本文引用:崔世红,吕晓峰,刘灵,等. 外泌体在宫颈癌发病及诊断与治疗中的研究进展[J]. 新乡医学院学报,2018,35(5):444-447. DOI:10.7683/xxyxyxb.2018.05.023.

【综述】

外泌体在宫颈癌发病及诊断与治疗中的研究进展

崔世红, 吕晓峰, 刘 灵, 任琛琛, 杨 立, 程国梅, 洪汉卿
(郑州大学第三附属医院妇产科,河南 郑州 450000)

摘要: 宫颈癌作为女性第2大常见恶性肿瘤,目前仍是世界范围内的重大健康问题。外泌体是多囊泡体和细胞膜融合后释放到细胞外的囊泡样小体,可来源于多种细胞和体液,通过运载多种蛋白、脂质、信使核糖核酸及微小核糖核酸片段等生物学功能物质介导细胞-细胞间信息交流,其作为近年肿瘤学的研究热点,已被发现与多种肿瘤的发生、诊断及预后有关。本文主要对外泌体在宫颈癌发病、诊断与治疗中的研究进展作一综述,为临床宫颈癌的早期筛查及靶向药物研发提供新思路。

关键词: 外泌体;宫颈癌;诊断;治疗;肿瘤微环境
中图分类号: R737.33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2018)05-0444-04

宫颈癌是世界范围内女性第2大常见恶性肿瘤,高危型人类乳头瘤病毒(human papillomavirus,HPV)感染是其主要危险因素[1]。近年来,宫颈癌的发病趋向于年轻化,严重影响妇女的健康。宫颈癌的发生和发展过程极其复杂,涉及到多种基因和多个连贯的病理过程[2]。及早发现和阻断高危型HPV持续感染,在持续感染者中确定高危个体开展跟踪随访,早期诊断癌前病变并进行手术治疗是防治宫颈癌的3个重要环节。当前宫颈癌早期筛查技术主要有高危型人类乳头瘤病毒(high risk human papillomavirus,HR-HPV)基因检查和宫颈脱落细胞检查。由于大多数妇女的HR-HPV感染为一过性,且持续性HR-HPV亚型感染患者中只有少数最终发展为宫颈癌,所以使得HR-HPV基因检测筛查宫颈癌的敏感性高,特异性低。细胞学检测筛查宫颈癌的特异性好,但受标本采集手法和医生诊断水平的影响较大,检出率较低,重复性较差。同时,由于不能准确甄别宫颈癌高危个体,无法对重点对象进行紧盯防治,因此,经常丧失干预的"最佳窗口期"。基于以上因素,迫切需要寻找更为敏感的早期筛查标志物和更具可行性的治疗方法。外泌体是由体内多种细胞分泌的亚细胞囊泡结构,直径30~9 100 nm,电镜下呈杯状或者球状[3]。由于外泌体携带有其来源细胞的多种蛋白及核酸物质,并且可以从外周血等体液中简单获得,这一现象提示可以通过外泌体所携带的分子来诊断和监督控制肿瘤,作为诊断标志物,外泌体呈现出较显著的潜力[4-6]。本文就国内外近年有关外泌体在宫颈癌中的相关研究进行综述,为临床宫颈癌的早期筛查及抗肿瘤药物研发提供依据。

1 外泌体的生物学特征与功能

2013年,美国和德国3位科学家因发现"细胞内的主要运输系统——囊泡运输的调节机制"荣获诺贝尔生理学医学奖,将细胞外囊泡研究推向了新的高潮。外泌体作为细胞外囊泡的一种,最早可追溯到JOHNSTONE等[7]的研究,他们在对网织红细胞进行观察时发现一种膜性囊泡小体,认为它是细胞发展成熟阶段排出的残余"垃圾",并将其命名为外泌体,但未对其进行过多关注。近年来有研究发现,除了网织红细胞以外,体内的朗格汉斯细胞、肥大细胞、淋巴细胞和多数肿瘤细胞均可以分泌这种囊泡小体[8]。此外,外泌体也可以通过离心的方式从人的脑脊液、血液、腹水等中分离出来[9-10]。在外泌体的组成成分中,一部分是所有外泌体共有的膜转运蛋白、膜融合蛋白、磷脂、胆固醇、饱和脂肪酸、微小核糖核酸(microRNAs,miRNA)等,另一部分是其来源细胞所特有的。外泌体存在双面性[11],其不但参与肿瘤的生成、发展、转移等活动,还可以制约肿瘤的生长、转移等,通过诱导作用强化相关免疫作用;这种功能作用的差异取决于外泌体的来源细胞。

研究显示,相比于正常组织,肿瘤细胞分泌的外

DOI:10.7683/xxyxyxb.2018.05.023
收稿日期:2018-01-18
基金项目:河南省重大科技专项基金资助项目(编号:161100311100);河南省医学科技攻关计划项目(编号:201601010)。
作者简介:崔世红(1961-),女,河南郑州人,学士,教授,博士研究生导师,研究方向:妇科肿瘤。

泌体更多,以实现对肿瘤微环境、肿瘤免疫逃逸的调节,强化耐药性[12-14]。对卵巢癌患者血浆外泌体的研究显示,外泌体蛋白含量与卵巢癌分期之间呈正相关,通过监测化学治疗前后外泌体蛋白含量变化可以对患者的化学治疗反应性进行预测[15]。肿瘤细胞可以分泌含有血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)等细胞因子的外泌体,这些外泌体与内皮细胞膜表面受体相结合,对血管产生刺激,继而推动肿瘤生长。除此之外,肿瘤细胞分泌的外泌体还能对 T 细胞免疫功能进行制约,从而实现免疫逃逸。与初始活化的 T 细胞共孵育之后,外泌体可以使分化抗原簇 3、酪氨酸激酶 3 的表达下调,利用分化抗原簇 95/分化抗原簇 95 配体信号通路,引起细胞凋亡[16]。LIS 等[17]研究发现,恶性腹水中的外泌体可以使外周血 T 细胞、树突状细胞发生凋亡,此项研究揭示了肿瘤细胞免疫逃逸的全新机制。外泌体还能排出肿瘤细胞中的化学治疗药物,从而对化学治疗药物产生一定的耐药性。比如,通过对顺铂耐药的肿瘤细胞分泌的外泌体的分析,发现外泌体内含有顺铂,卵巢癌细胞可以利用释放外泌体将抗肿瘤药物排出肿瘤细胞[18]。除此之外,神经母细胞瘤肿瘤微环境内的外泌体可以对 miRNA 的转移进行调节,继而使肿瘤细胞的耐药性更强。外泌体抑制剂 GW4869 可以使神经母细胞瘤细胞拥有更强的顺铂敏感性,这意味着外泌体抑制剂可用来缓解甚至克服神经母细胞瘤细胞的耐药性。

2　外泌体与宫颈癌的发生和发展

相关研究证实,宫颈癌发病的关键初始环节为 HR-HPV 持续感染[19],但宫颈癌的产生并非单因素导致的结果,而是多个因素共同影响的产物。HPV 持续感染的宫颈上皮细胞(即癌前细胞)仍然保持着上皮源性特征,细胞之间存在广泛的紧密连接。众多因子在维持上皮源性特征及细胞紧密连接中发挥着重要作用。癌前细胞如何打破这种连接方式、启动恶性转变进程,目前争议颇多[20-21]。其中,上皮间充质细胞转化即上皮细胞经过数个环节转换为间充质细胞,从而失去细胞黏附,变得更易扩散和转移,是 HR-HPV 持续感染转变为宫颈癌过程中的重要环节[22-23]。易红艳等[24]研究显示,将提取自宫颈癌细胞分泌的外泌体与癌前细胞 Ect1 共培养,诱发了癌前细胞 Ectl 向上皮间充质细胞转化,加速了向肿瘤细胞的恶性转变,说明外泌体中某些成分可以增加癌前细胞的体外侵袭能力,促进宫颈癌的发生。在外泌体包含的众多物质中,RNA 是一类重要的肿瘤诊断生物标志物分子,外泌体的包裹使其免受 RNA 酶的降解,进而被转移至相应靶细胞发挥调控作用,引起细胞的恶性转化。已证实胰胆管癌、胃癌、卵巢癌患者的唾液或者血液中的外泌体内的 miRNA-4644、miRNA-1264、miRNA-141、miRNA200a 等均高于正常人[25-27],在宫颈癌患者的阴道灌洗液中同样检测出了高水平的 miRNA-21 和 miRNA-146a[28],因此,外泌体中上述几种 miRNA 的含量可能与宫颈癌的发生有关,有望成为宫颈癌新的诊断标志物。

研究表明,淋巴结转移的宫颈癌患者和无淋巴结转移的宫颈癌患者的 5 a 生存率分别为 64% 和 93%[29],伴和不伴宫旁浸润的宫颈癌患者的 5 a 生存率分别为 31.8% 和 71.9%[30],因此,如能早期发现微小的病灶和转移,将极大地提高患者的生存率。外泌体被认为是在肿瘤微环境中进行肿瘤细胞与正常细胞间信息交流的“重要使者”。肿瘤细胞来源的外泌体中含有 VEGF 等小分子,可以诱导和加速肿瘤血管生成,营造一个适宜肿瘤形成的微环境[31-32]。如胰腺癌来源外泌体被肝巨噬细胞摄取后会分泌大量的转化生长因子 β,促进肿瘤转移微环境的形成[33]。BARONI 等[34]证实,卵巢癌来源的外泌体通过携带 miRNA-9 可以将正常的成纤维细胞诱导成肿瘤相关的成纤维细胞,改造肿瘤微环境。外泌体在宫颈癌转移机制中的研究尚在起步阶段,相关研究还比较少。AROMSEREE 等[35]通过对 HPV 相关的宫颈癌中外泌体传递的 EB 病毒编码核糖核酸(Epstein-Barr virus-encoded RNA,EBER)信息进行研究,发现宫颈细胞或树突细胞中高水平的 EBER1 可能通过刺激固有免疫进而在宫颈上皮细胞从炎症到肿瘤过渡过程中发挥作用。

3　外泌体与宫颈癌的诊断和治疗

外泌体带有来源细胞的特异性分子,可以呈现出来源细胞的特点。对肿瘤细胞外泌体的特异性分子进行观察和判断,即可分清楚肿瘤的具体类型。除此之外,外泌体在血液、汗液等体液中广泛存在,获取难度较低,可通过体液得到,有利于后续的分离

和鉴定。ZHANG 等[36]用透射电镜和实时定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction,qRT-PCR)法检测宫颈癌患者与正常者阴道灌洗液发现,宫颈癌来源的外泌体标本中存在同源框转录反义 RNA(homeobox transcript antisense RNA,HOTAIR)、肺腺癌转移相关转录因子 1 和母系表达基因 3 等 3 种长链非编码 RNA,且三者表达水平明显高于正常人。外泌体来源的 miRNA 表达水平在宫颈癌诊断中也极具潜力。NAGAMITSU 等[37]通过 miRCURY LNA 微阵列对宫颈癌患者血清的 miRNA(1 223 个)的表达水平进行了观察和测试,并将之与正常组进行对比,发现宫颈癌患者中表达量超过正常组 3 倍的 miRNA 有 6 个;接着,通过 qRT-PCR 对宫颈癌(45 例)、子宫颈上皮不典型增生(55 例)和正常人(31 例)的以上 6 种 miRNA 的具体表达情况进行验证,得知 miRNA-483-5p、miRNA1246、miRNA1275、miRNA1290 在各分组之间的表达差异均存在统计学意义,可以将其视为诊断宫颈癌的标志物。

由于肿瘤细胞需要利用外泌体实现彼此的信息交换,而外泌体带有一定的促存活因子,可以接受增殖信号,制约细胞的凋亡,诱发和引导血管新生,推动肿瘤进一步增殖、生存及转移,增加肿瘤治疗的难度。对外泌体进行阻隔或者清除可能是治疗肿瘤的新渠道。MARLEAU 等[38]研发了一种血液净化装置,主要可用于结合外泌体相关抗原,从而清除与肿瘤存在关联的外泌体,其主要长处为不会发生药物毒副作用,但目前尚无法确定该疗法是否可以真正改善肿瘤患者的预后与生存期。此外,因为外泌体的生成和分泌均是由机体自身完成的,并不会出现免疫排斥反应,且可以通过靶向定位至特定组织,因此,就肿瘤的靶向治疗而言,外泌体的应用前景十分广泛[39-40]。但是,对利用外泌体研发的抗肿瘤药物进行推广和普及,使其在肿瘤的临床诊治中发挥更多的作用,还需要对外泌体在肿瘤形成及发展、转移中的复杂机制进行更多的研究。

4 展望

宫颈癌筛查虽然有 HR-HPV 基因检查和宫颈脱落细胞检查,但均有不足之处,对微小病灶的发现仍然有限。外泌体研究的持续加深,使我们更好地认识和理解了肿瘤细胞间的相互作用与机制,使新的宫颈癌诊治方式有了更有力的理论支撑。外泌体肿瘤来源的特异性和获取方式简单等特点,提示可以将外泌体作为肿瘤标志物,构建更为系统的宫颈癌早期筛查方式。此外,由于外泌体可以靶向定位至特定组织,可以借此开发出更有效的抗肿瘤靶向药物等。从现有的研究结果来看,利用血清外泌体基因测序进行肿瘤早期无创诊断以及研发具备靶向功能的外泌体抗肿瘤药物载体,是当前最有可能被用于临床治疗的方向。

参考文献:

[1] BERMAN T A,SCHILLER J T. Human papillomavirus in cervical cancer and oropharyngeal cancer: one cause, two diseases[J]. *Cancer*,2017,123(12):2219-2229.

[2] 尚俊伟. 宫颈癌及癌前病变相关危险因素分析[J]. 新乡医学院学报,2015,32(12):1135-1137.

[3] ZAMANIAN M,FRASER L M,AGBEDANU P N,*et al*. Release of small rna-containing exosome-like vesicles from the human filarial parasite brugia malayi[J]. *PLoS Neglected Trop Dis*,2015,9(9):e0004069.

[4] ANTONYAK M A,LI B,BOROUGHS L K,*et al*. Cancer cell-derived microvesicles induce transformation by transferring tissue transglutaminase and fibronectin to recipient cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2011,108(12):4852-4857.

[5] MELO S,SUGIMOTO H,O'CONNELL J,*et al*. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*,2014,26(5):707-721.

[6] SKOG J,WÜRDINGER T,VAN R S,*et al*. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers[J]. *Nat Cell Biol*,2008,10(12):1470-1476.

[7] JOHNSTONE R M,ADAM M,HAMMOND J R,*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.

[8] YANG C,ROBBINS P D. The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis[J]. *Clin Dev Immunol*,2011,2011:842849.

[9] THÉRY C,OSTROWSKI M,SEGURA E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*,2009,9(8):581-593.

[10] THÉRY C,ZITVOGEL L,AMIGORENA S. Exosomes: composition,biogenesis and function[J]. *Nat Rev Immunol*,2002,2(8):569-579.

[11] KAHLERT C,KALLURI R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis[J]. *J Mol Med*,2013,91(4):431-437.

[12] ZHOU M,CHEN J,ZHOU L,*et al*. Pancreatic cancer derived exosomes regulate the expression of TLR4 in dendritic cells via miR-

203[J]. *Cell Immunol*,2014,292(1/2):65-69.

[13] CORCORAN C,FRIEL A M,DUFFY M J,*et al*. Intracellular and extracellular microRNAs in breast cancer[J]. *Clin Chem*,2011,57(1):18-32.

[14] NILSSON J,SKOG J,NORDSTRAND A,*et al*. Prostate cancer-derived urine exosomes:a novel approach to biomarkers for prostate cancer[J]. *Br J Cancer*,2009,100(10):1603-1607.

[15] SZAJNIK M,DERBIS M,LACH M,*et al*. Exosomes in plasma of patients with ovarian carcinoma:potential biomarkers of tumor progression and response to therapy[J]. *Gynecology & Obstetrics*,2013(Suppl 4):3.

[16] WHITESIDE T L. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour-derived exosomes)[J]. *Biochem Soc Trans*,2013,41(1):245-251.

[17] LIS R,TOUBOUL C,RAYNAUD C M,*et al*. Mesenchymal cell interaction with ovarian cancer cells triggers pro-metastatic properties[J]. *PLoS One*,2012,7(5):e38340.

[18] SAFAEI R,LARSON B J,CHENG T C,*et al*. Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells[J]. *Mol Cancer Ther*,2005,4(10):1595-1604.

[19] PARKIN D M,BRAY F,FERLAY J,*et al*. Global cancer statistics,2002[J]. *Ca Cancer J Clin*,2005,55(2):74-108.

[20] GALVÁN J A,ZLOBEC I,WARTENBERG M,*et al*. Expression of E-cadherin repressors SNAIL,ZEB1 and ZEB2 by tumour and stromal cells influences tumour-budding phenotype and suggests heterogeneity of stromal cells in pancreatic cancer[J]. *Br J Cancer*,2015,112(12):1944-1950.

[21] KALLURI R,WEINBERG R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*,2009,119(6):1420-1428.

[22] LEE M Y,SHEN M R. Epithelial-mesenchymal transition in cervical carcinoma[J]. *Am J Transl Res*,2012,4(1):1-13.

[23] IWATSUKI M,MIMORI K,YOKOBORI T,*et al*. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance[J]. *Cancer Sci*,2010,101(2):293-299.

[24] 易红艳,周琛斐,梁莉,等.宫颈癌细胞分泌外泌体介导上皮-间质转化提高癌前细胞侵袭能力的体外研究[J].现代妇产科进展,2017,26(3):165-168.

[25] MACHIDA T,TOMOFUJI T,MARUYAMA T,*et al*. miR-1246 and miR-4644 in salivary exosome as potential biomarkers for pancreatobiliary tract cancer[J]. *Oncol Rep*,2016,36(4):2375-2381.

[26] BARAN J,BAJ-KRZYWORZEKA M,WEGLARCZYK K,*et al*. Circulating tumour-derived microvesicles in plasma of gastric cancer patients[J]. *Cancer Immunol Immunother*,2010,59(6):841-850.

[27] TAYLOR D D,GERCEL-TAYLOR C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*,2008,110(1):13-21.

[28] LIU J,SUN H,WANG X,*et al*. Increased exosomal microRNA-21 and microRNA-146a levels in the cervicovaginal lavage specimens of patients with cervical cancer[J]. *Int J Mol Sci*,2014,15(1):758-773.

[29] 邓欢,李政,李文超,等.314 例Ⅰb ~ Ⅱa 期宫颈癌预后及淋巴结转移危险因素研究[J].中国肿瘤临床,2012,39(10):711-714.

[30] 孙晋瑞,张彦娜,冯淑瑜,等.Ⅰb ~ Ⅱa 期子宫颈癌预后分析[J].中华妇产科杂志,2010,45(3):224-226.

[31] ZHU W,HUANG L,LI Y,*et al*. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth *in vivo*[J]. *Cancer Lett*,2012,315(1):28-37.

[32] UMEZU T,OHYASHIKI K,KURODA M,*et al*. Leukemia cell to endothelial cell communication via exosomal miRNAs[J]. *Oncogene*,2013,32(22):2747-2755.

[33] COSTA-SILVA B,AIELLO N M,OCEAN A J,*et al*. Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver[J]. *Nat Cell Biol*,2015,17(6):816-826.

[34] BARONI S,ROMERO-CORDOBA S,PLANTAMURA I,*et al*. Exosome-mediated delivery of miR-9 induces cancer-associated fibroblast-like properties in human breast fibroblasts[J]. *Cell Death Dis*,2016,7(7):e2312.

[35] AROMSEREE S,MIDDELDROP J M,PIENTONG C,*et al*. High levels of EBV-encoded RNA 1 (EBER1) trigger interferon and inflammation-related genes in keratinocytes expressing HPV16 E6/E7[J]. *PLoS One*,2017,12(1):e0169290.

[36] ZHANG J,LIU S C,LUO X H,*et al*. Exosomal long noncoding RNAs are differentially expressed in the cervicovaginal lavage samples of cervical cancer patients[J]. *J Clin Lab Anal*,2016,30(6):1116-1121.

[37] NAGAMITSU Y,NISHI H,SASAKI T,*et al*. Profiling analysis of circulating microRNA expression in cervical cancer[J]. *Mol Clin Oncol*,2016,5(1):189-194.

[38] MARLEAU A M,CHEN C S,JOYCE J A,*et al*. Exosome removal as a therapeutic adjuvant in cancer[J]. *J Transl Med*,2012,10(1):134.

[39] TICKNER J A,URQUHART A J,STEPHENSON S A,*et al*. Functions and therapeutic roles of exosomes in cancer[J]. *Front Oncol*,2014,4:127.

[40] 李思迪,侯信,亓洪昭,等.外泌体:为高效药物投递策略提供天然的内源性纳米载体[J].化学进展,2016,28(2/3):353-362.

(本文编辑:李胜利)