



另一方面,MCs 释放的血管生成因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和免疫抑制性细胞因子可为肿瘤提供支持性环境<sup>[20]</sup>。有研究发现,在重现细胞间接触的条件下,癌细胞不但可以直接激活 MCs,其驱动的 EV 还具有激活肿瘤周围 MCs 的可能性<sup>[21-22]</sup>。以上研究说明,肿瘤源性 EV 可以通过多种途径作用于多种免疫细胞,使机体免疫功能受到抑制,从而促进肿瘤的发展。

## 2.2 EV 介导的特殊蛋白传递促进 PC 的转移

WEI 等<sup>[23]</sup>研究发现,酪氨酸激酶 Eph 受体 A2 (tyrosine kinase Eph receptor A2, EphA2) 在高转移 PC 细胞 Panc-1 的外泌体中过表达,且 EphA2 可提高 PC 细胞的迁移能力。CHE 等<sup>[24]</sup>研究发现,从表达组织因子的胰腺肿瘤细胞株中获得的 EV 可通过产生活化因子 X 和裂解蛋白酶激活受体-1 激活静息的内皮细胞,上调 E-选择素并诱导 IL-8 分泌,将静息的内皮细胞转化为活化的表型从而促进胰腺肿瘤细胞转移。有研究发现,PC 细胞 PK-45H 释放的 EV 可增强 PK-45P 细胞 MAPK 通路的磷酸化,并通过 MAPK 依赖途径刺激 PK-45P 细胞迁移,提示 PC 细胞释放的 EV 可作用于周围其他 PC 细胞,这可能是 TME 中肿瘤细胞转移的重要诱因<sup>[25]</sup>。

**2.3 EV 促进肿瘤血管形成** 血管生成是从现有的内皮细胞中生成新的血管,并向肿瘤组织提供充足氧气和营养的过程,在肿瘤的生长和转移中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。有研究发现,将人微血管内皮细胞(human microvascular endothelial cell, HMVEC)暴露于 PC 细胞系 PANC-1 衍生的携带 miR-27a 的外泌体中,携带 miR-27a 的 PC 细胞来源的外泌体可促进 HMVEC 的增殖、侵袭和血管生成;而将敲除 miR-27a 基因的 PANC-1 细胞植入裸鼠体内后,可抑制裸鼠体内 PC 肿瘤的形成和微血管密度,由此可见,携带 miR-27a 的细胞源性外泌体在 PC 血管生成中起着促进作用<sup>[27]</sup>。另有研究发现,与敲除膜联蛋白 A1 (annexin A1, ANXA1) 的 PC 细胞 MIA paca-2 相比,野生型 MIA paca-2 细胞能释放更多富含外泌体的 EV,且细胞的迁移和侵袭能力更强;而与野生型 MIA paca-2 细胞释放的 EV 共培养后,敲除 ANXA1 的 MIA paca-2 细胞迁移和侵袭能力会显著提高,且 HMVEC 生成的更快,提示 EV 相关的 ANXA1 能够促进 PC 细胞迁移、侵袭和血管生成<sup>[28]</sup>。COSTA-SILVA 等<sup>[29]</sup>研究发现,与未发生转移的胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)患者相比,发生肝脏转移的 PDAS 患者的外泌体中巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)表达较高,其机制可能为库普弗细胞(肝巨噬细胞)摄取 PDAC 衍生的外泌体,导致肝星状细胞分

泌转化生长因子- $\beta$  和上调纤维连接蛋白的表达,这种纤维化的微环境增强了骨髓源性巨噬细胞的募集,使促炎细胞因子 MIF 水平升高,促进肿瘤血管生成和增殖,从而导致肝转移。

## 3 EV 在 PC 诊断中的作用

EV 是一种有前景的人类肿瘤诊断生物标志物。研究发现, EV 蛋白标记物磷脂酰肌醇蛋白聚糖-1 (glypican-1, GPC-1) 单独或联合其他蛋白标记物,如表皮生长因子受体、上皮细胞黏附分子,可用于诊断 PDAC<sup>[30]</sup>。MELO 等<sup>[8]</sup>研究发现, GPC-1 特异性地富集在癌细胞来源的外泌体上, PC 患者血清中 GPC-1 联合循环外泌体(circulating exosomes, crExos)具有绝对特异性和敏感性,可用于鉴别诊断健康人、胰腺良性疾病患者与早、晚期 PC 患者,提示 GPC-1 联合 crExos 可能作为一种潜在的非侵入性诊断和筛查工具来检测早期 PC。但 LUCIEN 等<sup>[31]</sup>研究发现, PDAC 患者血液中的 GPC-1 阳性 EV 和糖蛋白 2/GPC-1 阳性 EV 均有不同程度的表达,且与良性胰腺疾病患者比较差异无统计学意义,认为 GPC-1 阳性 EV 单独或联合糖蛋白 2 不能有效区分良性胰腺疾病患者和 PC。因此,关于 GPC-1 是否可以成为 PC 诊断的生物标志物,仍需进一步研究。

SHIN 等<sup>[32]</sup>研究发现,转染碱性磷酸酶胎盘样蛋白 2 的 PDAC panc-1 细胞的生长和侵袭能力高于未转染的 panc-1 细胞,且碱性磷酸酶胎盘样蛋白 2 在 panc-1 细胞中呈阳性表达,而在胰腺正常导管上皮细胞中未表达,提示碱性磷酸酶胎盘样蛋白可作为早期诊断 PDAC 的生物标志物。LECA 等<sup>[33]</sup>研究发现,膜联蛋白 A6/低密度脂蛋白受体相关蛋白 1/血小板反应素 1 复合物可使 PDAC 细胞的侵袭能力提高,而 PDAC 相关成纤维细胞中缺乏 ANXA6 会抑制该复合体的形成,进而抑制 PDAC 的侵袭和转移,同时还发现膜联蛋白 A6<sup>+</sup> EV 仅存在于 PDAC 患者的血清中,提示膜联蛋白 A6 可作为 PDAC 诊断的潜在生物标志物。

## 4 EV 参与 PC 化学治疗耐药的诱导

吉西他滨(gemcitabine, GEM)单药或联合用药仍是 PC 化学治疗的一线方案,但患者对药物的耐药性是目前影响 PC 治疗效果的关键因素之一<sup>[34]</sup>。有研究发现,使用 GEM 干预 PC 相关成纤维细胞后,外泌体的释放显著增加;将 PC 相关成纤维细胞释放的外泌体与 PC 细胞共培养后发现, PC 细胞中耐药诱导因子 Snail 的表达和 PC 细胞的增殖能力升高;而用外泌体释放抑制剂 GW4869 干预 PC 相关成纤维细胞后,可显著降低该细胞的存活率,表明

癌相关成纤维细胞外泌体在 PC 化学治疗耐药中起促进作用,也显示了外泌体抑制剂与化学治疗药物联合克服 PDAC 化学治疗耐药的潜力<sup>[35]</sup>。YANG 等<sup>[36]</sup>研究发现,GEM 抗性 PC 细胞来源的外泌体可通过 miR-210 介导 GEM 敏感的 PC 细胞的耐药性。

FAN 等<sup>[37]</sup>从 3 株表现出不同程度 GEM 耐药的 PC 细胞系(panc-1、MIA-PaCa-2 和 BxPC-3)中分离出外泌体,检测外泌体在这些细胞系间的耐药性传播能力,结果显示,耐药性 PANC-1 细胞的外泌体增加了 MIA PaCa-2 和 BxPC-3 细胞的 GEM 抗性;与 MIA PaCa-2 和 BxPC-3 细胞相比,panc-1 细胞的外泌体过表达了外泌体 EphA2;在 panc-1 细胞中,敲除 EphA2 基因抑制了其向 MIA-PaCa-2 和 BxPC-3 细胞传递外泌体介导的耐药性;表明外泌体 EphA2 可以传递耐药性。

5 EV 在 PC 中的潜在治疗作用

KIMURA 等<sup>[38]</sup>研究发现,不同表位的抗分泌细胞骨架相关蛋白 4(cytoskeleton-associated protein 4, CKAP4)单抗对 Dickkopf1 和 CKAP4 的结合、蛋白激酶 B 活性以及 PDAC 细胞的增殖和迁移均有抑制作用,且具有良好的抗肿瘤效果,因此推测抗 CKAP4 单抗可用于 PC 的分子靶向治疗和辅助诊断。YING 等<sup>[39]</sup>研究发现,肿瘤常见致癌基因 KRAS 的突变形式是 PC 的关键驱动因素,同时也是一个具有挑战性的 PC 治疗靶点。KAMERKAR 等<sup>[40]</sup>将来自正常成纤维细胞样间充质细胞的外泌体设计成携带短干扰 RNA 或短发夹 RNA(工程外泌体),可靶向于特异性致癌基因 KrasG12D(这是 PC 中常见的突变基因)。研究发现,工程外泌体治疗可显著抑制 PC 小鼠肿瘤生长并显著提高小鼠的总生存率,此研究提供了一种使用工程外泌体直接和特异性靶向 PC 中致癌基因 KRAS 的方法<sup>[40]</sup>。

6 小结

EV 在介导 PC 进展和转移中发挥多重作用,可作为治疗 PC 的潜在靶点。尽管大量研究都强调了 EV 在胰腺组织生理和病理条件下的潜在重要作用,但其作为 PC 早期诊断的生物标志物的相关性研究仍非常局限。这在很大程度上是由于分离高浓度 EV 存在困难性。目前,关于 EV 的研究面临的主要挑战之一是缺乏标准化和特征化的分离方法,因此,开拓高质量、标准化的 EV 的提取方法,是 EV 研究中最亟待解决的问题。

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] RAWLA P, SUNKARA T, GADUPUTI V. Epidemiology of pancreatic cancer; global trends, etiology and risk factors[J]. *World J Oncol*, 2019, 10(1):10-27.

[3] ZABOROWSKI M P, BALAJ L, BREAKFIELD X O, et al. Extracellular vesicles: composition, biological relevance, and methods of study[J]. *Bioscience*, 2015, 65(8):783-797.

[4] HEIJNEN H F, SCHIEL A E, FIJNHEER R, et al. Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha-granules[J]. *Blood*, 1999, 94(11):3791-3799.

[5] LOWRY M C, GALLAGHER W M, O'DRISCOLL L. The role of exosomes in breast cancer[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(12):1457-1465.

[6] YANG N, LI S, LI G, et al. The role of extracellular vesicles in mediating progression, metastasis and potential treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):3683-3695.

[7] KALLURI R. The biology and function of exosomes in cancer[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1208-1215.

[8] MELO S A, LUECKE L B, KAHLERT C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, 523(7559):177-182.

[9] MELO S A, SUGIMOTO H, O'CONNELL J T, et al. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5):707-721.

[10] THÉRY C. Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications[J]. *F1000 Biol Rep*. 2011, 3:15.

[11] WHITESIDE T L. Exosomes and tumor-mediated immune suppression[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1216-1223.

[12] VAHIDIA F, DUIJF P H G, SAFARZADEH E, et al. Interactions between cancer stem cells, immune system and some environmental components: friends or foes[J]. *Immunol Lett*, 2019, 208:19-29.

[13] RAUTELA J, DAGLEY L F, SCHUSTER I S, et al. Therapeutic blockade of activin-A improves NK cell function and antitumor immunity[J]. *Sci Signal*, 2019, 12(596):eaat7527.

[14] MAMESSIER E, SYLVAIN A, THIBULT M L, et al. Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9):3609-3622.

[15] PLATONOVA S, CHERFILS-VICINI J, DAMOTTE D, et al. Profound coordinated alterations of intratumoral NK cell phenotype and function in lung carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(16):5412-5422.

[16] ZHAO J, SCHLOBER H A, WANG Z, et al. Tumor-derived extracellular vesicles inhibit natural killer cell function in pancreatic cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6):874.

[17] SHEN T, HUANG Z, SHI C, et al. Pancreatic cancer-derived exosomes induce apoptosis of T lymphocytes through the p38 MAPK-mediated endoplasmic reticulum stress[J]. *FASEB J*, 2020, 34(6):8442-8458.

[18] LUNDEQUIST A, PEJLER G. Biological implications of preformed mast cell mediators[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(6):965-975.

[19] MOON T C, BEFUS A D, KULKA M. Mast cell mediators: their differential release and the secretory pathways involved[J]. *Front Immunol*, 2014, 5:569.

[20] KRSTEL-WHITTEMORE M, DILEEPAN K N, WOOD J G. Mast cell: a multi-functional master cell[J]. *Front Immunol*, 2016, 6:620.

[21] GORZACZANY Y, AKIVA E, KLEIN O, *et al.* Mast cells are directly activated by contact with cancer cells by a mechanism involving autocrine formation of adenosine and autocrine/paracrine signaling of the adenosine A3 receptor [J]. *Cancer Lett*, 2017, 397:23-32.

[22] GORZALCZANY Y, MERIMSKY O, SAGI-EISENBERG R. Mast cells are directly activated by cancer cell-derived extracellular vesicles by a CD73<sup>-</sup> and adenosine-dependent mechanism [J]. *Transl Oncol*, 2019, 12 (12) :1549-1556.

[23] WEI Q, WEI L, ZHANG J, *et al.* EphA2 enriched exosomes promote cell migration and are a potential diagnostic serum marker in pancreatic cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22 (4) :2941-2947.

[24] CHE S P Y, PARK J Y, STOKOL T. Tissue factor-expressing tumor-derived extracellular vesicles activate quiescent endothelial cells via protease-activated receptor-1 [J]. *Front Oncol*, 2017, 7: 261.

[25] CHIBA M, KUBOTA S, SAKAI A, *et al.* Cell-to-cell communication via extracellular vesicles among human pancreatic cancer cells derived from the same patient [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18 (4) : 3989-3996.

[26] LI M, ZHANG F, SU Y, *et al.* Nanoparticles designed to regulate tumor microenvironment for cancer therapy [J]. *Life Sci*, 2018, 201:37-44.

[27] SHANG D, XIE C, HU J, *et al.* Pancreatic cancer cell-derived exosomal microRNA-27a promotes angiogenesis of human microvascular endothelial cells in pancreatic cancer via BTG2 [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24 (1) :588-604.

[28] PESSOLANO E, BELVEDERE R, BIZZARRO V, *et al.* Annexin A1 may induce pancreatic cancer progression as a key player of extracellular vesicles effects as evidenced in the *in vitro* MIA PaCa-2 model system [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (12) :3878.

[29] 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) :816-26.

[30] YU S, LI Y, LIAO Z, *et al.* Plasma extracellular vesicle long RNA profiling identifies a diagnostic signature for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Gut*, 2020, 69 (3) :540-550.

[31] LUCIEN F, LAC V, BILLADEAU D D, *et al.* Glypican-1 and glycoprotein 2 bearing extracellular vesicles do not discern pancreatic cancer from benign pancreatic diseases [J]. *Oncotarget*, 2019, 10 (10) :1045-1055.

[32] SHIN H S, JUNG S B, PARK S, *et al.* ALPPL2 is a potential diagnostic biomarker for pancreatic cancer-derived extracellular vesicles [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 15:204-210.

[33] LECA J, MARTINEZ S, LAC S, *et al.* Cancer-associated fibroblast-derived annexin A6<sup>+</sup> extracellular vesicles support pancreatic cancer aggressiveness [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (11) :4140-4156.

[34] WEIZMAN N, KRELIN Y, SHABTAY-ORBACH A, *et al.* Macrophages mediate gemcitabine resistance of pancreatic adenocarcinoma by upregulating cytidine deaminase [J]. *Oncogene*, 2014, 33 (29) :3812-3819.

[35] RICHARDS K E, ZELENIAK A E, FISHEL M L, *et al.* Cancer-associated fibroblast exosomes regulate survival and proliferation of pancreatic cancer cells [J]. *Oncogene*, 2017, 36 (13) :1770-1778.

[36] YANG Z, ZHAO N, CUI J, *et al.* Exosomes derived from cancer stem cells of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells enhance drug resistance by delivering miR-210 [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2020, 43 (1) :123-136.

[37] FAN J, WEI Q, KOAY E J, *et al.* Chemoresistance transmission via exosome-mediated EphA2 transfer in pancreatic cancer [J]. *Theranostics*, 2018, 8 (21) :5986-5994.

[38] KIMURA H, YAMAMOTO H, HARADA T, *et al.* CKAP4, a DKK1 receptor, is a biomarker in exosomes derived from pancreatic cancer and a molecular target for therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25 (6) :1936-1947.

[39] YING H, KIMMELMAN A C, LYSSIOTIS C A, *et al.* Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism [J]. *Cell*, 2012, 149 (3) :656-670.

[40] KAMERKAR S, LEBLEU V S, SUGIMOTO H, *et al.* Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2017, 546 (7659) :498-503.

( 本文编辑:郭 潇 )

( 上接第 892 页 )

[19] MA J, LIU H, WANG X. Effect of ginseng polysaccharides and dendritic cells on the balance of Th1/Th2 T helper cells in patients with non-small cell lung cancer [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34 (6) :641-645.

[20] HWANG I, AHN G, PARK E, *et al.* An acidic polysaccharide of *Panax ginseng* ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces regulatory T cells [J]. *Immunol Lett*, 2011, 138 (2) :169-178.

[21] 计竹娃. 人参多糖的提取及其对帕金森病小鼠的神经保护作用的研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2020.

[22] SUN Y, GUO M, FENG Y, *et al.* Effect of ginseng polysaccharides on NK cell cytotoxicity in immunosuppressed mice [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12 (6) :3773-3777.

[23] WANG K, ZHANG H, HAN Q, *et al.* Effects of astragalus and ginseng polysaccharides on growth performance, immune function and intestinal barrier in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2020, 104 (4) :1096-1105.

[24] 王璐, 孙小虎, 刘春娜, 等. 人参多糖通过下调炎症因子及 AKT 防治结肠癌的研究 [J]. *重庆医学*, 2020, 49 (22) :3693-3697.

[25] BYEON S E, LEE J, KIM J H, *et al.* Molecular mechanism of macrophage activation by red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng [J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012:732860.

[26] WILSON S A, WONG M H, STRYJECKI C, *et al.* Unraveling the adipocyte inflammomodulatory pathways activated by North American ginseng [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2013, 37 (3) :350-356.

[27] 韩旭萌, 焦明丽, 詹合琴. 藤黄酸作用靶点及相关信号通路研究进展 [J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37 (7) :696-701.

[28] KIM H N, KIM H W, YU K W, *et al.* Polysaccharides fractionated from enzyme digests of Korean red ginseng water extracts enhance the immunostimulatory activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121:913-920.

[29] REYES A W, SIMBORIO H L, HOP H T, *et al.* Inhibitory effect of red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng on phagocytic activity and intracellular replication of *Brucella abortus* in RAW 264.7 cells [J]. *J Vet Sci*, 2016, 17 (3) :315-321.

[30] ZHOU H, YAN Y, ZHANG X, *et al.* Ginseng polysaccharide inhibits MDA-MB-231 cell proliferation by activating the inflammatory response [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20 (6) :229.

( 本文编辑:周二强 )