



外泌体在肝癌诊疗中的应用进展

陈荣如 左建宏 (南华大学附属南华医院 湖南衡阳 421001)

摘要: 外泌体(exosomes)是一种微小囊泡,能被包括肿瘤在内的机体细胞分泌,外泌体的内容物包括有蛋白、脂质和核酸及病毒等,可参与多种生理及病理过程如免疫应答、抗原提呈、细胞间通讯以及物质转运等,是一种重要的细胞间物质交换和信息交流工具。肿瘤细胞释放外泌体与正常细胞的水平有明显差异,且能特定靶向细胞。提示,外泌体可能用于肿瘤早期诊断和靶向治疗。本文就外泌体在肝癌诊断和预后评估中的最新研究进展进行综述。

关键词: 外泌体 肝癌 诊断和治疗

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187(2019)03-327-03

Abstract: Exosomes is a kind of small vesicles, can be the body's cells, including tumor, secrete body outside the contents including proteins, lipids and nucleic acid and viruses, etc., can participate in various physiological and pathological processes such as immune response, antigen presenting, intercellular communication and transport, etc., is a kind of important material exchange between cells and communication tools. The level of exosomes released by tumor cells was significantly different from that of normal cells, and specific cells could be targeted. It suggests that exosomes may be useful for early diagnosis and targeted therapy of tumors. This article reviews the latest advances in exosome detection and its application in the diagnosis and prognosis of liver cancer.

Key words: Exosome; liver cancer; diagnosis and treat

肝癌是一种恶性程度高、病死率高,容易早期转移,且复发率高的恶性肿瘤,其容易对化疗药物产生耐药,导致化疗疗效欠佳。肝癌的主要致病因素有病毒感染、大量饮酒、长期进食黄曲霉污染食物及寄生虫、遗传因素及化学毒物等,目前HBV感染被认为最主要的HCC危险因素。血清AFP检测、肝脏彩超、CT等影像学方法及肝活检是目前肝癌诊断的主要方法,而AFP检测用于诊断及复发评估敏感性低。目前治疗肝癌最好的方法是早期手术切除治疗,但肝癌早期症状不明显,待出现明显症状的时候多已经处于中晚期,失去了最佳治疗的时机。因此,早期诊疗的肝癌方法非常重要。

外泌体(Exosomes),是一种能被包括肿瘤在内的机体细胞分泌的微小膜泡,具有脂质双层膜结构,直径大约为40-100nm,可通过胞吐从细胞内释放至细胞外。细胞外泌体具有与细胞相同的拓扑结构,这种微小膜泡中含有大量细胞特异性蛋白、核酸和脂质等生物活性物质,研究表明,外泌体可以细胞之间传递信息和物质交换从而改变靶细胞的功能。近期大量研究发现外泌体广泛参与细胞信号传递、免疫抗原呈递、肿瘤发生与转移及化疗耐药、血管生成、免疫调节、组织损伤与修复等过程。外泌体具有脂质双层结构,能保护内含物质不被酶解,且能靶向特定细胞或组织。因此,外泌体可能成为肝癌早期诊断及靶向给药治疗的方法。

1 外泌体在肿瘤中作用

外泌体在肿瘤的生长、促进肿瘤转移及耐药性过程中起重要作用。肿瘤细胞分泌的外泌体可通过内分泌、旁分泌及自分泌的方式被其他细胞及组织内化,改变其他细胞及组织的生长及分化,进而促进肿瘤的生长和转移。研究表明癌细胞来源的外泌体,能够抑制自然杀伤细胞和T细胞的细胞毒作用,促进肿瘤生长^[24, 25]。研究表明肿瘤生长受多种生长因子受体调控,可通过活化Akt、PKC/PKB等信号通路来促进肿瘤增长与转移。研究报道发现骨髓间充质干细胞来源的外泌体,可以运输miRNA、蛋白质及细胞代谢物,通过激活Akt及PKB信号通路来促进胃癌增长和转移^[1]。总之,外泌体是肿瘤微环境中的一个重要组分,参与了细胞间信号转导、基因调控及促进血管生成,促进肿瘤生长和转移。因此外泌体的研究为肿瘤的诊疗创造了新的方向。

2 外泌体在肝癌发展中的作用

2.1 外泌体与肝癌

外泌体与肝癌的生长和发展密切相关。在肝癌发展过程中,促进肿瘤进展的外泌体多于抑制肿瘤的外泌体,导致肝癌发生^[20]。外泌体也可以通过促进肝炎病毒复制及介导病毒免疫逃逸,

肝炎病毒慢性感染从而促进肝硬化及肝癌发生^[21]。外泌体运载核酸及蛋白等内容物参与细胞间物质交换机信号传统,调节肝癌微环境。如,Becker等研究报道,肝癌细胞可以分泌外泌体促进癌细胞生长与浸润^[21]。外泌体可以通过受体-配体相互作用,被受体识别激活信号通路,外泌体入其他细胞内,主要是通过吞噬、胞饮、融合、内化等多种机制。研究报道,外泌体能调节细胞因子及信号通路促进血管生成^[13-15],从而介导肝癌细胞的生长及远处迁移。外泌体也可以通过调节细胞因子及信号通路使得肝癌对化疗耐药。

2.2 外泌体促进肝癌血管生成

肝癌的生长及转移具有很强血管依赖性。外泌体与多种血管生成因子促进了血管生成,进而促进肝癌及生长及转移。Lin等研究报道,肝癌细胞外泌体miR-210进入皮细胞,通过靶向SMAD4和STAT6促进血管生成^[17]。研究报道,缺氧/营养缺乏可诱导肿瘤干细胞自我更新,驱动血管生成^[18]。在缺氧状态下的骨髓瘤(HR-MM)细胞能分泌更多的外泌体,而HR-MM细胞外泌体抑制内皮细胞的Flk-1因子,调节信号通路促进了血管形成^[19]。Matsuura等研究发现,缺氧状态下HCC外泌体miR-155高表达,高表达的miR-155还能诱导肝癌血管生成,并且与术后复发有关^[27]。

2.3 外泌体介导肝癌细胞增殖与转移

外泌体miRNA与肝癌细胞的生长与增殖有关。如,Zhang等研究发现,miR-155能靶向ARID2促进肝癌细胞增殖,并且可以通过Akt磷酸抑制肿瘤细胞凋亡,进而使肝癌细胞生长不受限制^[28]。Zhou等报道,转移性乳腺癌细胞分泌外泌体miR-105通过靶向紧密连接蛋白ZO-1,降低了内皮细胞的完整性及紧密连接,使血管通透性增加,导致癌细胞向远处器官转移^[22]。Li等研究发现,肝癌细胞来源的外泌体中LOXL4高表达,通过激活FAK/Scr通路,促进肝癌转移,并且其表达与预后相关,提示LOXL4蛋白可能是肝癌治疗的一个潜在治疗靶点^[26]。Fang等人研究发现,高表达的miR-103的肝癌细胞,血管通透性增加。其机制是HCC分泌的miR-103通过外泌体转移至内皮细胞,抑制VE-Cad、p120和zonula的表达,使内皮连接的完整性鉴定,促进肝癌细胞转移^[16],提示肝癌细胞分泌的miR-103是潜在的治疗靶标和肝癌转移的预测标记物。

2.4 外泌体介导病毒免疫逃逸

目前肝癌主要是因肝炎病毒感染引起,外泌体可促进病毒复制、介导病毒免疫逃逸,因此研究外泌体肝病发展机制具有重要意义。研究发现外泌体可以装载及运输病毒。有报道显示,在EB病毒转染的B细胞分泌的外泌体中能够检测出EB病毒的miRNA。



而在我国肝炎病毒感染仍是目前导致肝癌的主要原因。外泌体参与了乙肝病毒和丙肝病毒的感染及释放,如,Kouwaki 等通过动物模型研究发现,可以在 HBV 感染的肝细胞释放等外泌体内检测出病毒核酸,HBV 感染早期诱导肝干扰素 IFN- γ 的表达,且 HBV 感染肝细胞促进外泌体 mi-RNA 水平,转移至巨噬细胞,抑制巨噬细胞中 IL-12p35 的 mRNA 表达,抵抗宿主的抗 HBV 的先天免疫反应^[23]。Ramakrishnaiah 等研究报道,可以从感染 HCV 的人肝癌 Huh7.5.1 细胞中分离出丙肝病毒 RNA,提示外泌体可以介导 HCV RNA 在肝癌细胞间传递,感染其他未感染病毒的 Huh7.5.1 细胞,并且外泌体还能中和抗 HCV 抗体^[10]。由此可见,外泌体介导肝炎病毒逃避机体免疫,从而导致 HCV 持续感染。

3 外泌体与肝癌诊断

研究证明外泌体内包裹的核酸及蛋白质与细胞内对比有显著差异,肿瘤源性外泌体对核酸等内容物包装的选择性和不同肿瘤来源有一定联系。由于外泌体有双层结构的脂质保护作用,其内容物不易被酶解,外泌体具有一定的稳定性。且外泌体可以在多种体液中被检测到,因此肿瘤来源的外泌体可能用于外泌体非侵入性的肿瘤筛查和预后评估。研究表明,Liu 等发现在 HCC 中,外泌体 miR-10b、miR-122、miR-200a 可作为非病毒感染性肝癌和肝硬化鉴别的筛选^[2]。在外泌体与肝细胞癌复发的研究中,Sugimachi 等研究发现,肝移植后肝者癌复发患者血清中 miR-718 与未复发者比较有显著差异,miR-718 能抑制肿瘤细胞增殖,提示 miR-718 的表达与 HCC 的复发及预后有关^[11]。Wang 等通过研究 miR-21 在乙肝患者及 HCC 病人血清中的表达情况,发现肝癌外泌体中的 miR-21 的水平明显高于血清中的浓度,肝癌血清 miR-21 浓度又比肝炎患者及正常人对照组高,并且经统计分析 miR-21 的水平与肝硬化及肿瘤分期有关。这提示外泌体 miR-21 的检测灵敏度相对更高,可能成为早期肝癌诊断标志物^[9]。除 miR-21,其他肝癌外泌体 miRNA 也有报道,如肝癌血清源性的外泌体 miR-18a、miR-221、miR-222 及 miR-224 的浓度较肝炎及肝硬化组明显升高,但 miR-101、miR-106b、miR-122 及 miR-195 的含量较肝癌及肝硬化组却降低^[4]。研究结果存在差异可能与标本大小、肿瘤及肝硬化分期和检测方法的差异有关。

4 外泌体与肝癌耐药性

目前肝癌化疗疗效差,对化疗药物耐药是主要原因。研究发现,在肿瘤微环境中,外泌体运输的 RNA 及蛋白质在肿瘤的耐药性的息息相关。其主要机制是,外泌体作为媒介,在肿瘤耐药细胞及敏感细胞治疗传递核酸及蛋白等物质及信息,使得化疗敏感细胞耐药^[1]。Takahashi 等研究发现,肝癌源性外泌体介导 lncRNA-ROR 可以通过调节转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β),减少化疗诱导的细胞凋亡,从而降低了 HCC 对索拉非尼及阿霉素的敏感性^[8]。而 QU 等研究发现,肝癌细胞外泌体主要通过调节 HGF/c-Met/Akt 信号通路对索拉非尼耐药^[12]。在乳腺癌外泌体耐药的研究中发现,外泌体介导多西他赛耐药突变体 (MCF-7/S) 细胞在与药物敏感突变体共培养后,药物敏感细胞中的 P-糖蛋白表达量明显升高,提示外泌体可以介导乳腺癌细胞耐药性的传递,从而导致乳腺对多西他赛的耐药性^[9]。

5 外泌体与肝癌治疗

外泌体能承载核酸和蛋白等内容物,且能在细胞之间进行物质交换和信息传递作用,为肝癌的疗法提供了可行性。外泌体治疗肝癌的方式为免疫治疗及载体靶向治疗。外泌体免疫疗法是将肿瘤细胞特异性抗原激活树突状细胞,引发 T 细胞介导的免疫应答,从而达到治疗肿瘤的目的。Rao 等通过大量小鼠实验研究发现,外泌体可以激活树突状细胞,抑制小鼠肝癌细胞的生长,且肝癌细胞来源外泌体可携带 HCC 抗原,引发 DC 介导的免疫反应,改善 HCC 肿瘤微环境^[6]。人巨噬细胞来源的 miRNA 通过细胞间接触和间隙链接的方式转移至肝细胞影响肝癌细胞的增殖,从而抑制肿瘤的生长^[5]。利用外泌体的装载和运输功能,使肝癌靶向治疗成为可能。如 Kamerkar 等利用小鼠模型研究外泌体在胰腺癌的靶向

治疗,证实了携带 RNA 的外泌体通过巨噬体作用免受溶酶体的降解,能特异性靶向致癌的 Kras,从而抑制肿瘤生长,提高总体生存率^[7]。因此外泌体是一种潜在靶向治疗肝癌的方法。

6 结论

外泌体是一种能被包括肿瘤细胞在内的机体细胞分泌的脂质双层微小膜泡,可以参与细胞间信息传递及物质交换,外泌体内内容物能调控特定靶基因影响肝癌细胞生长及转移,并且可以通过免疫调节及靶向治疗肝癌。综上所述,外泌体有可能成为肝癌早期诊断及治疗的新方法。

参考文献

- [1]Vallabhaneni KC, Penforis P, Dhule S, et al. Extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem/stromal cells transport tumor regulatory microRNA, proteins, and metabolites. *Oncotarget* 2015;6:4953-4967.
- [2]Liu WH, Ren LN, Wang X, et al. Combination of exosomes and circulating microRNAs may serve as a promising tumor marker complementary to alpha-fetoprotein for early-stage hepatocellular carcinoma diagnosis in rats. *J. J. Cancer Res Clin Oncol* 2015;141: 1767-1778.
- [3]Wang H, Hou L, Li A, et al. Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int* 2014;2014:864894.
- [4]Sohn W, Kim J, Kang SH, et al. Serum exosomal miRNAs as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J. Exp Mol Med* 2015; 47:e184.
- [5]Aucher A, Rudnicka D. MicroRNAs transfer from human macrophages to hepatocarcinoma cells and inhibit proliferation. *J Immunol* 2013;191:6250-6260.
- [6]Rao Q, Zuo B, Lu Z, et al. Tumor-derived exosomes elicit tumor suppression in murine hepatocellular carcinoma models and humans in vitro. *J. Hepatology* 2016;64(2): 456-472.
- [7]Kamerkar S, LeBleu VS, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature* 2017;546:498-503.
- [8]Takahashi K, Yan IK, Kogure T, et al. Extracellular vesicle-mediated transfer of long non-coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer. *FEBS Open Bio* 2014;4:458-467.
- [9]Lv MM, Zhu XY, Chen WX, et al. Exosomes mediate drug resistance transfer in MCF-7 breast cancer cells and a probable mechanism is delivery of P-glycoprotein. *Tumour Biol* 2014;35:10773-10779.
- [10]Ramakrishnaiah V, Thumann C, Fofana I, et al. Exosome-mediated transmission of hepatitis C virus between human hepatoma Huh7.5 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:13109-13113.
- [11]Sugimachi K, Matsumura T, Hirata H, et al. Identification of a bona fide microRNA biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Br J Cancer* 2015;112:532-538.
- [12]Qu Z, Wu J, Wu J, et al. Exosomes derived from HCC cells induce sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma both in vivo and in vitro. *J Exp Clin Cancer Res* 2016;35:159.
- [13]Yao H, Liu N, Lin MC, et al. Positive feedback loop between cancer stem cells and angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J. Cancer Lett* 2016;379(2):213-219.
- [14]Hanna A, Shevde LA. Hedgehog signaling: modulation of cancer properties and tumor microenvironment. *J. Mol*

(下转第 330 页)



加强基础干预,有效控制患者的消化道出血量,在这一基础上减少并发症,改善预后,促使患者得到更加科学的护理,可辅助临床治疗,改善预后^[16]。护理人员在以人为本原则的引导下,加强临床护理服务,并缓解患者的负面情绪,有助于尽早康复^[17]。在护理的过程中能够有效指导患者加强锻炼,从而使自身的身体素质得到增强,还有利于避免压疮等并发症的产生^[18]。在消化道出血患者治疗的时候,需要明确其疾病发展的不同阶段的特点,根据这些特点在对患者治疗的时候有效采取对应有针对性的护理方式,明确患者住院治疗初期阶段中所具有的出血量,从而更好的处理患者的出血现象,根据患者出血量差异对患者的饮食与休息等方面实施较为严格的控制和管理,在这一过程中促使出血量比较大的患者可以有效保持卧床休息与禁食等状态,而对于出血量小患者则可以适量摄取流食,促使医护人员能够积极与患者沟通,帮助患者排解疑虑保持良好心态应对疾病治疗。

在患者的出血现象停止后督促患者适当运动,保持饮食的合理均衡,严格把控各个阶段临床护理的有效实施,在这一过程中充分保证护理的有效性 & 患者对于治疗的依从性等。对于消化道出血的患者采取科学有效的护理能够有效降低患者并发症的发生率,推动患者疾病知晓率和护理满意度得以提高^[19]。受消化道出血患者普遍起病骤急且疾病知识了解程度不够深刻的影响,存在引发恐惧和紧张等负面情绪的可能性,科学有效的护理模式在具体实施的时候主要是以患者负面情绪为切入点,实施相应的心理疏导推动患者心理压力,树立战胜疾病的自信心及意识,从而不断减轻患者心理压力,在传统的常规护理模式基础上对患者有效实施更加科学有效的护理模式,对患者护理服务质量的提升存在着重要影响,能够使得患者治疗的进程更加顺利推进,促使治疗进程顺利进行,进一步提高临床医护效果^[20]。

参考文献

- [1] 王明娟,刘静.评价综合性护理在上消化道出血护理中的应用效果[J].现代医药卫生,2019,35(05):751-753.
- [2] 何春玲.优质护理对胃镜治疗上消化道出血患者心理和生理的影响[J].中国现代药物应用,2019,13(05):165-166.
- [3] 孙兆秀.消化道出血行胃镜治疗患者的临床优质护理对策的研究[J].当代护士(中旬刊),2019,26(03):29-31.

[4] 徐波,段向平.舒适护理模式在上消化道出血患者护理中的应用效果[J].中外医学研究,2019,17(06):76-77.

[5] 王晓鑫.上消化道出血护理中阶段性健康教育价值探析[J].中国冶金工业医学杂志,2019,36(01):42-43.

[6] 于兰.分级护理干预对消化道出血患者再出血率的影响研究[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(14):239+241.

[7] 牛宏妍.临床护理路径在上消化道出血护理中的应用价值[J].中国医药指南,2019,17(03):281-282.

[8] 马炜炜.优质护理干预对肝硬化并上消化道出血的效果评价[J].中国医药指南,2019,17(03):205.[9] 余文艳.针对性护理对肝硬化合并上消化道出血的应用效果及安全性评价[J].中外医学研究,2019,17(03):98-100.

[10] 刘培燕.循证护理在上消化道出血急救中的应用[J].实用临床护理学电子杂志,2019,4(04):90-91.

[11] 邝文晶.针对性护理在肝硬化并上消化道出血患者中的应用效果[J].中国实用医药,2019,14(02):126-128.

[12] 陈秀萍.个体化护理应用于心肌梗死合并上消化道出血患者的临床效果[J].心血管病防治知识(学术版),2019(01):81-83.

[13] 刘玲.系统护理措施在上消化道出血患者中的应用效果[J].医疗装备,2019,32(01):199-200.

[14] 张雪玲.上消化道出血的护理经验总结[J].基层医学论坛,2019,23(03):434-435.

[15] 李霞.综合性护理在上消化道出血患者中的应用及效果[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(A4):310+318.

[16] 姜吉文.系统护理干预在上消化道出血护理中的临床观察[J].实用临床护理学电子杂志,2018,3(52):79-80.

[17] 孟凡敏.舒适护理在上消化道出血护理中的应用[J].实用临床护理学电子杂志,2018,3(52):155+157.

[18] 张静,沙丽雪,邵朋朋.上消化道出血护理中系统护理措施的应用效果[J].当代临床医刊,2018,31(06):4142-4143.

[19] 蔡娟.阶段性护理在肝硬化合并上消化道出血患者中的应用分析[J].中外医疗,2018,37(35):140-142.

[20] 徐继国.舒适护理在上消化道出血患者中的应用[J].中国现代药物应用,2018,12(22):165-166.

(上接第 328 页)

Cancer,2016,15: 24.

[15] Li X,Bhaduri-Mcintosh S. A central role for STAT3 in gammaherpesvirus-life cycle and-diseases[J/OL].Front Microbiol,2016[2016-08-20]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27458446.

[16] Fang JH,Zhang ZJ,Shang LR,et al.Hepatoma cell-secreted exosomal microRNA-103 increases vascular permeability and promotes metastasis by targeting junction proteins.Hepatology 2018;68:1459-1475.

[17] Lin XJ,Fang JH,Yang XJ,et al.Hepatocellular Carcinoma Cell-Secreted Exosomal MicroRNA-210 Promotes Angiogenesis In Vitro and In Vivo.Mol Ther Nucleic Acids 2018;11:243-252.

[18] Liu H.The functional role of exosome in hepatocellular carcinoma.J Cancer Res Clin Oncol 2018;144:2085-2095.

[19] Umez T,Tadokoro H,Azuma K,et al.Exosomal miR-135b shed from hypoxic multiple myeloma cells enhances angiogenesis by targeting factor-inhibiting HIF-1.Blood 2014;124:3748-3757.

[20] De Toro J,Herschlik L,Waldner C.Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications.Front Immunol 2015;6:203.

[21] Becker A,Thakur BK,Weiss JM,et al.Extracellular Vesicles in Cancer: Cell-to-Cell Mediators of Metastasis.Cancer Cell

2016;30:836-848.

[22] Zhou W,Fong MY,Min Y,et al.Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. Cancer Cell 2014;25:501-515.

[23] Kouwaki T,Fukushima Y,Daito T,et al.Extracellular Vesicles Including Exosomes Regulate Innate Immune Responses to Hepatitis B Virus Infection.Front Immunol 2016;7:335.

[24] Jalalian SH,Ramezani M,Jalalian SA,et al.Exosomes, new biomarkers in early cancer detection.Anal Biochem 2019; DOI:10.1016/j.ab.2019.02.013.

[25] Whiteside TL,et al.Exosomes and tumor-mediated immune suppression[J].The Journal of clinical investigation,2016,126(4):1216-1223.

[26] Li R,Wang Y,Zhang X,et al.Exosome-mediated secretion of LOXL4 promotes hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis.Mol Cancer 2019;18:18.

[27] Matsuura Y,Wada H,Eguchi H,et al.Exosomal miR-155 Derived from Hepatocellular Carcinoma Cells Under Hypoxia Promotes Angiogenesis in Endothelial Cells[J].Digestive diseases and sciences,2018.

[28] Zhang L,Wang W,Li X,et al.MicroRNA-155 promotes tumor growth of human hepatocellular carcinoma by targeting ARID2. Int J Oncol 2016;48:2425-2434.