

网络出版时间: 2020-9-24 10:49 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200923.1151.031.html>

◇技术与方法◇

子宫内膜间质细胞来源外泌体 miRNA 表达谱的差异分析

王礼贤¹ 胡月阳² 李 琰³ 杨 漪¹ 康 山⁴

摘要 探究不同来源子宫内膜间质细胞(ESC)外泌体微小RNA(miRNA)表达谱的差异。将40例子官内膜异位症(EMs)患者(研究组)及40例子宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅲ行子宫手术患者(对照组)ESC原代培养后分离培养基中外泌体芯片检测两组外泌体miRNA表达谱差异,qRT-PCR检测两组外泌体miR-205、miR-542-3p水平;对上调、下调倍数较高miRNA且与EMs相关靶基因进行预测。研究组与对照组ESC外泌体有39种miRNA表达差异有统计学意义($P < 0.05$)其中上调miRNA有14个,以miR-205上调倍数最高;下调有25个,以miR-542-3p下调倍数最高。qRT-PCR检测ESC外泌体miR-205、miR-542-3p水平与芯片检测倍数差异无统计学意义($P > 0.05$)。PTEN、FBN1、S100A2等与EMs相关的26种基因被预测为差异表达的miRNA靶基因。EMs患者ESC外泌体中存在多种差异表达的miRNA,且靶向多种EMs相关基因。

关键词 子宫内膜异位症;子宫内膜间质细胞;外泌体;微小RNA

中图分类号 R 711.71; R 737.33

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)11-1801-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.11.031

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是子宫内膜细胞生长到子宫腔以外位置^[1],异位组织中子

宫内膜间质细胞(endometrial stromal cells, ESC)围绕、内膜腺体生长,ESC、内膜腺体类似肿瘤特征可向周围器官转移,导致多种并发症产生^[2]。EMs发病率在育龄期妇女中高达10%~15%,且有不断上升的趋势,严重影响女性生活质量和身心健康。微小RNA(microRNA, miRNA)是一段短链非编码RNA,表达异常与肿瘤的发生发展息息相关,已经证明可参与子宫肌瘤^[3]、卵巢癌^[4]、宫腔黏连^[5]等妇科疾病免疫逃逸及微环境形成等过程。为探究miRNA与EMs的关系,该研究对两组外泌体miRNA表达谱进行检测,分析其差异表达,为下一步miRNA靶基因预测信号通路富集分析做铺垫。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2017年1月~2018年12月河北医科大学第四医院确诊为EMs患者为研究对象,40例,年龄24~37(30.58±4.18)岁,病灶分布特点:腹膜型9例,卵巢型21例,深部型10例;根据美国生殖医学协会EMs分期标准,I期6例,II期12例,III期14例,IV期8例;另选取同一时期腹腔镜检查子宫内膜正常宫颈上皮内瘤变(cervical intra-epithelial neoplasia, CIN)Ⅲ子宫手术(其中23例宫颈病变表面破坏术、17例宫颈局部切除术,月经结束3~7d手术)患者为对照组,40例,年龄24~38(30.51±3.69)岁,两组患者年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。EMs诊断标准:腹腔镜手术确诊^[6]。EMs患者纳入标准:①均已确诊为EMs患者;②月经规律的育龄期妇女;③年龄>

2020-05-08 接收

基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划项目(编号:20180506)

作者单位:河北医科大学第四医院¹ 妇产超声科、² 实验动物中心、³ 分子生物室、⁴ 妇科,石家庄 050011

作者简介:王礼贤,女,主治医师,责任作者,E-mail: wanglixian8915@163.com

mononuclear cells (PBMCs) were extracted and RNA was extracted for TCR immunohistochemistry library sequencing, followed by high-throughput sequencing data mining analysis. **Results** After three hormone shocks, there was no significant difference in TCR diversity index, VJ family migration and VJ family frequency among the improved TAO patients. Conversely, the high frequency VJ family showed clonal expansion in worsening TAO patients. TAO remission was linked with the decrease of Th17 cells. **Conclusion** The mechanism of intravenous shock therapy of TAO by methylprednisolone is the reestablishment of immune balance rather than the elimination of autoreactive clonal.

Key words steroid pulse therapy; Graves ophthalmopathy; T cell receptor; high throughput sequencing

20 岁; ④ 本研究患者知情同意, 经医院伦理委员会审查并通过。排除标准: ① 子宫内膜病变接受激素治疗患者; ② 急性全身感染性疾病患者; ③ 怀孕期及哺乳期妇女; ④ 多种药物过敏者; ⑤ 因精神或其他疾病情况无法参加该项研究者。

1.2 试剂与器材 磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline ,PBS) (美国 HyClone 公司); 10% 胎牛血清、DMEM(美国 Gibco 公司); I 型胶原酶(美国 ATCC 公司); 4% 多聚甲醛(北京索莱宝科技有限公司); 3% 双氧水(江山市双氧水有限公司); 醋酸双氧铀(青岛捷世康生物科技有限公司); 波形蛋白单抗、角蛋白单抗(上海碧云天公司); Total Exosome Isolation 试剂盒、RNA 提取试剂盒(美国 Invitrogen 公司); cDNA 反转录试剂盒(美国 Fermentas 公司); 2 × Hi SYBR Green QPCR Mix(北京百奥莱博科技有限公司)。光学显微镜(日本 Olympus 公司); Spectra S/TEM 扫描透射电子显微镜 [赛默飞世尔科技(中国) 有限公司]; Agilent 2200 TapeStation(中国安捷伦科技有限公司); Illumina HiSeqTM 2500 测序仪(南京迪康金诺生物技术有限公司); qRT-PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.3 样本采集 钝器刮取 EMs 患者异位内膜组织、CIN III 患者正常内膜组织, 放入预冷的装有无菌的广口瓶中清洗 3 次, 浸泡在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 立即送回实验室处理。

1.4 ESC 外泌体收集

1.4.1 ESC 原代培养与纯度鉴定 ESC 原代培养参考文献^[7] 中方法并改进进行。眼科剪剪碎上述组织, 加入无血清 DMEM 培养基反复吹打后移至离心管中, 加 400 μl 0.25% I 型胶原酶消化, 组织呈絮状即可终止消化, 消化时间 80 ~ 160 min, 用 400 目过滤, 过滤液放入离心管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入含 12% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 置 37 °C CO₂ 培养箱培养, 每天观察细胞形态, 常规换液培养细胞, 细胞 24 h 开始贴壁, 72 h 细胞贴壁完成。4% 多聚甲醛固定、3% 双氧水封闭细胞, 分别加入波形蛋白单抗、角蛋白单抗孵育; 同时设置阴性对照, 二抗孵育后滴加辣根酶标记的链酶卵白素工作液封片, 光学显微镜观察。培养结果: 研究组收集成功 37 例, 对照组收集成功 36 例。鉴定成功细胞置于新的培养皿中培养, 细胞培养 5 d 拍照。

1.4.2 ESC 外泌体的分离与鉴定 ESC 外泌体分离与鉴定参考文献^[8], Total Exosome Isolation 试剂盒法提取 ESC 外泌体, 具体步骤: 收集 ESC 后 2 000 r/

min 离心 30 min 转移上层清液至新离心管中, 加 1/2 样本量的试剂, 混匀后 4 °C 过夜, 10 000 r/min 离心 1 h 后弃上清, 50 μl PBS 重悬沉淀后至 - 80 °C 保存。醋酸双氧铀负染透射电镜观察外泌体形态并鉴定。

1.5 ESC 外泌体 miRNA 表达谱芯片检测 从 I、II、III、IV 期 EMs 患者外泌体中随机选出 3 期, 再每期中随机选 1 例为代表; 对照组则采用随机数字法抽 3 例进行芯片表达谱实验。Agilent 2200 TapeStation 进行 RNA 建库, Illumina HiSeqTM 2500 测序仪对质检文库进行测序, 分析两组外泌体 miRNA 差异性。

1.6 qRT-PCR 检测 ESC 外泌体 miR-205、miR-542-3p 水平 取 - 80 °C 冰箱两组 ESC 外泌体, RNA 提取试剂盒提取总 RNA, cDNA 反转录试剂盒反转录 cDNA, qRT-PCR 仪对 miR-205、miR-542-3p、U6 扩增。miR-205-F: 5'-CACGTCCCAGGCTCCA-3', miR-205-R: 5'-CGGGCATCGAAACTGCCAAT-3'; miR-542-3p-F: 5'-TGTGACAGATTGATAACT-3', miR-542-3p-R: 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCTGCGGTTTCAGT-3'; U6-F: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3', U6-R: 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。上样体系: cDNA 1 μl (50 ng/μl), F/R (10 μmol/L) 各 0.5 μl, 2 × Hi SYBR Green QPCR Mix 10 μl, ddH₂O 8.0 μl。反应条件: 95 °C、90 s; 95 °C、30 s; 60 °C、55 s; 45 个循环。2^{-ΔΔCt} 法对 miR-205、miR-542-3p 表达水平定量分析。

1.7 统计学处理 利用统计学软件 SPSS 21.0 进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行 t 检验, microTv3.0、Targetscan、PicTar 预测靶基因, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ESC 比较 研究组细胞平铺贴壁生长, 细胞呈长梭形, 边缘清晰, 形状规则。对照组细胞虽平铺贴壁生长, 部分细胞呈长梭形, 亦有细胞呈三角形或多角形, 边缘轮廓不清晰, 形状相对研究组不规则。见图 1。

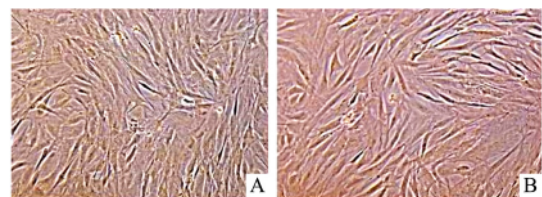


图 1 两组 ESC 培养过程中代表性相衬图像 ×100
A: 研究组; B: 对照组

2.2 两组细胞外泌体鉴定 ESC 外泌体直径在 30 ~ 150 nm 之间,球形,囊泡状结构。两组 ESC 外泌体结构类似。见图 2。

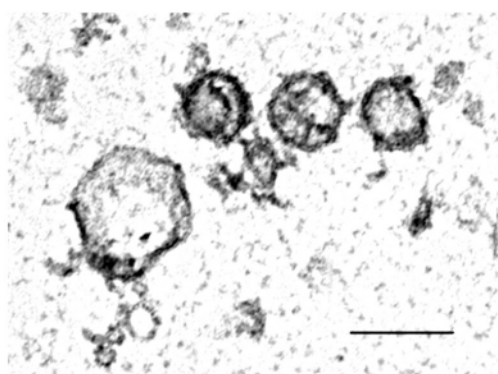


图 2 醋酸双氧铀负染后 ESC 外泌体透射电镜下形态 ×200

2.3 两组 ESC 外泌体差异 miRNA 筛选 研究组与对照组 ESC 外泌体有 39 种 miRNA 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较,研究组上调 miRNA 14 个,下调 25 个,部分差异表达的 miRNA 见表 1。双聚类分析图显示关系相近的 miRNA 聚在一起。见图 3。

表 1 研究组差异表达的 miRNA

表达变化	miRNA 名称(表达差异由高到低)
上调(14个)	miR-205, miR-337-5p, miR-200a, miR-29a, miR-155, miR-138, miR-200b, miR-199, miR-122, miR-1246, miR-146a, miR-146b, miR-139-3p, miR-130a
下调(25个)	miR-542-3p, miR-17-5p, miR-3613-5p, miR-9, miR-141, miR-145, miR-548b-5p, miR-128a, miR-1243, miR-31, miR-489, miR-572, miR-503, miR-424, miR-100, miR-152, miR-499a, miR-499b, miR-34c-5p, miR-455-5p, miR-376c, miR-379, miR-455-3p, miR-22b, miR-22a

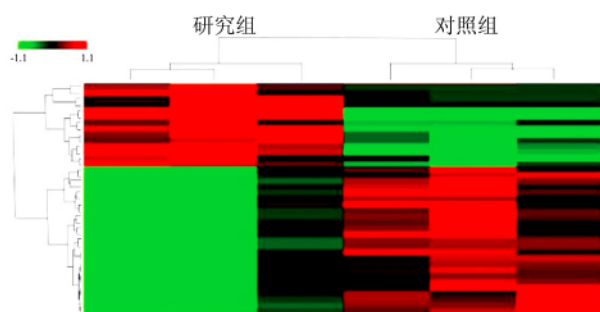


图 3 两组 ESC 外泌体中差异 miRNA 双聚类分析 每一行代表一个差异表达 miRNA,每一列代表一个样本;热图中的红色提示 miRNA 表达上调,绿色提示 miRNA 表达下调

2.4 两组 ESC 外泌体中 qRT-PCR 检测 miR-205、miR-542-3p 表达量 与对照组比较,研究组 ESC 外泌体 miR-205 表达量升高,miR-542-3p 表达量降低

($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 ESC 外泌体 qRT-PCR 检测 miR-205、miR-542-3p 水平

组别	例数	miR-205	miR-542-3p
对照	36	1.00 ± 0.27	1.01 ± 0.26
研究	37	12.85 ± 3.81	0.12 ± 0.02
t 值		18.612	20.763
P 值		<0.001	<0.001

2.5 miRNA 芯片检测与 qRT-PCR 检测 ESC 外泌体差异倍数比较 miRNA 芯片检测与 qRT-PCR 检测 ESC 外泌体差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.6 靶基因预测 microTv3.0、Targetscan、PicTar 3 种靶基因预测网站预测 ESC 外泌体上调倍数最高的 7 个、下调倍数最高的 8 个 miRNA 与 EMs 有关预测的靶基因 2 种或 2 种以上预测网站中出现靶基因。见表 4。

表 3 miRNA 芯片检测与 qRT-PCR 检测 ESC 外泌体比较

检查方法	个数	miR-205	miR-542-3p
芯片检测	3	13.72 ± 2.52	7.35 ± 2.17
qRT-PCR 法	37	12.77 ± 2.85	8.41 ± 2.56
t 值		0.558	0.694
P 值		0.580	0.492

表 4 EMs 中差异靶位点预测

miRNA 名称	与 EMs 有关预测的靶基因
上调	
miR-205	PTEN, FBN1, TBX3, JPH4, P2RY14, CXCL12, MUM1L1
miR-337-5p	USP37, S100A2, LMOD1
miR-200a	PTEN, OGH, MUM1L1V
miR-29a	FBN1, TBX3, FLEKHH2, S100A2
miR-155	EFHA2, S100A2, OGH
miR-138	LMOD1, LDB2
miR-200b	PTEN, FLEKHH2, COL3A1, ATP8A2, TCF8
下调	
miR-542-3p	PTEN, FBN1, ATP8A2, ALDH1A2
miR-17-5p	VEGFA, BCL2, S100A2, E2F3
miR-3613-5p	P2RY14, JPH4, LMOD1, FRA
miR-9	PTEN, CXCL12, ADAMTS5, TBX3, S100A2, JPH4
miR-141	FBN1, PAPP, FRA, LDB2
miR-145	OGH, TBX3, BCL2, S100A2
miR-548b-5p	EDNRB, LMOD1, TBX3, SLC18A2
miR-128a	ATP8A2, S100A2, ALDH1A2

3 讨论

EMs 属良性疾病,但有侵袭、种植、转移等恶性生物学行为,被称为“良性癌症”。临床并发症主要

表现为痛经、慢性盆腔痛、月经紊乱和不孕等^[9]。需长期使用药物治疗,副作用大、效果不理想,且术后复发率高^[10],严重影响患者身心健康。因此寻找早期生物学标志物可提早预防疾病。外泌体是由细胞向细胞外间隙处释放的脂质双分子层小囊泡,内含多种 RNA,其中成熟的 miRNA 含量最高,约占 41.72%^[11]。肿瘤细胞源外泌体 miRNA 参与肿瘤发生、转移、免疫逃逸以及微环境的形成等过程,与肿瘤的发生发展息息相关。

以往研究^[12]中已发现外泌体 miRNA 影响疾病发生进程。外泌体 miR-210 是肾癌的标志物,在肾癌组织中高表达,影响肾癌疾病进程;外泌体 miRNA 在胃癌中可影响胃癌的生长、复发、肿瘤耐受等,且稳定性较好^[13]。有临床研究^[14-15]显示,EMs 患者外泌体中 miR-21 较非 EMs 患者明显增加,对血管生成具有重要作用,与 EMs 发生发展存在一定联系。亦有研究^[16]报道,miR-183 在细胞增殖、凋亡中发挥重要作用,其表达下调可抑制凋亡,增强侵袭能力。本研究以 EMs 患者异位内膜 ESC 外泌体为研究对象、CIN III 患者正常内膜组织 ESC 外泌体为对照组,体外离体培养两组 ESC 发现外观相似,细胞均贴壁生长、呈长梭形,少部分呈星形,提示 ESC 分离成功,电镜下观察两组 ESC 外泌体直径均在 30~150 nm 之间,球形,囊泡状结构,且纯度较高。miRNA 芯片检测人类 847 种 miRNA 发现在两组 ESC 外泌体中 39 种 miRNA 表达有差异;与对照组比较,研究组上调 14 个,下调 25 个,与梁静等^[17]子宫内膜样腺癌组织中 microRNA 差异表达谱部分 miRNA 相同,却不完全一致。本研究中研究组 miR-205 相对表达量升高最多,miR-542-3p 相对表达量降低最多,qRT-PCR 验证 ESC 外泌体 miR-205、miR-542-3p 表达倍数与芯片检测结果类似,提示 miR-205、miR-542-3p 与 EMs 关系密切,提示外泌体可作为非侵入性诊断 EMs 有效生物标志物,其功能与特性为临床靶向治疗提供新方向。

miR-205 表达升高在食管癌中可加快细胞浸润转移、在乳腺癌中可促进淋巴结转移和肿瘤生长^[18]。miR-542-3p 在肿瘤细胞转移过程中发挥抑癌作用,表达量降低可加速结肠癌、星型细胞瘤细胞的增殖、侵袭和转移^[19]。靶基因预测发现 miR-205、miR-200a、miR-200b、miR-542-3p、miR-9 都可调控 PTEN 基因,PTEN 是第一个迄今为止发现有双特异

性磷酸活性的肿瘤抑制基因,在 EMs 中可判断预后^[20];提示这些 miRNA 可能通过调控 PTEN 进而影响肿瘤发生。miR-205、miR-200a、miR-200b 都位于 1 号染色体且表达上调,提示 EMs 患者可能在 1 号染色体上发生基因重组,影响 EMs 表达差异。miR-542-3p、miR-9 在 EMs 中表达下调,与陈观盛等^[21]的研究结果一致,提示可能以原癌基因为靶点,表达下降可促进原癌基因表达,影响 EMs 发生发展进程,但关于 EMs 病因有待进一步探究,故外泌体在 EMs 中的作用机制仍待阐明。

本研究借助芯片数据,挖掘与 EMs 有重要影响的 ESC 外泌体 miRNA,并对其差异 miRNA 分析,初步验证 ESC 外泌体中上调倍数最多的 7 个、下调倍数最多的 8 个与 EMs 有关的靶基因,对 EMs 患者 ESC 外泌体中 miRNA 表达水平有了进一步了解,为分子靶向治疗、探讨相关疾病提供分子理论基础。

参考文献

- [1] Yuan M, Li D, Zhang Z, et al. Endometriosis induces gut microbiota alterations in mice [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(4): 607-16.
- [2] 李艳辉,耿育红,刘琳,等.脂氧素 A4 下调自噬活性对子宫内膜间质细胞侵袭和迁移的影响及其作用机制[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(8): 547-53.
- [3] McWilliams M M, Chennathukuzhi V M. Recent advances in uterine fibroid etiology [J]. *Semin Reprod Med*, 2017, 35(2): 181-9.
- [4] Hu Y, Li D, Wu A, et al. TWEAK-stimulated macrophages inhibit metastasis of epithelial ovarian cancer via exosomal shuttling of microRNA [J]. *Cancer Lett*, 2017, 393(1): 60-7.
- [5] Carreras-Badosa G, Bonmatí A, Ortega F J, et al. Dysregulation of placental miRNA in maternal obesity is associated with pre- and postnatal growth [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(7): 2584-94.
- [6] 陆月梅,卢红,刘娅,等.子宫内膜异位症患者病灶组织和血清 VEGF-A、CA125 表达变化及其意义[J]. *山东医药*, 2017, 57(3): 81-3.
- [7] Ryan I P, Schriock E D, Taylor R N. Isolation, characterization, and comparison of human endometrial and endometriosis cells in vitro [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 78(3): 642-9.
- [8] Li M, Rai A J, Decastro G J, et al. An optimized procedure for exosome isolation and analysis using serum samples: application to cancer biomarker discovery [J]. *Methods*, 2015, 87(1): 26-30.
- [9] Hsiao K Y, Chang N, Tsai J L, et al. Hypoxia-inhibited DUSP2 expression promotes IL-6/STAT3 signaling in endometriosis [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 78(4): 12690-701.
- [10] Soliman A M, Du E X, Yang H, et al. Retreatment rates among

- endometriosis patients undergoing hysterectomy or laparoscopy [J]. *J Womens Health*, 2017, 26(6): 644–54.
- [11] Conigliaro A, Costa V, Lo Dico A, et al. CD90+ liver cancer cells modulate endothelial cell phenotype through the release of exosomes containing H19 lncRNA [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(8): 155–67.
- [12] 王雪刚, 杨剑斌, 陈晨羲, 等. 血清外泌体 miR-210 作为肾透明细胞癌非侵入性诊断生物标志物的研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2017, 38(9): 707–11.
- [13] 孙梦瑶, 蔡思, 王杰, 等. 外泌体 miRNAs 在胃癌中的作用 [J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41(7): 499–502.
- [14] Djana H, Adel D, Sharifeh M, et al. Exosomes derived from endometriotic stromal cells have enhanced angiogenic effects in vitro [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 365(1): 187–96.
- [15] 董潇霄, 于晓辉. 外泌体在子宫内膜异位症发生发展及诊疗中的意义 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2018, 45(3): 45–8.
- [16] Shi X Y, Gu L, Chen J, et al. Downregulation of miR-183 inhibits its apoptosis and enhances the invasive potential of endometrial stromal cells in endometriosis [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 33(1): 59–67.
- [17] 梁静, 张贵宇, 马本红, 等. 子宫内膜样腺癌组织中 microRNA 差异表达谱分析 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2011, 49(8): 90–5.
- [18] 胡蕴慧, 刘蕾, 张瑾. miR-205 与乳腺癌关系的研究进展 [J]. *天津医药*, 2017, 45(10): 1113–7.
- [19] 林希圣, 郑超, 杨柳, 等. miR-542-3p 对骨肉瘤细胞侵袭能力的影响及其靶基因预测 [J]. *骨科*, 2018, 9(1): 50–5.
- [20] 李品莹, 李小毛. PTEN 基因在子宫内膜癌细胞上皮间质转化中的作用 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(7): 1101–6.
- [21] 陈观盛, 赵雅男, 洪顺家, 等. 血清微小 RNA 在子宫内膜异位症中的表达谱及其诊断潜能 [J]. *岭南急诊医学杂志*, 2015, 20(1): 44–7.

Analysis of the difference of miRNA expression profile in endometrial stromal cell-derived exosomes

Wang Lixian¹, Hu Yueyang², Li Yan³, et al

(¹Dept of Gynecology and Obstetrics Ultrasonography, ²Laboratory Animal Center,

³Dept of Molecular Biology, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011)

Abstract To explore the difference of expression profiles of microRNA (miRNA) in the exosomes of endometrial stromal cells (ESC) from different sources. The exosomes were isolated from 40 patients with endometriosis (EMs) (study group) and 40 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III underwent uterine surgery (control group) after ESC primary culture. Chip was used to detect the difference of miRNA expression profile between the two groups. Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the levels of miR-205 and miR-542-3p in ESC exosomes. The target genes related to EMs of miRNA with higher up-regulated and down-regulated multiples were predicted. There were significant differences in the expression of 39 kinds of miRNA in ESC exosomes between the study group and the control group ($P < 0.05$), among them, there were 14 up-regulated miRNA, with the up-regulated multiple of miR-205 was the highest; there were 25 down-regulated miRNA, with the down-regulated multiple of miR-542-3p was the highest. qRT-PCR showed that there was no significant difference between the levels of miR-205 and miR-542-3p in ESC exosomes with the chip detection multiples ($P > 0.05$). 26 genes related to EMs, such as PTEN, FBN1 and S100A2, were predicted to be differentially expressed target genes of miRNA. There are many differentially expressed miRNA in ESC exosomes of EMs, targeting a variety of EMs-related genes.

Key words endometriosis; endometrial stromal cells; exosomes; microRNA