. *Pediatr Res*, 2018, 83(3): 606-614. DOI: 10.1038/pr.2017.309.
- [34] Feng S, Zeng D, Zheng J, et al. MicroRNAs: Mediators and therapeutic targets to airway hyper reactivity after respiratory syncytial virus infection[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2177. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02177.
- [35] Triantafilou K, Vakakis E, Richer EA, et al. Human rhinovirus recognition in non-immune cells is mediated by Toll-like receptors and MDA-5, which trigger a synergetic pro-inflammatory immune response[J]. *Virulence*, 2011, 2(1): 22-29. DOI: 10.4161/viru.2.1.13807.
- [36] Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, et al. The relationship between upper respiratory infections and hospital admissions for asthma: A time-trend analysis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 154(3 Pt 1): 654-660. DOI: 10.1164/ajrccm.154.3.8810601.
- [37] Mills JT, Schwenzer A, Marsh EK, et al. Airway epithelial cells generate pro-inflammatory tenascin-C and small extracellular vesicles in response to TLR3 stimuli and rhinovirus infection[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1987. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01987.
- [38] Wang W, Sinha A, Lutter R, et al. Analysis of exosomal microRNA dynamics in response to rhinovirus challenge in a longitudinal case-control study of asthma[J]. *Viruses*, 2022, 14(11): 2444. DOI: 10.3390/v14112444.
- [39] Yan R, Zhang Y, Li Y, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2[J]. *Science*, 2020, 367 (6485): 1444-1448. DOI: 10.1126/science.abb2762.
- [40] Zhang H, Penninger JM, Li Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: Molecular mechanisms and potential therapeutic target[J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46 (4): 586-590. DOI: 10.1007/s00134-020-05985-9.
- [41] Bansal S, Tokman S, Fleming T, et al. SARS-CoV-2 infection in lung transplant recipients induces circulating exosomes with SARS-CoV-2 spike protein S2[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(11): e576. DOI: 10.1002/ctm2.576.
- [42] Wang J, Chen S, Bihl J. Exosome-mediated transfer of ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) from endothelial progenitor cells promotes survival and function of endothelial cell[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020,2020:4213541. DOI: 10.1155/2020/4213541.
- [43] Su G, Ma X, Wei H. Multiple biological roles of extracellular vesicles in lung injury and inflammation microenvironment [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:5608382. DOI: 10.1155/2020/5608382.
- [44] Lee H, Zhang D, Zhu Z, et al. Epithelial cell-derived microvesicles activate macrophages and promote inflammation via microvesicle-containing microRNAs[J]. *Sci Rep*, 2016,6:35250. DOI: 10.1038/srep35250.