

外泌体 miRNAs 在结直肠癌中的研究进展

舒密

(湖南医药学院第一附属医院消化内科,湖南 怀化 418000)

摘要:外泌体是具有双膜结构的直径为 30~150 nm 微小膜(囊)泡,其内包裹着大量的蛋白质、核酸、miRNAs、mRNA 等物质。广泛存在于血清、脑脊液和乳汁等人体体液中,参与细胞间的信号传递和物质交换等过程。目前外泌体 miRNAs 在结直肠癌中作用的研究是近年来的研究热点。由于外泌体所包裹的 miRNAs 具有特异性和稳定性,在正常和病变部分具有不同的表达趋势,且在人体内广泛稳定存在,使得获取和检测便捷,故其有望成为结直肠癌诊治的新型无创的生物标志物。本文对血清外泌体 miRNAs 与结直肠癌的关系做一综述。

关键词:外泌体;miRNAs;肿瘤;结直肠癌

中图分类号:R735.7;Q522

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.15.004

文章编号:1006-1959(2021)15-0015-04

Research Progress of Exosomal miRNAs in Colorectal Cancer

SHU Mi

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, Hunan, China)

Abstract:Exosomes are tiny membrane (vesicles) with a diameter of 30-150 nm with a double-membrane structure, which are packed with a large number of proteins, nucleic acids, miRNAs, mRNA and other substances. It is widely present in human body fluids such as serum, cerebrospinal fluid and breast milk, and participates in the signal transmission and material exchange processes between cells. At present, the research on the role of exosomal miRNAs in colorectal cancer has been a research hotspot in recent years. Because the miRNAs encapsulated by exosomes have specificity and stability, they have different expression trends in normal and diseased parts, and they are widely and stably present in the human body, making it easy to obtain and detect. Therefore, it is expected to become a new non-invasive biomarker for the diagnosis and treatment of colorectal cancer. This article reviews the relationship between serum exosomal miRNAs and colorectal cancer.

Key words:Exosomes;miRNAs;Tumors;Colorectal cancer

随着生活水平及饮食结构的不断提高,结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生率、死亡率在不断提高。我国 2017 年的《中国大肠癌流行病学及预防和筛查白皮书》显示, CRC 在恶性肿瘤中的发病率排名第 3,死亡率排名第 5^[1]。诊断和治疗结直肠癌的技术方法呈现多元化,但由于 CRC 的早期症状不典型,多数确诊为癌时已处于中晚期,极大程度降低了患者的生存几率和生活质量,虽在诊断和治疗 CRC 等方面已取得了进展,但 CRC 尤其是出现转移和复发的 CRC 患者的 5 年总生存率仍较低,因此,早发现、早诊断、早治疗对于改善患者的预后尤为重要^[2],从分子学角度研究结直肠癌的发生发展过程,探索出能够早期诊断和治疗结直肠癌的方法是近几年关注的焦点。外泌体(Exosomes)能将内含的脂质、mRNA 和 microRNAs (miRNAs)等特异生物活性分子运送至相应的靶细胞,进而介导细胞间物质转导和信息交流。其中,血清外泌体的 miRNAs 富集存在并稳定性强,外泌体中的 miRNAs 异常表达与肿瘤的发生、侵袭、转移及预后极大相关,被认为是一种具有重要价值的新的诊断标志物,可用于肿瘤的 diagnosis 和治疗^[3,4]。

因其在体内具有广泛性以及研究对象的获取便捷,目前已作为一种新型的研究热点,以期成为诊治各种疾病潜在的高效途径。因此,本文就血清外泌体中的 miRNAs 与结直肠癌的相关性的最新研究进展做一简要综述。

1 外泌体和 miRNAs 的生物学特征和功能

1.1 外泌体的生物学特征和功能 来源于细胞内体的外泌体,最初被发现时研究者认为其为一种细胞的废弃物。但近几年,研究者发现在这些微小膜泡中含有很多细胞特异性的蛋白、核酸和脂质、miRNAs、mRNA、糖类等物质,这些物质可作为信号分子把信息传递至其他细胞,参与细胞间信号的传导和物质交换过程,进而改变或影响其他细胞的生物学功能^[5]。其中最值得注意的是,外泌体可通过受体细胞的内化作用把生物活性分子传递至受体细胞,从而参与细胞间信号传导过程^[6-8],进一步调节机体的免疫应答、细胞分化、肿瘤的发生发展、增殖、侵袭、迁移等生物学过程,并与肿瘤的微环境形成有关^[9-11]。不同细胞中分泌的外泌体的组成成分和功能具有特异性,且具有脂质双层膜结构,可使被其包裹的物质稳定存在,且能靶向特定细胞或组织,因此,其可能成为一种高效的靶向给药途径。

1.2 miRNAs 的生物学特征和功能 miRNAs 是一种

基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(编号:19JC1326)

作者简介:舒密(1991.1-),女,湖南邵阳人,硕士,住院医师,主要从事结直肠癌的早期诊治研究

长度为21~25个核苷酸组成的内源的单链的非蛋白编码的RNA,其可通过与靶区的mRNA的3'UTR进行互补并结合,然后在转录后水平上调调控基因的表达,从而抑制mRNA的翻译过程或其可与RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)进行结合从而促使RNA的降解,也可抑制翻译的过程导致某些基因沉默,影响蛋白质表达和功能^[12-15]。

2 miRNAs介导肿瘤的发生和进展过程

研究显示,miRNAs的失调与肿瘤的发生发展密切相关,其在各种体液中稳定存在,可作为致癌基因或抑癌基因在肿瘤中起作用。膀胱癌中miR-223-5p表达下调,通过直接调控其靶基因ANLN的表达,起着抑癌基因的作用,抑制肿瘤的生长、增殖等过程^[16],使之成为了膀胱癌发生发展过程中的重要介质。miR-148a在宫颈癌中表达显著上调,而miR-143在宫颈癌中表达显著下调^[17]。因此,这些特异性的miRNAs可能是诊断某些肿瘤的特异性生物指标。

肿瘤细胞的不断增殖、迁移、侵袭是肿瘤复发和转移的关键部分,而肿瘤细胞的远处转移又是造成肿瘤患者预后不良和死亡的重要原因。研究显示,miR-223-3p在乳腺癌中表达下调,其通过靶向并抑制ECT2的表达,可抑制乳腺癌细胞的侵袭和迁移和复发,并促进细胞凋亡,miR-223-3p在乳腺癌中起保护作用,进一步通过CCK8实验证实miR-223-3p的过表达或ECT2表达的抑制可抑制乳腺癌细胞活力的增强并促进细胞凋亡,并通过Scratch和transwell实验证实miR-223-3p的过表达和ECT2基因表达的抑制可抑制细胞迁移和侵袭^[18],以上研究结果为乳腺癌的分子靶向治疗研究提供了理论基础和新途径,说明了miRNAs可通过影响肿瘤生长的微环境,继而介导肿瘤的发生发展的过程。

3 外泌体源性的miRNAs参与调控肿瘤发生发展的机制

由于外泌体miRNAs以稳定形式存在,因此其如何介导肿瘤的发生发展过程的研究是近几年从分子生物学角度探索肿瘤发病机制的重要方面。浸润性乳腺癌患者血清外泌体中miR-223-3p的表达明显升高,通过分析miR-223-3p的表达水平与乳腺癌患者的临床病理的特征关系,结果显示其表达水平与肿瘤患者的组织学类型,pT分期,pN分期,病理分期呈显著相关,故可能外泌体源性的miR-223-3p为乳腺癌患者的特异性指标^[19]。外

泌体中hsa-miR199a-3p的表达在神经母细胞瘤中的表达增加,且与患者的严重程度相关,体内体外实验显示hsa-miR199a-3p作为促癌基因通过调控NEDD4表达促进肿瘤增殖和迁移,且可导致预后不良,初步探索出了神经母细胞瘤发生和发展的新分子机制,同时表明外泌体hsa-miR199a-3p可作为一种快速、简便且无创的检测生物标志物,也为探索神经母细胞瘤治疗提供新策略^[20]。肝细胞癌外泌体中miR-451a是下调的,外泌体中miR-451a可诱导肝细胞癌细胞和内皮细胞凋亡而起肿瘤抑制作用,同时,体内体外实验研究均显示miR-451a可抑制肝细胞癌细胞生长和肿瘤血管的生成,miR-451a功能障碍与肝细胞癌相关的内皮细胞的形成和血管通透性有关,此外miR-451a还可通过抑制与细胞内信号传导途径相关的靶基因发挥功能,进一步研究显示miR-451a的功能与体内脂质代谢因子LPIN1有关,起肿瘤抑制剂的作用,这可能证实miR-451a是肝细胞癌诊断和基因治疗的潜在靶标,为肝细胞癌的机制研究提供新的思路^[21]。此外还有研究显示血清外泌体中miR-224在肝癌细胞中表达上调,通过直接调控其靶基因GNMT促进肝癌细胞的发生发展过程,进一步观察外泌体源性的miR-224与患者的临床特征的关系,结果显示外泌体miR-224的表达水平与肿瘤的大小和分期呈正相关,这可用作肝细胞癌诊治的生物标志物和判断患者预后的生物因子^[22]。以上研究结果进一步证明了外泌体miRNAs介导肿瘤发生发展过程。

4 外泌体源性的miRNAs介导结直肠癌进展的调控机制

4.1 介导发生发展过程 外泌体源性的miRNAs是携带遗传信息的,且不同肿瘤细胞分泌的外泌体携带的遗传信息是不同的。Karimi N等^[23]检测了25例CRC患者和13例与之年龄、性别相匹配的无CRC的正常人的血清外泌体miRNAs的表达情况,结果显示与正常对照组相比,结直肠癌患者的血清外泌体中miR-301a和miR-23a高表达,这为进一步研究miR-301a和miR-23a在CRC形成中的作用提供了基础以及将它们作为CRC早期检测的潜在非侵入性生物学指标提供了证据。Hu HY等^[24]研究显示,与健康组相比,血清外泌体中的miR-1229在原发性CRC患者的血清外泌体中显著升高,但肿瘤术后其表达水平下调,进一步分析血清外泌体中的miR-1229与CRC患者临床病理特征的关系,结果显示高表达的外泌体源性的

miR-1229 与 CRC 患者的肿瘤大小, 淋巴转移和 TMN 分期显著相关, 通过 Kaplan-Meier 分析显示高表达的 miR-1229 患者的总体生存率较差; 通过生物信息数据库和荧光素酶报告基因分析结果显示外泌体源性的 miR-1229 通过抑制其靶基因 HIPK2 蛋白的表达进而激活 VEGFA, VEGFR1 和 p-AKT 途径从而促进人脐静脉内皮细胞的血管生成, 最终影响肿瘤的发生发展过程, 这提示外泌体源性的 miR-1229 可能是 CRC 潜在的新型生物标志物和治疗靶点。Zhao YJ 等^[25] 研究显示, 与健康对照组相比, CRC 患者的血清外泌体中的 miR-99b-5p 和 miR-150-5p 显著下调, 通过比较术前和术后患者的 miR-99b-5p 和 miR-150-5p 表达水平, 结果显示术后 miR-99b-5p 和 miR-150-5p 的表达水平显著增加, 这被认为是 CRC 诊断潜在的临床诊断生物标志物。因此, 分析肿瘤患者血清中外泌体源性的 miRNAs 介导结直肠癌发生发展过程, 这可能为结直肠癌的早期诊断提供生物学指标。

4.2 介导增殖、转移过程 外泌体 miRNAs 介导结直肠癌的增殖、入侵、转移等过程是目前关于结直肠癌进展机制的研究关注点。有研究者发现血清外泌体 miR-548c-5p 在 CRC 中的表达水平较健康对照组中的表达水平明显下调^[26], 随后该团队又研究发现血清外泌体 miR-548c-5p 可抑制癌细胞的增殖, 其表达水平的降低在晚期和出现转移的患者中趋势更明显^[27]。此外, 有研究显示^[28], 血清外泌体中 miRNAs 的表达水平与 CRC 患者的肿瘤临床进展程度相关, 与健康对照相比, CRC 患者的血清外泌体中 miR-6803-5p 显著增加, 且其表达水平与患者的分期、淋巴结转移、肝转移呈正相关。CRC 患者的血清外泌体中 miR-6869-5p 表达下调, 它通过 miR-6869-5p-TLR4-NF- κ B 信号轴对细胞增殖具有抑制作用, 并促进细胞凋亡, 可作为 CRC 中的肿瘤抑制因子发挥肿瘤抑制作用^[29]。

4.3 介导治疗、预后过程 外泌体源性的 miRNAs 在临床上的应用研究已经涉及了对结直肠癌的治疗和预后方面。有研究已证实外泌体源性的 miRNAs 对结直肠癌患者药物治疗具有一定的影响力。Gu YY 等^[30] 研究显示 miR-19b 通过调控 TIA1 基因促进结直肠癌中的细胞增殖和迁移, 进一步通过在 sw480 细胞中过度或敲低 miR-19b 的表达, 观察奥沙利铂敏感性, 结果显示与对照组相比, miR-19b 模拟物抑制了奥沙利铂敏感性, 而 miR-19b 抑制剂则促进了奥沙利铂敏感性, 说明

外泌体源性的 miR-19b 可抑制 sw480 细胞对奥沙利铂的敏感性, 这为研究结直肠癌药物治疗耐药性的研究提供新机制。外泌体源性的 miRNAs 的表达水平与结直肠癌患者预后存在极大关系, Zou SL 等^[31] 研究显示结直肠癌患者血清外泌体源性的 miR-150-5p 水平显著降低, 术后其表达水平明显上调, 通过分析 miR-150-5p 与临床病理特征的关系显示血清外泌体 miR-150-5p 的低表达与肿瘤分化差, 出现淋巴结转移和晚期 TNM 分期密切相关, 且血清外泌体 miR-150-5p 对于结直肠癌的特异性、诊断的准确性均优于 CEA, 与高表达的 miR-150-5p 相比, 低表达的 miR-150-5p 患者的总生存期和无病生存期明显更差, 血清外泌体 miR-150-5p 作为结直肠癌的治疗和预后的生物标志物具有巨大潜力。由此可见将外泌体源性 miRNAs 视为结直肠癌的治疗和判断预后的指标, 是结直肠癌方面研究的一个新途径。

5 总结与展望

近年来, 外泌体和 miRNAs 在肿瘤中的作用成为了科学家和临床医生的研究热点。已有研究显示肿瘤细胞来源的外泌体在肿瘤发生发展中起着关键作用, 在早期诊断和治疗中具有广阔的应用前景。外泌体所包裹的 miRNAs 被视为作为一种无创性的新型诊断消化道肿瘤生物标志物正被研究者们关注, 但目前为止外泌体在结直肠癌发生、增殖及侵袭等方面研究还处于早期阶段, 仍有很多问题需进一步探索, 如外泌体 miRNAs 在结直肠癌发生发展过程中具体调控机制尚不明确, 还需深入研究。同时, 外泌体 miRNAs 在结直肠癌发生的不同阶段的表达是否相同, 早期是否可通过干预手段从而逆转结直肠癌变过程目前也尚未明确。但初步研究已显示外泌体 miRNAs 在结直肠癌发生发展中的重要作用, 故对其进行深入的研究是有必要的, 这可能为结直肠癌的早期诊治和判断预后提供新的思路和科学理论基础。

参考文献:

- [1]王振军,付李缘.大肠癌筛查共识与争议[J].临床外科杂志,2018,26(10):721-723.
- [2]褚锋,杨侃侃,李启信.青年结直肠癌患者的临床病理特征及预后分析[J].医学信息,2021,34(2):5-7.
- [3]Zhang J,Li S,Li L,et al.Exosome and exosomal microRNA: trafficking,sorting,and function [J].Genomics Proteomics Bioinformatics,2015,13(1):17-24.
- [4]Falcone G,Felsani A,D'Agnano I.Signaling by exosomal microRNAs in cancer[J].J Exp Clin Cancer Res,2015(34):32.
- [5]Zhang J,Li S,Li L,et al.Exosome and Exosomal MicroRNA:

- Trafficking, Sorting, and Function [J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2015, 13(1): 17–24.
- [6] Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Exosome derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth in vivo [J]. *Cancer Lett*, 2012, 315(1): 28–37.
- [7] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 581–593.
- [8] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412–9420.
- [9] Tang MK, Wong AS. Exosomes: Emerging biomarkers and targets for ovarian cancer [J]. *Cancer Lett*, 2015, 367(1): 26–33.
- [10] Hou J, Wang F, Liu X, et al. Tumor-derived exosomes enhance invasion and metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma cells [J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 47(2): 144–151.
- [11] Chen W, Jiang J, Xia W, et al. Tumor-Related Exosomes Contribute to Tumor-Promoting Microenvironment: An Immunological Perspective [J]. *Clin Dev Immunol*, 2017 (2017): 1073947.
- [12] Carter JV, Roberts HL, Pan J, et al. A Highly Predictive Model for Diagnosis of Colorectal Neoplasms Using Plasma MicroRNA: Improving Specificity and Sensitivity [J]. *Ann Surg*, 2016, 264(4): 575–584.
- [13] Yin Y, Song M, Gu B, et al. Systematic analysis of key miRNAs and related signaling pathways in colorectal tumorigenesis [J]. *Gene*, 2016, 578(2): 177–184.
- [14] Tateishi Y, Okudela K, Mitsui H, et al. The potential role of microRNA-31 expression in early colorectal cancer [J]. *Pathol Int*, 2015, 65(10): 513–518.
- [15] Lin M, Duan B, Hu J, et al. Decreased expression of miR-193a-3p is associated with poor prognosis in colorectal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(1): 1061–1067.
- [16] Sugawara S, Yamada Y, Arai T, et al. Dual strands of the miR-223 duplex (miR-223-5p and miR-223-3p) inhibit cancer cell aggressiveness: targeted genes are involved in bladder cancer pathogenesis [J]. *J Hum Genet*, 2018, 63(5): 657–668.
- [17] Pardini B, De Maria D, Francavilla A, et al. MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: A systematic review [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 696.
- [18] Wang X, Tong Z, Liu H. MiR-223-3p targeting epithelial cell transforming sequence 2 oncogene inhibits the activity, apoptosis, invasion and migration of MDA-MB-468 breast cancer cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2019(12): 7675–7684.
- [19] Yoshikawa M, Iinuma H, Umemoto Y, et al. Exosome encapsulated microRNA-223-3p as a minimally invasive biomarker for the early detection of invasive breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 9584–9592.
- [20] Ma J, Xu M, Yin M, et al. Exosomal hsa-miR199a-3p Promotes Proliferation and Migration in Neuroblastoma [J]. *Front Oncol*, 2019, 9(459): 1–13.
- [21] Zhao S, Li J, Zhang G, et al. Exosomal miR-451a Functions as a Tumor Suppressor in Hepatocellular Carcinoma by Targeting LPIN1 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 53(1): 19–35.
- [22] Cui Y, Xu HF, Liu MY, et al. Mechanism of exosomal microRNA-224 in development of hepatocellular carcinoma and its diagnostic and prognostic value [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(15): 1890–1898.
- [23] Karimi N, Ali Hosseinpour Feizi M, Safaralizadeh R, et al. Serum overexpression of miR-301a and miR-23a in patients with colorectal cancer [J]. *J Chin Med Assoc*, 2019, 82 (3): 215–220.
- [24] Hu HY, Yu CH, Zhang HH, et al. Exosomal miR-1229 derived from colorectal cancer cells promotes angiogenesis by targeting HIPK2 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019(132): 470–477.
- [25] Zhao YJ, Song X, Niu L, et al. Circulating Exosomal miR-150-5p and miR-99b-5p as Diagnostic Biomarkers for Colorectal Cancer [J]. *Front Oncol*, 2019(9): 1129.
- [26] Yan S, Bing H, Gao S, et al. Exosome-encapsulated microRNAs as circulating biomarkers for colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(36): 60149–60158.
- [27] Peng ZY, Gu RH, Yan B. Downregulation of exosome-encapsulated miR-548c-5p is associated with poor prognosis in colorectal cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 120(2): 1457–1463.
- [28] Yan S, Jiang Y, Liang C, et al. Exosomal miR-6803-5p as potential diagnostic and prognostic marker in colorectal cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(5): 4113–4119.
- [29] Yan S, Liu G, Jin C, et al. MicroRNA-6869-5p acts as a tumor suppressor via targeting TLR4/NF- κ B signaling pathway in colorectal cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233 (9): 6660–6668.
- [30] Gu YY, Yu J, Zhang JF, et al. Suppressing the secretion of exosomal miR-19b by gw4869 could regulate oxaliplatin sensitivity in colorectal cancer [J]. *Neoplasia*, 2019, 66(1): 39–45.
- [31] Zou SL, Chen YL, Ge ZZ, et al. Downregulation of serum exosomal miR-150-5p is associated with poor prognosis in patients with colorectal cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2019, 26(1): 69–77.

收稿日期: 2021-02-08; 修回日期: 2020-02-18

编辑/肖婷婷