外泌体在结直肠癌中的研究进展

李在明,魏正强

(重庆医科大学附属第一医院胃肠外科,重庆 400000)

摘要:近年来,由于对外泌体的不断认识和了解,研究外泌体已成为当下的热点,外泌体是细胞分泌的一种纳米级囊泡结构,可来源于机体正常细胞及肿瘤细胞,在血液、唾液、尿液、母乳等多种体液中均有分布,其参与许多生物学和病理学过程,主要是由于它们在细胞间通讯作用,源自结直肠癌(CRC)细胞的外泌体与肿瘤发生、进展、转移、预后等相关。本文就外泌体在结直肠癌中的研究进展进行综述。

关键词:结直肠癌;外泌体;标志物;肿瘤微环境

中图分类号:R735.35　**文献标识码**:A　DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.03.014

文章编号:1006-1959(2019)03-0042-03

Research Progress of Exosomes in Colorectal Cancer

LI Zai-ming,WEI Zheng-qiang

(Department of Gastroenterology,the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University,Chongqing 400000,China)

Abstract:In recent years, due to the continuous understanding and understanding of exosomes, research on exosomes has become a hot spot. Exosomes are a kind of nano-sized vesicle structure secreted by cells, which can be derived from normal cells and tumor cells in the blood. It is distributed in various body fluids such as saliva, urine, and breast milk. It is involved in many biological and pathological processes, mainly due to their intercellular communication, and the exosomes derived from colorectal cancer (CRC) cells. Tumor development, progression, metastasis, prognosis, etc. This article reviews the research progress of exosomes in colorectal cancer.

Key words:Colorectal cancer;Exosomes;Markers;Tumor microenvironment

结直肠癌(colorectal cancer,CRC)是全球消化系统最常见的癌症类型,2018 年估计将有超过 180 万新发病例和 88.1 万死亡病例,结直肠癌的发病率和死亡率在不同国家差异很大,在发达国家,通过长期筛查、早期检测及科学的治疗,大大降低了发病率和死亡率,例如美国和日本,然而,全球总体呈逐年上升趋势[1]。预计到 2030 年,结肠直肠癌(CRC)的全球负担将增加 60%,有超过 220 万的新发病例和 110 万死亡病例[2]。来源肿瘤细胞的外泌体似乎与肿瘤微环境调节、肿瘤侵袭、血管生成、肿瘤逃逸和细胞死亡等不同过程有关[3],同时外泌体还可被用作药物治疗的载体,有望成为一种全新的分子治疗手段,使治疗更具有目的性及有效性[4,5],表明了研究外泌体的重要性及可行性,并且在我们感兴趣的结直肠癌领域,肿瘤来源的外泌体参与 CRC 的发生、进展和转移。本文就外泌体在结直肠癌中的研究进展进行综述。

1 外泌体简介

外泌体是由脂质双分子层包裹的微小囊泡,然而对这些颗粒的大小没有共识,在相关文献中,外泌体定义的变异范围从 30~100 nm,40~100 nm,50~150 nm 到 40~200 nm[6-9],其可来源于机体正常细胞及肿瘤细胞,在血液、唾液、尿液、母乳等多种体液中均有分布,外泌体特定区域的鉴定与识别可以帮助我们揭示其发生过程中的机制以及它们的特定功能区。外泌体领域的大量研究集中于通过高通量技术鉴定和分类这些复杂的囊泡成分,例如基于质谱的蛋白质组学,脂质组学和代谢组学以及基于微阵列和基于下一代测序的转录组学(mRNAs,miRNAs 和其他 RNAs),来自各种细胞类型和体液的 262 个基于多组学的细胞外囊泡高通量数据鉴定的 172080 个特定区域及相应成分已经保存于 EVpedia 数据库(http://evpedia.info),这是一个用于系统分析和研究外泌体的网站,旨在方便及激发人们研究外泌体[10]。

2 外泌体参与结直肠癌的形成、侵袭和转移

相关文献研究表明,肿瘤来源的外泌体可通过参与微血管生成、调节基质细胞、重铸细胞外基质等途径改变肿瘤微环境,从而通过多种途径促进肿瘤的侵袭与转移。不仅局限于肿瘤来源的外泌体,包括血小板、成纤维细胞以及基质细胞等非肿瘤细胞来源的外泌体,同样可进入肿瘤细胞释放内容物从而调节肿瘤的侵袭、转移[11,12]。

CRC 细胞分泌的外泌体显示出诱导结直肠间充质基质细胞(cMSCs)的形态和功能发生变化的能力,导致非典型细胞的产生并刺激肿瘤细胞增殖,迁移和侵袭,癌细胞外泌体积极参与肿瘤进展和恶性转化[13]。来源于 CRC 细胞的外泌体含有显著高于来源正常结直肠上皮细胞的外泌体 miR-10b 水平。生物信息学分析将 PIK3CA 鉴定为 miR10b 的潜在靶基因,荧光素酶报告基因测定证实 miR-10b 直接抑制 PIK3CA 基因表达,外泌体 miR-10b 与成纤维细胞共培养,结果显著抑制 PIK3CA 表达并降低 PI3K-Akt-mTOR 通路活性,最后,含有 miR-10b 的外泌体减少了成纤维细胞增殖,但促进了 TGF-b 和

作者简介:李在明(1993.6-),男,云南昭通人,硕士研究生,主要从事胃肠道肿瘤诊治

通讯作者:魏正强(1967.10-),男,四川乐山人,博士,主任医师,教授,科主任,主要从事胃肠道肿瘤及器官移植的研究

SMα-肌动蛋白的表达，表明外泌体 miR-10b 可以激活成纤维细胞转变为表达肌成纤维细胞标志物的癌症相关成纤维细胞(CAF),这些活化的成纤维细胞能够在体外和体内促进 CRC 增殖[14]。Bhome R 等人从 MRC5 成纤维细胞中分离外泌体,进行差速离心,产生外泌体沉淀,其富含囊泡相关的四跨膜蛋白(CD63 和 CD81),内体蛋白(TSG101 和 Alix)和小 RNA,并证实了外泌体 miR-21 在结肠直肠癌进展中的重要性，该团队之前研究表明 miR-21 过表达成纤维细胞直接增加 CRC 细胞增殖和迁移能力,并提出成纤维细胞外泌体转移到结肠直肠癌细胞,导致细胞 miRNA 水平增加,影响细胞增殖和化学抗性[15]。

3 外泌体参与结直肠癌诊断

结直肠癌早期常无特殊症状,这种情况极大地使早期筛查、诊断及治疗复杂化,目前结直肠癌的诊断主要依靠大便隐血试验、癌谱、直肠指检、纤维结直肠镜及肠镜下活检或切除病灶后行病理检查,多数患者就诊时已是中晚期,且高质量的肠道准备和病灶取材使患者倍感痛苦、畏惧就医,大大增加了早期筛查及诊断结直肠癌的难度,因此,结直肠癌诊疗技术仍需提高,寻找早期诊断的生物标志并研究其机制具有重要的意义。

相关研究表明,从乳腺癌,肺癌和卵巢癌细胞或培养的癌细胞分离的 HSP70+外泌体的量大于从健康供体细胞分离的外来体的量;miRNA 表达谱有效地将癌症进行分期,且长期以来已经提出 miRNA 作为各种癌症中的合适的诊断和预后生物标志物[16]。Herrera M 等研究发现,当分析基于 NF 细胞及其外泌体时，分别由 2 个相关连但不相同的 sncRNA 基因座 U1 和 RNVU1-17 在细胞区室中过表达，而在 CAF 和它们的外泌体之间进行分析时,在 CAF 衍生的外泌体中同样过表达，指出这 2 个 sncRNA 可作为潜在生物标志物用于诊断结直肠癌[17]。

肿瘤来源外泌体被运输到循环系统,这为通过微创血液检测发现早期结直肠癌患者提供了机会,但仍然没有标准方法来分离癌细胞外泌体与血浆外泌体群体[18],外泌体作为诊断标志物的应用是一个相对较新的领域,需要更多的研究和探索性工作。

4 外泌体参与结直肠肿瘤治疗

随着 MDT 讨论的日益成熟,结直肠癌的治疗上升到了一个新的高度，根据肿瘤的分期,K-ras、N-ras、BRAF 基因状态和患者实际情况，采取精准化、个体化治疗。此外,已显示含有非编码 RNA 的基质外泌体通过修饰受体癌细胞中的基因表达来增加化疗和放疗抗性[19]。

结直肠癌治疗是系统化治疗,化学治疗占有举足轻重的地位，由于化学治疗对所有增殖细胞的非特异性作用和与免疫抑制有关联，化疗药物在杀伤肿瘤细胞过程中,通常导致多器官系统中的副作用,例如胃肠道反应(腹泻,食欲减退,恶心、呕吐等)。化疗毒副作用限制了化疗的有序进行，少部分患者因此终止化疗。Kurywchak P[20]等研究发现,外泌体 dsDNA 诱导成熟的 IL-1β 分泌和激活炎症介质,这是腹泻等副作用的主要原因,在伊立替康给药后 48 h 收集的结直肠癌(CRC)患者的血浆样本中,观察到治疗后 dsDNA 浓度增加,当使用减弱外泌体分泌的中性鞘磷脂酶抑制剂 GW4869 处理时,显示培养基中 dsDNA 的减少,并减轻腹泻,体重减轻等并发症,其他体内实验表明,使用炎性抑制剂沙利度胺治疗可减少肠缩短和肠损伤而不降低伊立替康的抗肿瘤作用[20]。

Ren J 等[21]研究发现,lncRNA H19 在 CAC 小鼠的肿瘤组织中高度表达,在不同肿瘤(TNM)阶段的 CRC 患者样品中也证实了 H19 的上调。此外,H19 通过作为 CRC 中 miR-141 的竞争性内源 RNA 海绵激活 β-连环蛋白途径，而 miR-141 显着抑制 CRC 细胞的干细胞;肿瘤相关成纤维细胞通过转移外泌体 lncRNA H19 促进结直肠癌的干性和化疗耐药性,因此,提供了可以通过干预 lncRNA H19 来治疗结直肠癌的新的研究方向。

5 外泌体与结直肠癌预后

结直肠癌的 TNM 分期、脉管神经有无癌浸润、环周切缘、术前、术后 CEA 水平、MSI 等可作为判断结直肠癌预后的指标,Li C 等通过定量分析 15 对 CRC 组织和癌旁组织中的 SPINT1-AS1 和相应的转录物 SPINT1 mRNA 的表达水平,以及 45 对术前和术后血清外泌体样品含量分析，发现与癌旁组织相比,CRC 组织中 SPINT1-AS1 的表达增加,高 SPINT1-AS1 表达与区域淋巴结转移、远处转移和较短的无复发生存期(RFS)相关,Cox 回归分析表明 SPINT1-AS1 是 RFS 的独立预后因素 [22]。 Liu L 等发现外泌体中的 LncRNA GAS5 和 miR-221 表达是 CRC 的独立预后因子[23]。

6 展望

外泌体作为肿瘤微环境的重要组成部分，参与到结直肠癌发生、发展的多个环节,对其进行深入研究，有望找到早期筛查结直肠癌、防治结直肠癌复发、转移及耐药、为抗肿瘤治疗寻找新的方向。目前大多数研究主要集中在寻找外泌体作为 CRC 的早期诊断和预后预测。然而,外泌体纯化方案缺乏标准化和有效性仍然是 CRC 相关外泌体研究的主要挑战之一，研究外泌体在结直肠癌中的角色具有巨大的空间和挑战。

参考文献：

[1]Bray F,Ferlay J,Soerjomataram I,et al.Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J].CA Cancer J Clin, 2018,68(6):394-424.

[2]Arnold M,Mónica S Sierra,Laversanne M,et al.Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J].Gut, 2017,66(4):683-691.

[3]Ogorevc E.The role of extracellular vesicles in phenotypic cancer transformation [J].Radiology & Oncology,2013,47 (3): 197-205.

[4]Jiang XC,Gao JQ.Exosomes as Novel Bio-carriers for Gene and Drug Delivery [J].International Journal of Pharmaceutics, 2017,521(1-2):167-175.

[5]Hannafon B,Ding WQ.Intercellular Communication by Exosome-Derived microRNAs in Cancer [J].International Journal of Molecular Sciences,2013,14(7):14240-14269.

[6]Demory BM,Higginbotham JN,Franklin JL,et al.Proteomic analysis of exosomes from mutant KRAS colon cancer cells identifies intercellular transfer of mutant KRAS [J].Molecular & Cellular Proteomics,2013,12(2):343-355.

[7]Chiba M,Kimura M,Asari S.Exosomes secreted from human colorectal cancer cell lines contain mRNAs, microRNAs and natural antisense RNAs, that can transfer into the human hepatoma HepG2 and lung cancer A549 cell lines[J].Oncology Reports,2012,28(5):1551-1558.

[8]Simpson RJ,Lim JW,Moritz RL,et al.Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential[J].Expert Review of Proteomics, 2009,6(3):267-283.

[9]Choi DS,Park JO,Jang SC,et al.Erratum: Proteomic analysis of microvesicles derived from human colorectal cancer ascites[J]. Proteomics,2011,11(13):2745-2751.

[10]Gho YS,Lee C.Emergent properties of extracellular vesicles: a holistic approach to decode the complexity of intercellular communication networks [J].Molecular Biosystems,2017,13 (7): 1291.

[11]Minciacchi VR,Freeman MR,Di Vizio D.Extracellular Vesicles in Cancer: Exosomes, Microvesicles and the Emerging Role of Large Oncosomes[J].Seminars in Cell & Developmental Biology,2015,40(2):41-51.

[12]Bhome R,Bullock MD,Saihati HAA,et al.A top-down view of the tumor microenvironment: structure, cells and signaling[J]. Frontiers in Cell & Developmental Biology,2015(3):33.

[13]Lugini L,Valtieri M,Federici C,et al.Exosomes from human colorectal cancer induce a tumor-like behavior in colonic mesenchymal stromal cells[J].Oncotarget,2016,7(31):50086-50098.

[14]Dai G,Yao X,Zhang Y,et al.Colorectal cancer cell-derived exosomes containing miR-10b regulate fibroblast cells via the PI3K/Akt pathway[J].Bull Cancer,2018,105(4):336-349.

[15]Bhome R,Goh RW,Bullock MD,et al.Exosomal microRNAs derived from colorectal cancer-associated fibroblasts: role in driving cancer progression[J].Aging,2017,9(12):2666-2694.

[16]Iorio MV,Croce CM.MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review[J].EMBO Molecular Medicine,2012,4(3):143-159.

[17]Herrera M,Llorens C,Marta Rodríguez,et al.Differential distribution and enrichment of non-coding RNAs in exosomes from normal and Cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer[J].Molecular Cancer,2018,17(1):114.

[18]崔琮,徐建明,王友亮.外泌体在消化系统肿瘤诊断中的应用[J].世界华人消化杂志,2016(35):4644-4651.

[19]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.

[20]Kurywchak P,Kalluri R.An evolving function of DNA-containing exosomes in chemotherapy-induced immune response[J].Cell Research,2017,27(6):722-723.

[21]Ren J,Ding L,Zhang D,et al.Carcinoma-associated fibroblasts promote the stemness and chemoresistance of colorectal cancer by transferring exosomal lncRNA H19[J].Theranostics, 2018,8(14):3932-3948.

[22]Li C,Li W,Zhang Y,et al.Increased expression of antisense lncRNA SPINT1-AS1 predicts a poor prognosis in colorectal cancer and is negatively correlated with its sense transcript[J]. Oncotargets & Therapy,2018(11):3969-3978.

[23]Liu L,Meng T,Yang XH,et al.Prognostic and predictive value of long non-coding RNA GAS5 and mircoRNA-221 in colorectal cancer and their effects on colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion [J].Cancer Biomarkers,2018,22 (2):283-299.

收稿日期:2018-11-23;修回日期:2018-12-5

编辑/杨倩