外泌体在肿瘤化疗耐药与转移中作用 研究进展

陈进宝, 邱艳艳, 殷佩浩

(上海中医药大学附属普陀医院, 上海 200062)

摘要:外泌体是一种由绝大多数细胞释放的、具有脂质双分子层和丰富内容物的微囊泡结构。近年来发现外泌体中不仅包含功能性蛋白, 还有功能性核酸物质, 这些蛋白质和核酸等在调节肿瘤微环境、促进细胞间通讯、促进肿瘤耐药与侵袭转移方面起了关键作用, 参与肿瘤进程。全文主要总结了国内外有关外泌体在肿瘤化疗耐药与转移方面的研究进展, 以更好地了解外泌体在促进肿瘤耐药和转移的相关机制。

关键词:外泌体; 肿瘤; 耐药; 转移

中图分类号: R73-37 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)07-0658-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.07.B015

Research Progress on Exosomes in Tumor Chemotherapy Resistance and Tumor Metastasis

CHEN Jin-bao, QIU Yan-yan, YIN Pei-hao

(Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

Abstract: Exosomes are microvesicle of 30~100nm in diameter with a lipid bilayer and abundant contents that are released by most of cells. In recent years, it has been found that exosomes contain not only functional proteins, but also functional nucleic acids. These proteins and nucleic acids play a key role in regulating tumor microenvironment, promoting cell communication, participating in drug resistance, tumor invasion and metastasis, and therefore are involved in tumor progression. This article summarizes the research progress of roles of exosomes in tumor chemotherapy resistance and metastasis, as well as the relevant mechanisms.

Subject words: exosomes; tumor; drug resistances; metastasis

外泌体是由细胞内多囊泡体与胞膜融合后向胞外分泌的直径约 30~150nm 囊泡样小体, 可由多种正常细胞和肿瘤细胞释放。外泌体最早发现于体外培养的绵羊网织红细胞主动分泌的上清液中。外泌体中包含多种蛋白质、脂质、核酸(DNA、lncRNA、mirRNAs、mrRNAs、cirRNA), 可参与细胞间通讯、细胞迁移、血管新生和肿瘤细胞生长等重要的生理病理过程。

肿瘤发病率和死亡率呈逐年上升趋势, 严重损

害人类健康^[1]。在肿瘤治疗过程中, 肿瘤细胞产生的耐药性与转移是肿瘤治疗中的难题, 也是造成肿瘤患者死亡的主要因素。近年来, 越来越多的研究表明, 肿瘤微环境中的外泌体在肿瘤细胞的化疗耐药和转移中发挥着重要作用^[2]。随着对外泌体功能研究的深入, 在肿瘤来源的外泌体中发现了一系列蛋白质和核酸等成分, 这些成分在肿瘤耐药与转移的过程中起到了关键作用。同时, 这一发现也为开发肿瘤诊断与治疗的新方法提供了重要的理论基础。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873137); 国家自然科学基金青年科学基金项目(81603464); 上海市科委 2016 年度医学引导类(中、西医)科技支撑项目(16411972600)

通信作者: 殷佩浩, 主任医师, 研究生导师, 博士; 上海中医药大学附属普陀医院普外科, 上海市普陀区兰溪路 164 号(200333), E-mail: yinpeihao1975@hotmail.com

收稿日期: 2018-11-30; **修回日期:** 2019-02-13

1 外泌体与肿瘤化疗耐药

肿瘤细胞对化疗药物产生耐药常常导致化疗失败。肿瘤细胞耐药性分为内在性和获得性两大类。近

些年来,已有大量研究表明外泌体在肿瘤细胞耐药方面扮演着重要的角色。在肿瘤化疗耐药方面,发现以外泌体作为媒介可以使肿瘤细胞产生耐药性,其作用机制主要体现在耐药细胞与敏感细胞之间以及基质细胞与肿瘤细胞之间的信号传递。

1.1 耐药细胞与敏感细胞之间信号传递

由于肿瘤的异质性特点,在同一瘤体内的不同肿瘤细胞对化疗药物的敏感性不一致,依据化疗敏感性可将肿瘤细胞分为耐药细胞和敏感细胞。研究表明,这种存在于肿瘤细胞之间对化疗药物敏感性的不一致性,可以在细胞之间相互传递,从而使敏感细胞获得耐药性。外泌体内存在大量的非编码 RNA 和蛋白等物质,在这种耐药性的传递中起着重要作用。在肺癌研究中,顺铂耐药性肺癌细胞来源的外泌体以外泌体 miR-100-5p 依赖性方式增加其他肺癌细胞对顺铂的耐药性,细胞中 miR-100-5p 较低表达可导致 mTOR 较高表达,并因此导致癌细胞对顺铂的耐药性,体内研究发现外泌体中 miR-100-5p 表达影响肿瘤细胞中 miR-100-5p 表达,进而影响受体细胞中 mTOR 表达,从而调节肺癌细胞对顺铂的敏感性^[3]。Fu X 等^[4]研究表明多药耐药细胞通过外泌体将 miR-32-5p 递送至敏感细胞并且通过调节血管生成和上皮间质转化(EMT)来激活胞内磷脂酰肌醇激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)途径在肝癌中进一步诱导多药耐药。另外有相关研究^[5]发现来自阿霉素抗性乳腺癌细胞的外泌体通过递送 miR-222 传递抗药性,与乳腺癌的敏感株相比,耐药株中 miR-222 的表达水平显著性升高,来自阿霉素的乳腺癌细胞的外泌体可通过递送 miR-222 传递耐药性,从而介导敏感株 MCF-7 产生耐药。另外有相关研究表明^[6],在乳腺癌细胞的研究中发现耐药性乳腺癌细胞可能通过释放外泌体来传递耐药能力给敏感细胞,这些外泌体在结合、吸收和内化后,可以通过调节细胞周期分布和药物诱导的细胞凋亡来改变受体敏感细胞的化疗敏感性,并且这种作用可部分归因于特定 miRNA 的细胞间转移。Zhang 等^[7]研究表明外泌体在结肠癌细胞中通过人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)/Akt 途径促进西妥昔单抗耐药,其具体机制为来自西妥昔单抗耐药细胞的外泌体可通过下调 PTEN 和增加磷酸化的 Akt 水平在西妥昔单抗敏感的细胞中诱导西妥昔单抗耐药。另外有研究发现

衍生自吉西他滨抗性细胞的外泌体通过内吞作用向受体细胞递送高水平 miR-222-3p,这些富含 miR-222-3p 的外泌体通过激活细胞因子信号传导抑制蛋白 3(SOCS3)/信号传导及转录激活因子(STAT3)信号传导途径在受体敏感细胞中诱导吉西他滨耐药等恶性表型^[8]。

此外,肿瘤来源的外泌体在敏感细胞与耐药细胞之间还可通过转运相关蛋白与 lncRNA 进而参与耐药。Kuan 等在对乳腺癌的研究中发现含有 UCH-L1(泛素羧基末端水解酶的一员)的外泌体可将化疗耐药性从耐药性细胞转移至敏感性细胞中,UCH-L1 通过丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号通路上调 P-糖蛋白(P-gp)的表达水平增强乳腺癌多药耐药^[9]。Takahashi 等^[10]在肝癌化疗耐药中研究发现,lncRNA 在调节转化生长因子 β (TGF- β) 依赖的化疗耐药中发挥着重要作用,TGF- β 降低了肝癌细胞对索拉非尼的敏感性,使 lncRNA-ROR 在肿瘤细胞及其分泌的外泌体中高表达,当这些高表达 lncRNA-ROR 的外泌体与受体细胞共培养后,发现化疗药物对受体细胞的杀伤作用减弱。Qu 等^[11]研究发现具有舒尼替尼抗性的肾癌中激活的外泌体传递的 lncRNA(lncARSR)可以赋予对敏感癌细胞的抗性,作为 miR-34 和 miR-449 的竞争性内源 RNA,通过促进受体酪氨酸激酶(AXL)和 c-MET 的表达来增加肾癌细胞耐药性。

1.2 基质细胞与肿瘤细胞之间信号传递

除了肿瘤细胞自身分泌的外泌体可以改变细胞的耐药性外,在肿瘤细胞生长所处的微环境中,一些基质细胞来源的外泌体也可以使肿瘤细胞发生耐药。Zheng 等^[12]研究发现外泌体通过 M2 型巨噬细胞来源的 miR-21 赋予胃癌细胞的顺铂耐药性,通过 M2 型巨噬细胞来源的外泌体将功能性 miR-21 从巨噬细胞转移至胃癌细胞,而外泌体所含 miR-21 通过下调 PTEN 基因导致 PI3K/Akt 信号通路激活来增强胃癌细胞的抗凋亡能力,从而降低胃癌细胞的化疗敏感性和凋亡。Ji 等^[13]研究表明间充质干细胞(MSCs)来源的外泌体在体内和体外均诱导胃癌细胞对氟尿嘧啶的抗性,MSC 来源的外泌体拮抗氟尿嘧啶诱导的细胞凋亡并增强多药耐药相关蛋白质的表达,包括 MDR、MRP 和 LRP,激活 CaMKs/Raf/MEK/ERK 通路来诱导胃癌细胞产生耐药性。此外

也有相关研究表明骨髓基质细胞分泌的外泌体诱导骨髓瘤细胞产生硼替佐米抵抗,从而促进骨髓瘤细胞的生长^[14]。另外 Hu 等^[15]研究表明成纤维细胞释放的外泌体可通过活化肿瘤干细胞促进小鼠结肠癌移植瘤对化疗药氟尿嘧啶或奥沙利铂的抗性。Boelens 等^[16]研究发现基质细胞与乳腺癌细胞的相互作用会导致旁分泌和近旁信号激活,从而驱动基质细胞介导的耐药。同时,来源于基质细胞的外泌体的 RNA 在乳腺癌细胞中可以激活抗病毒信号和诱导 NOTCH3 通路激活,从而产生具有耐药性肿瘤细胞。

2 外泌体与肿瘤侵袭转移

近年来,随着对外泌体功能研究的深入,在肿瘤来源的外泌体中发现了一系列蛋白和 RNA 等,这些成分在促进肿瘤侵袭转移过程中起到了关键作用。

2.1 外泌体蛋白质促进肿瘤转移

外泌体可以携带蛋白质至细胞外环境,影响细胞信号通路和肿瘤微环境,对肿瘤的生长和转移都有一定的作用。Chen 等^[17]研究表明肿瘤微环境中的成纤维细胞外泌体将 Wnt 蛋白转运至癌症上皮细胞,进而可能激活 Wnt 信号传导和参与癌症进展,发现基质成纤维细胞中异常低表达的 p85 α 通过外泌体介导的旁分泌 Wnt10b 促进乳腺癌细胞转移。此外来自突变型 KRAS 结肠癌细胞的外泌体蛋白质组学分析方法表明,来自突变型 KRAS 基因的结肠癌细胞中分离的外泌体相对于从野生型 KRAS 表达细胞中纯化的外泌体增强了受体细胞的侵袭转移,其外泌体中携带有 KRAS、EGFR、SRC 家族激酶和整联蛋白等促肿瘤生长的蛋白质,进而可增加受体细胞的侵袭力,使得肿瘤细胞的转移能力增强^[18]。此外,Zheng 等^[19]研究表明肿瘤相关巨噬细胞来源的外泌体通过功能性载脂蛋白 E(ApoE)促进胃癌细胞迁移,其外泌体在受体胃癌细胞中可介导 ApoE 在细胞间转移进而活化 PI3K-Akt 信号传导途径,以重塑支持细胞骨架的迁移。另外有相关研究表明外泌体携带的 TGF- β 1 与胃癌的淋巴结转移相关^[20]。Wang 等^[21]研究表明肺癌细胞衍生的外泌体通过 TGF- β 和 IL-10 调节癌细胞迁移,这可能为开发针对癌症的治疗方法提供新方法。

2.2 外泌体非编码 RNA 促进肿瘤转移

研究表明外泌体中含有丰富的核酸物质,包括 mRNA、非编码 RNA 等。研究较多的是非编码 RNA,主要包括 miRNA 和 lncRNA。众多研究表明外泌体中非编码 RNA 在肿瘤转移过程中扮演着重要的作用。Gong 等^[22]研究发现来自转移性骨肉瘤的外泌体 miR-675 通过靶向 CALN1 促进细胞迁移和侵袭,肿瘤来源的外泌体可以作为在转移性癌细胞和基质细胞之间递送 miRNA 信使,从而重塑骨肉瘤中的肿瘤微环境。此外也有相关研究表明循环外泌体 miRNA-203 与结直肠癌转移相关,可能是通过诱导肿瘤相关巨噬细胞进而促进转移形成^[23]。Gao 等^[24]研究表明外泌体 lncRNA 91H 通过修饰异质性胞核糖核蛋白(HNRNP)表达增强结直肠癌(CRC)转移,可能是 CRC 复发或转移的早期基于血浆的生物标志物。此外,人结肠癌细胞分泌的含有 miR-210 的外泌体影响细胞间粘附,其被认为是上皮间质转化的促进信号,可以保持局部癌症生长允许环境,并且将转移细胞引导至游离的新的传播位点^[25]。此外,有研究表明肝癌细胞分泌的外泌体 miRNA-103 通过靶向连接蛋白增加血管通透性并促进转移,突出了肝癌细胞分泌的 miR-103 作为肝癌转移的潜在治疗靶点和预测标志物^[26]。Fang 等^[27]研究表明肝癌细胞来源的外泌体 miR-1247-3p 通过降低 B4GALT3 将成纤维细胞转化为癌相关成纤维细胞,从而激活肝癌肺转移前生态位中的 β 1-整合素-NF- κ B 信号通路,进而促进肝癌肺转移。Ding 等^[28]研究发现胰腺癌细胞衍生的外泌体通过 miR-212-3p 抑制调节因子 X 相关蛋白(RFXAP)和 MHC II 表达,这可能是胰腺癌侵袭和转移的新机制。研究表明 MiR-423-5p 富集的外泌体可以将 miR-423-5p 转运至胃癌细胞,并被其内化,从而增强体外和体内的细胞增殖和迁移,其作用机制为 miR-423-5p 抑制融合蛋白抑制因子(SUFU)的表达,以增强胃癌细胞的增殖和迁移^[29]。

2.3 外泌体诱导转移前微环境形成

肿瘤在尚未发生转移之前,首先诱导远处待转移器官中微环境发生适应性的改变,以营造一个适宜转移的肿瘤细胞在此处定植、生长,并形成继发转移灶的环境,这个支持性微环境称为“转移前微环境”^[30]。Zhou 等^[31]研究表明,高转移性的乳腺癌细胞来源的外泌体富含 miRNA-105,这些外泌体被肝脏

微血管内皮细胞摄取后,内皮细胞的紧密连接蛋白ZO-1表达显著性下调,可有效地破坏紧密的连接和对抗转移的天然屏障完整性,导致血管通透性增加,有助于肿瘤细胞向肺脏的定植。Yu等^[32]在胰腺癌小鼠模型的研究中发现胰腺癌细胞来源的外泌体诱导肝脏转移前的生态位形成并促进原发肿瘤生长和肝转移。此外Costa-Silva等^[33]研究发现胰腺癌细胞可释放富含巨噬细胞迁移抑制因子的外泌体,这些外泌体循环至肝脏后被库普弗细胞摄取后进而促进TGFβD的分泌和纤连蛋白的上调,最终促进肿瘤细胞在肝脏定植,从而增加了转移形成的可能性。

3 结语与展望

肿瘤耐药与转移是一个多因素、多步骤的过程,既受到肿瘤自身的影响,也受到肿瘤微环境的影响。在肿瘤微环境这一复杂系统中,外泌体作为肿瘤发生和发展的重要媒介而得到较广泛的研究,外泌体通过在细胞间转运一系列蛋白质和RNA组分,在促进肿瘤的耐药和转移中发挥了重要的作用,但其中很多通路及机制仍不明确。因此,进一步理解外泌体在肿瘤耐药与侵袭转移中发挥的作用及机制,有助于对肿瘤生物学多样性进一步了解,从而为进一步研究如何有针对性地防治肿瘤耐药和转移提供理论依据。

此外,鉴于外泌体在肿瘤微环境中的信息传递作用,外泌体也可成为药物靶向运输的载体,针对外泌体的肿瘤靶向治疗方法可能成为治疗肿瘤的新选择,外泌体研究的深入丰富了我们对肿瘤细胞间以及肿瘤细胞与微环境中其他细胞间的相互作用及其内在机制的理解,为研究肿瘤诊断和治疗新方法提供了理论基础。

参考文献:

[1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al.Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
 [2] Zhang C,Ji Q,Yang Y,et al. Exosome: function and role in cancer metastasis and drug resistance [J]. Technol in Cancer Res Treat,2018,17:1533033818763450.
 [3] Qin X,Yu S,Zhou L,et al.Cisplatin-resistant lung cancer cell-derived exosomes increase cisplatin resistance of re-

ipient cells in exosomal miR-100-5p-dependent manner [J]. Int J Nanomedicine,2017,12:3721-3733.
 [4] Fu X,Liu M,Qu S,et al. Exosomal microRNA-32-5p induces multidrug resistance in hepatocellular carcinoma via the PI3K/Akt pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res,2018,37(1):52.
 [5] Yu DD,Wu Y,Zhang XH,et al. Exosomes from adriamycin-resistant breast cancer cells transmit drug resistance partly by delivering miR-222[J]. Tumour Biol,2016,37(3):3227-3235.
 [6] Chen W,Liu X,Lv M,et al. Exosomes from drug-resistant breast cancer cells transmit chemoresistance by a horizontal transfer of microRNAs[J]. PLoS One,2014,9(4):e95240.
 [7] Zhang S,Zhang Y,Qu J,et al. Exosomes promote cetuximab resistance via the PTEN/Akt pathway in colon cancer cells[J]. Braz J Med Biol Res,2018,51(1):e6472.
 [8] Wei F,Ma C,Zhou T,et al. Exosomes derived from gemcitabine-resistant cells transfer malignant phenotypic traits via delivery of miRNA222-3p[J]. Molecular Cancer,2017,16(1):132.
 [9] Ning K,Wang T,Sun X,et al.UCH-L1-containing exosomes mediate chemotherapeutic resistance transfer in breast cancer[J]. J Surg Oncol,2017,115(8):932-940.
 [10] Takahashi K,Yan IK,Kogure T,et al. Extracellular vesicle-mediated transfer of long non-coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer[J]. Febs Open Bio,2014,4(1):458-467.
 [11] Qu L,Ding J,Chen C,et al. Exosome-transmitted lncARSR promotes sunitinib resistance in renal cancer by acting as a competing endogenous RNA[J]. Cancer Cell,2016,29(5):653-668.
 [12] Zheng P,Chen L,Yuan X,et al. Exosomal transfer of tumor-associated macrophage-derived miR-21 confers cisplatin resistance in gastric cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res,2017,36(1):53.
 [13] Ji R,Zhang B,Zhang X,et al. Exosomes derived from human mesenchymal stem cells confer drug resistance in gastric cancer[J]. Cell Cycle,2015,14(15):2473-2483.
 [14] Wang J,Hendrix A,Hernot S,et al. Bone marrow stromal cell-derived exosomes as communicators in drug resistance in multiple myeloma cells[J]. Blood,2014,124(4):555-566.
 [15] Hu Y,Yan C,Mu L,et al. Fibroblast-derived exosomes contribute to chemoresistance through priming cancer stem cells in colorectal cancer[J]. PLoS One,2015,10(5):e0125625.
 [16] Boelens MC,Wu TJ,Nabet BY,et al. Exosome transfer

- from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways[J]. *Cell*, 2014, 159(3):499–513.
- [17] Chen Y, Zeng C, Zhan Y, et al. Aberrant low expression of p85 α in stromal fibroblasts promotes breast cancer cell metastasis through exosome-mediated paracrine Wnt10b [J]. *Oncogene*, 2017, 36(33):4692–4705.
- [18] Demory Beckler M, Higginbotham JN, Franklin JL, et al. Proteomic analysis of exosomes from mutant KRAS colon cancer cells identifies intercellular transfer of mutant KRAS[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(2):343–355.
- [19] Zheng P, Luo Q, Wang W, et al. Tumor-associated-macrophages-derived exosomes promote the migration of gastric cancer cells by transfer of functional apolipoprotein E[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(4):434.
- [20] Yen E, Miaw S, Yu J, et al. Exosomal TGF- β 1 is correlated with lymphatic metastasis of gastric cancers[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7 (11):2199–2208.
- [21] Wang Y, Yi J, Chen X, et al. The regulation of cancer cell migration by lung cancer cell-derived exosomes through TGF- β and IL-10[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2):1527–1530.
- [22] Gong L, Bao Q, Hu C, et al. Exosomal miR-675 from metastatic osteosarcoma promotes cell migration and invasion by targeting CALN1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(2):170–176.
- [23] Yuki Takano, Takaaki Masuda, Hisae Inuma, et al. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (45):78598–78613.
- [24] Gao T, Liu X, He B, et al. Exosomal lncRNA 91H is associated with poor development in colorectal cancer by modifying HNRNPK expression[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18:11.
- [25] Elisabetta Bigagli, Cristina Luceri, Daniele Guasti, et al. Exosomes secreted from human colon cancer cells influence the adhesion of neighboring metastatic cells; role of microRNA-210 [J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2016, 17 (10):1062–1069.
- [26] Fang J, Zhang Z, Shang L, et al. Hepatoma cell-secreted exosomal microRNA-103 increases vascular permeability and promotes metastasis by targeting junction proteins[J]. *Hepatology*, 2018, 68(4):1459–1475.
- [27] Fang T, Lv H, Lv G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):191.
- [28] Ding G, Zhou L, Qian Y, et al. Pancreatic cancer-derived exosomes transfer miRNAs to dendritic cells and inhibit RFXAP expression via miR-212-3p[J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (30):29877–29888.
- [29] Yang H, Fu H, Wang B, et al. Exosomal miR-423-5 targets SUFU to promote cancer growth and metastasis and serves a novel marker for gastric cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(9):1223–1236.
- [30] Liu Y, Cao X. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(5):668–681.
- [31] Zhou W, Fong MY, Min Y, et al. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(4):501–515.
- [32] Yu Z, Zhao S, Ren L, et al. Pancreatic cancer-derived exosomes promote tumor metastasis and liver pre-metastatic niche formation[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38):63461–63483.
- [33] Costa-Silva B, Aiello NM, Ocean AJ, et al. Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver[J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(6):816–826.