

# 外泌体在肝癌中的作用机制

刘瀚予<sup>1</sup>, 贾莉莉<sup>2</sup>, 喻文立<sup>2</sup>, 刘伟华<sup>2</sup>, 李红霞<sup>2</sup>, 杜洪印<sup>2</sup>

(1. 天津医科大学第一临床学院, 天津 300070;

2. 天津市第一中心医院麻醉科, 天津 300192)

**摘要:**肝癌是世界范围内发病率和死亡率排名较高的恶性肿瘤之一, 研究其发生发展的机制及有效防治方法具有重要意义。外泌体是一类由细胞分泌的细胞外囊泡, 直径 30-150 nm, 表面携带特定分子, 可以通过受体-配体结合或内吞作用传递信息至靶细胞从而发挥作用, 是肿瘤微环境中重要的组成部分, 其在肝癌的发生发展过程中扮演了重要的角色, 有望作为肝癌的诊断和预后判断的理想肿瘤标志物。本文就外泌体的概述及其在肝癌中的作用作一综述, 旨在为临床治疗该疾病提供参考。

**关键词:**肝癌; 外泌体; 肿瘤标志物

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.08.010

文章编号: 1006-1959(2020)08-0026-03

## The Mechanism of Exosomes in Liver Cancer

LIU Han-yu<sup>1</sup>, JIA Li-li<sup>2</sup>, YU Wen-li<sup>2</sup>, LIU Wei-hua<sup>2</sup>, LI Hong-xia<sup>2</sup>, DU Hong-yin<sup>2</sup>

(1. The First Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;

2. Department of Anesthesiology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China)

**Abstract:** Liver cancer is one of the malignant tumors ranked high in morbidity and mortality worldwide. It is of great significance to study the mechanism of its occurrence and development and effective prevention methods. Exosomes are a type of extracellular vesicles secreted by cells, with a diameter of 30 to 150 nm, carrying specific molecules on the surface, which can play a role in transmitting information to target cells through receptor-ligand binding or endocytosis. An important part of the environment, which plays an important role in the occurrence and development of liver cancer, is expected to be an ideal tumor marker for the diagnosis and prognosis of liver cancer. This article reviews the overview of exosomes and their role in liver cancer, and aims to provide a reference for clinical treatment of the disease.

**Key words:** Liver cancer; Exosomes; Tumor markers

肝癌(liver cancer)是世界范围内最常见的肿瘤之一, 其复发和转移率都很高, 占全球恶性肿瘤死亡率的第 3 位。我国每年约有 38.3 万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡病例数的 51%<sup>[1]</sup>, 严重威胁人类生命健康。肿瘤微环境是肿瘤细胞赖以生存的复杂环境, 主要是由多种不同的细胞外基质和基质细胞组成, 而肿瘤细胞与周围基质细胞的交流对恶性肿瘤的进展有重要作用, 其中外泌体不同程度地参与了肿瘤的发生发展, 形成适宜肿瘤发展的微环境并产生化疗耐受, 从而促进肿瘤进展。本文就外泌体的组成、种类及其在肝癌发展过程中的作用机制进行综述, 以为肝癌的诊治寻找新靶点提供参考。

### 1 外泌体

外泌体由基质细胞(成纤维细胞、脂肪细胞及肥大细胞等)和肿瘤细胞分泌, 是由脂质双分子层包裹的纳米级囊泡, 含有多种生物活性物质, 包括 RNA、DNA、蛋白质及脂质等。Kogure T 等<sup>[2]</sup>通过对人肝癌细胞株 Hep3b 和 PLC/PRF/5 来源的外泌体 RNA 表

达谱进行研究, 结果发现有 11 种 miRNAs(mir-584、mir-517 c、mir-378、mir-520 f、mir-142-5p、mir-451、mir-518 d、mir-215、mir-376 a、mir-133 b 和 mir-367)存在特异性表达, 表明肝癌衍生外泌体中有选择性地富集了一组特定的 miRNAs, 从而促进肝癌进展。此外, 外泌体富含神经鞘磷脂、饱和脂肪酸、胆固醇、磷脂酰丝氨酸, 使其具有高度稳定性, 有利于靶细胞摄取, 也可通过受体-配体结合或内吞作用将内容物传递至受体细胞, 完成细胞间信息传递, 从而广泛参与细胞间联系, 对组织内环境平衡和细胞间通讯调控至关重要<sup>[3]</sup>。同时, 其可通过成纤维细胞活化构建肿瘤转移前微环境, 重塑细胞外基质, 增强血管生成和抗药性, 促进肿瘤的进展和转移<sup>[4]</sup>。

### 2 外泌体在肝癌中的作用

**2.1 miRNA** 肝癌细胞外泌体可介导肝癌细胞与肿瘤微环境的信息传递, 调节受体细胞靶基因表达、信号通路、细胞转化及生物学行为。肝细胞癌细胞(HCC)外泌体中 miRNAs 的表达可显著增高或降低。Kogure T 等<sup>[2]</sup>对 108 个潜在基因进行组合分析, 发现 HCC 外泌体可将 miRNAs 传递至受体细胞, 抑制与转化生长因子-活化激酶 1(TAK1)相关的 TAG1 和下游信号丝裂原活化蛋白激酶(MAP3K 家族)的组成型表达, 促进肝癌细胞增殖, 抑制其凋亡, 促进 HCC 的发展转移。此外, 有研究表明<sup>[5]</sup>, HCC 外泌体富集 miR-429, 通过抑制其靶基因 RB 结合蛋 4(RBBP4)的表达, 增强 E2F 转录因子 1(E2F1)转录活

基金项目: 1. 天津市自然科学基金面上项目(编号: 17JCYBJC28000);

2. 天津市卫生行业重点攻关项目(编号: 16KG101); 3. 天津市卫生和

计划生育委员会中医中西医结合科研课题(编号: 2017056); 4. 2017

年天津医学会麻醉学分会中青年科研培育基金项目(编号:

TJMZJJ-2017-01); 5. 天津市卫生局科技基金(编号: 2015KZ027)

作者简介: 刘瀚予(1993.10-), 女, 天津人, 硕士研究生, 主要从事器官移植重要脏器保护的研究

通讯作者: 喻文立(1972.2-), 男, 天津人, 博士, 主任医师, 主要从事器官移植重要脏器保护的研究

性,使 OCT4 表达增加,维持上皮细胞黏附分子(Ep-CAM)阳性肝脏肿瘤起始细胞的特性,促进炎症微环境形成,使肝癌细胞分化降低、增殖能力增强。而肿瘤的生长依赖于血管,当实体肿瘤直径>2 mm 时,为避免缺血、缺氧、坏死需获得充足的血液供应。外泌体可调控一些信号通路促血管生成,如 miR-221<sup>[6]</sup>可活化 SAND/NF- $\kappa$ B 信号通路,上调血管生成相关因子 CX-CL16 表达,促血管生成;miR-21 可激活 STAT3/VEGF 信号通路,促血管生成<sup>[7]</sup>。同时外泌体-miRNA 可通过上皮-间质转化(EMT)增强细胞运动能力,增加其侵袭性<sup>[8]</sup>,而发生 EMT 的肿瘤更易侵入循环并逆转为上皮表现,在远处形成新的转移灶。

肝癌早期是无症状型疾病,临床明确诊断时多处于肝癌晚期。肝癌切除术及移植术是目前最有效的治疗方案,而肝癌的高复发率和转移率导致其疗效变差<sup>[9]</sup>,因此,肝癌的诊断、预后非常重要。目前通过检测甲胎蛋白(AFP)对肝癌进行筛查,但 AFP 的多源性使其具有较低的敏感性、准确性<sup>[10]</sup>。因此,识别潜在的诊断性生物标志物是研究的重点领域。研究发现<sup>[11]</sup>,血清外泌体中 miRNA-122(敏感度:81.93%、特异度:82.05%、AUC:0.89)的诊断效能高于 AFP(AUC:0.835)。外泌体 miRNA-718 也与肝癌密切相关,研究显示<sup>[12]</sup>,肝癌患者移植后其表达水平与未治疗肝癌患者的表达水平相比显著降低。另外,也有研究发现<sup>[13]</sup>,外泌体 miR-125b 是肝细胞癌患者复发时间(TTR)与总生存期(OS)的独立预测因子,含量低的肝细胞癌患者,其 TTR 和 OS 有所缩短。Jiao C 等<sup>[14]</sup>研究发现,肝母细胞瘤(HB)患者与对照组相比较,血清外泌体 miRNA-34s 显著降低,回归分析证明其诊断预测价值明显优于 AFP。提示血清外泌体 miRNAs 可作为肝癌新的血清学标志物,但其生物活性分子是否具有诊断意义仍有待进一步研究。

由于外泌体具有较高稳定性,以其为载体,将核酸、蛋白质、脂类、多肽和化疗药物传递给靶细胞起到治疗的作用。间充质干细胞具有抗肿瘤作用,其来源的外泌体可传递一些特殊蛋白质分子、脂质、miRNAs 等生物信息至靶细胞,以达到抗肿瘤细胞生长、增殖的作用。肝特异性 miR-122 在肝脏生理和病理中具有多种功能,其与肿瘤的化疗敏感性有关。过度表达 miR-122 的外泌体可下调肝癌细胞内的细胞周期蛋白(CCNG1)、分解素和金属蛋白酶 10(ADAM10)以及胰岛素样生长因子 1(IGFIR)的 mRNA 与蛋白水平,上调凋亡相关基因 Caspase 3 和 bcl-2 相关 x 蛋白(bax)的表达<sup>[15]</sup>,通过增强细胞凋亡和细胞周期阻滞提高肝癌细胞的化学敏感性。癌相关成纤维细胞外泌体中过表达的 miR-320a 与其下游靶点 PBX 3 结合,抑制 MAPK 通路的激活及上

皮细胞间质转移,下调细胞周期素依赖性激酶 2(CDK 2)和促基质金属蛋白酶 2(MMP 2)的表达,最后抑制肝癌细胞的增殖和转移<sup>[16]</sup>。另有研究证明<sup>[17]</sup>,丙型肝炎病毒 E2 包膜糖蛋白(HCV-E2)可以刺激肥大细胞(MCs),使 MCs/MCs 来源的外泌体以及受体肝癌细胞内的 miR-490 表达增高,抑制 ERK1/2 通路,下调表皮生长因子受体(EGFR 与血管生成相关)的表达及蛋白激酶(AKT)和 ERK 1/2 的磷酸化,最后抑制肝癌细胞的转移。总之,外泌体 miRNA 既可以通过促进肝癌细胞增殖、血管生成、侵袭性增强促使肝癌的发展,也可以作为载体将某些生物活性物质传递给靶细胞达到治疗目的。

**2.2 lncRNA** lncRNA 是长链非编码 RNA,其长度大于 200 个核苷酸,在众多生命活动中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。Conigliaro A 等<sup>[19]</sup>研究表明,来源于肝癌细胞株的 CD90<sup>+</sup>细胞可释放富含 lncRNA H19 的外泌体。而 lncRNA H19 在内皮细胞中的过度表达有利于 VEGF 的产生和释放,增强内皮细胞在体外排列管状结构的能力,促进内皮细胞与 CSC 样肝细胞的异型粘附,从而增强癌细胞与内皮细胞的结合能力。此外,Takahashi K 等<sup>[20]</sup>研究发现,外泌体携带的 LINC-VLDLR 可增强 ABC 转运蛋白家族(ABCG2)的表达,增加化疗诱导的细胞死亡,消除细胞周期进程并降低了细胞活力。在化疗应激期间,由于外泌体中 LINC ROR 的高表达和选择性富集,TGF- $\beta$  使细胞内 CD133<sup>+</sup>表达增加和部分群落生长,总体诱导肝癌细胞对化疗耐药。另有研究表明<sup>[21]</sup>,在肝癌细胞衍生的 EVS 中,表达最强的 lncRNA 是 tuc339,EVS 介导的 lncRNA-tuc339 的转移是促进肝癌生长和转移的一种独特的信号机制。说明 lncRNA 可促进新生血管、肝癌增殖粘附及肝癌化疗耐药,从而有利于肝癌的进展,抑制 lncRNA-tuc339 可显著降低肝癌细胞的增殖和粘附,达到治疗的目的。

**2.3 蛋白质** 研究发现<sup>[22]</sup>,人类 T 细胞产生含 CD147 的微颗粒也可刺激成纤维细胞分泌基质金属蛋白酶。肝癌细胞外泌体可上调肝癌细胞的膜联蛋白 A2(ANXA2),增强 CD147 的表达,提高 MMP 2 的表达;也可调节磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)和 MAPK 的激活、促基质 MMP 2 及 MMP-3 的分泌、EMT 的发生及肝癌细胞的侵袭性。此外,Jaiswal R 等<sup>[23]</sup>研究发现,外泌体可将 p-糖蛋白从多重耐药供体细胞转移到药物敏感的受体,形成多重耐药细胞,使肝癌患者只能以手术治疗为主,对化疗不敏感。而降低的化疗敏感性是由肿瘤的多药耐药(MDR)引起的,有多种机制共同参与,其中外泌体作为细胞间的交流信使发挥了重要的作用。Wei JX 等<sup>[24]</sup>研究发现,在 HCC 细胞及其外泌体中,Vps4A

表达显著降低,而 Vps4A 可通过抑制 PI3K/Akt 通路促进外泌体分泌抑癌性的 miRNA,进而抑制 HCC 的发展。

### 3 总结

外泌体作为肿瘤细胞与周围基质细胞交流的媒介,参与了肝癌的进展、诊疗等多个方面,具有较高稳定性;同时,其可将蛋白质、miRNAs、lncRNA 等分子传递至靶细胞,调控信号通路,促使细胞增殖、转化,新生血管形成、耐药性产生,创建肝癌微环境。另外,外泌体也可作为载体,携带生物活性分子抑制肝癌进展。然而,不同细胞来源的外泌体是否作用相反、是否存在特异性 DNA 分子,其作用机制尚未明确,有待更进一步的研究。

### 参考文献:

- [1]吕桂帅,陈磊,王红阳.我国肝癌研究的现状与前景[J].生命科学,2015,27(3):237-248.
- [2]Kogure T,Lin WL,Yan IK,et al.Intercellular nanovesicle-mediated microRNA transfer:a mechanism of environmental modulation of hepatocellular cancer cell growth[J].Hepatology,2011,54(4):1237-1248.
- [3]Yu S,Cao H,Shen B,et al.Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure [J].Oncotarget,2015,6 (35): 37151-37168.
- [4]Azmi AS,Bao B,Sarkar FH.Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance:a comprehensive review[J].Cancer and Metastasis Reviews,2013,32(3-4):623-642.
- [5]Li L,Tang J,Zhang B,et al.Epigenetic modification of MiR-429 promotes liver tumour-initiating cell properties by targeting Rb binding protein 4[J].Gut,2015,64(1):156-167.
- [6]Santhekadur PK,Das SK,Gredler R,et al.Multifunction Protein Staphylococcal Nuclease Domain Containing 1 (SND1) Promotes Tumor Angiogenesis in Human Hepatocellular Carcinoma through Novel Pathway That Involves Nuclear Factor  $\kappa$ B and miR-221 [J].Journal of Biological Chemistry,2012,287(17): 13952-13958.
- [7]Zhang N,Duan WD,Leng JJ,et al.STAT3 regulates the migration and invasion of a stemlike subpopulation through microRNA21 and multiple targets in hepatocellular carcinoma[J].Oncology Reports,2015,33(3):1493-1498.
- [8]Yilmaz M,Christofori G.EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion [J].Cancer and Metastasis Reviews,2009,28 (1-2): 15-33.
- [9]Bruix J,Llovet JM.Major achievements in hepatocellular carcinoma[J].Lancet,2009,373(9664):614-616.
- [10]Brissot E,Myriam L,Marielle MB,et al.Tyrosine kinase inhibitors improve long-term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia[J].Haematologica,2015,100(3):392-399.
- [11]张云,度敏,刘胜武.血清外泌体来源的 miRNA-122 对肝癌诊断的研究 [J].检验医学与临床,2017,14 (9):1260-1261,1265.
- [12]Wang ZD,Qu FY,Chen YY,et al.Involvement of microRNA-718, a new regulator of EGR3, in regulation of malignant phenotype of HCC cells [J].J Zhejiang Univ Sci B,2017,18(1): 27-36.
- [13]Liu W,Hu J,Zhou K,et al.Serum exosomal miR-125b is a novel prognostic marker for hepatocellular carcinoma [J].Oncotargets Ther,2017(10):3843-3851.
- [14]Jiao C,Jiao X,Zhu A,et al.Exosomal miR-34s panel as potential novel diagnostic and prognostic biomarker in patients with hepatoblastoma [J].Journal of Pediatric Surgery,2017,52(4): 618-624.
- [15]Lou G,Song X,Yang F,et al.Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma [J].Journal of Hematology & Oncology,2015,8(1):122.
- [16]Zhang Z,Li X,Sun W,et al.Loss of exosomal miR-320a from cancer-associated fibroblasts contributes to HCC proliferation and metastasis[J].Cancer Letters,2017(397):33-42.
- [17]Xiong L,Zhen S,Yu Q,et al.HCV-E2 inhibits hepatocellular carcinoma metastasis by stimulating mast cells to secrete exosomal shuttle microRNAs [J].Oncology Letters,2017,14 (2):2141-2146.
- [18]Chen G,Wang Z,Wang D,et al.LncRNADisease:a database for long-non-coding RNA-associated diseases[J].Nucleic Acids Res,2013,41(Database issue):D983-D986.
- [19]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].Molecular Cancer,2015,14 (1):155.
- [20]Takahashi K,Yan IK,Wood J,et al.Involvement of Extracellular Vesicle Long Noncoding RNA (linc-VLDLR) in Tumor Cell Responses to Chemotherapy[J].Molecular Cancer Research,2014,12(10):1377-1387.
- [21]Kogure T,Yan IK,Lin WL,et al.Extracellular Vesicle-Mediated Transfer of a Novel Long Noncoding RNA TUC339: A Mechanism of Intercellular Signaling in Human Hepatocellular Cancer[J].Genes & Cancer,2013,4(7-8):261-272.
- [22]Ma J,Cai W,Zhang Y,et al.Innate Immune Cell-Derived Microparticles Facilitate Hepatocarcinoma Metastasis by Transferring Integrin  $\alpha$ (M) $\beta$ (2) to Tumor Cells[J].The Journal of Immunology,2013,191(6):3453-3461.
- [23]Jaiswal R,Gong J,Sambasivam S,et al.Microparticle-associated nucleic acids mediate trait dominance in cancer [J].The FASEB Journal,2012,26(1):420-429.
- [24]Wei JX,Lv LH,Wan YL,et al.Vps4A functions as a tumor suppressor by regulating the secretion and uptake of exosomal microRNAs in human hepatoma cells[J].Hepatology,2015,61(4): 1284-1294.

收稿日期:2019-11-12;修回日期:2019-12-12

编辑/杜帆