

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.01.0086

· 综述 ·

外泌体在前列腺癌诊疗中的研究进展

彭 广,王 超,杨 波,孙颖浩*

第二军医大学长海医院泌尿外科,上海 200433

[摘要] 前列腺癌起病隐匿,发现时多为晚期且治疗困难,亟需研发更有效的前列腺癌诊治手段。外泌体是由多种活细胞分泌的直径为 30~100 nm 的细胞外囊泡。在肿瘤患者的多种体液中均能检测到肿瘤相关外泌体,其在肿瘤的发生、侵袭、转移和耐药性中发挥了重要作用。研究发现,外泌体应用于肿瘤治疗时表现出能穿过天然屏障、细胞靶向性、循环系统中可稳定存在等优势,表明外泌体在前列腺癌治疗方面具有巨大潜力。本文综述了外泌体的主要特点和功能及其在前列腺癌诊疗方面的研究进展。

[关键词] 外泌体;前列腺肿瘤;诊断;治疗学

[中图分类号] R 737.25

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2017)01-0086-05

Exosomes in diagnosis and treatment of prostate cancer: recent progress

PENG Guang, WANG Chao, YANG Bo, SUN Ying-hao*

Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Prostate cancer is a malignant tumor with insidious onset, and it usually gets into a terminal stage when discovered and has limited therapy measures. Hence, novel and more effective diagnostic and therapeutic approaches of prostate cancer are greatly needed. Exosomes are one subtype of extracellular vesicles (30-100 nm) secreted by various living cells. Tumor-associated exosomes have been identified in various body fluids from cancer patients and playing important roles in promoting tumor growth, invasion, metastasis and drug resistance. Furthermore, exosomes have multiple advantages when applied in cancer therapy, including the ability to overcome natural barriers, intrinsic cell targeting properties and stability in the circulation, which implies an enormous potential for treatment of prostate cancer. In this review, we summarized the characteristics and functions of exosomes, and discussed the potential value of exosomes as biomarkers and therapeutic tools for prostate cancer.

[Key words] exosomes; prostatic neoplasms; diagnosis; therapeutics

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(1): 86-90]

前列腺癌发病具有明显的地域和种族差异,是欧美男性中发病率第 1 位、死亡率第 2 位的恶性肿瘤^[1]。近十年来,随着生活方式的改变和人口老龄化的加剧,国内前列腺癌的发病率快速上升,已成为我国男性中发病率排名第 6 位的恶性肿瘤^[2]。随着前列腺癌发病率的急骤上升,寻找更好的前列腺癌诊治方法尤为重要。外泌体是广泛存在于多种体液、直径为 30~100 nm 且具有脂质双层膜结构的细胞外囊泡^[3]。其可携带多种信号分子和生物活性物质,参与机体免疫、细胞间通信、肿瘤发生和发展等

多种生物学过程的调控。近年来,外泌体成为肿瘤等相关领域的研究热点,特别是前列腺癌源性的外泌体内容物与前列腺癌的发生和发展具有良好相关性,为前列腺疾病的诊疗提供了新的思路。本文对外泌体的主要特点、功能及其在前列腺癌诊疗领域的研究进展进行综述。

1 外泌体的生物学特性

1.1 形成过程 1983 年,Johnstone 等^[3]在研究羊网织红细胞成熟过程时,从细胞培养液中分离纯化

[收稿日期] 2016-10-14 **[接受日期]** 2016-12-22

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81430058)。Supported by Key Program of National Natural Science Foundation of China (81430058).

[作者简介] 彭 广,硕士生,住院医师。E-mail: doctorpg@139.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31161718, E-mail: sunyh@medmail.com.cn

得到一种小囊泡状物质,将其命名为外泌体。外泌体在电镜下呈扁形、球形或杯状,在体液中以球形结构为主。外泌体主要表达 CD63、CD81、CD9、Alix、TSG101、FLOT1、ANXA5 等分子,这些分子可作为外泌体分离和鉴定的标记物^[4]。细胞膜内陷形成早期胞内体(early endosomes),后转变成晚期胞内体(late endosomes),在内吞体转运复合体(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)及一些相关蛋白的调控下^[5],细胞质内容物被包进外泌体,形成多个腔内小囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),构成多泡体(multivesicular bodies, MVBs);一部分 MVBs 转运到溶酶体中被降解,另一部分则在 GTPase 蛋白家族成员 Rab 蛋白的调节下与细胞膜融合并被转运到细胞外,这种被释放到细胞外的双层膜性小囊泡即外泌体^[6]。Rab 蛋白是调节 ILVs 运输的一种因子,研究证实 Rab27A、Rab27B、Rab35 等多种 Rab 蛋白是外泌体分泌的重要调控因子^[7]。此外,外泌体的形成也存在内吞体转运复合体非依赖途径,CD81 等分子在此途径可发挥类似 ESCRT 的转运用^[8]。

1.2 组成及功能 外泌体内容物包括具有细胞特异性的蛋白、核酸、脂质等成分^[9],其具体组成取决于外泌体的来源细胞。蛋白质为外泌体内容物的主要成分,其进入外泌体的途径包括 ESCRT 依赖和非依赖两种机制,可参与外泌体的结构形成、膜转运及融合、抗原呈递、肿瘤发生和发展等过程^[10]。外泌体能携带大量核酸,其脂质双分子层结构可保护核酸免被降解,并将核酸转运到特定靶细胞发挥重要的调控作用。此外,外泌体内含有的鞘磷脂、胆固醇、饱和脂肪酸等成分与外泌体中富含脂筏相关蛋白、锚定蛋白密切相关^[11]。外泌体在肿瘤的发展、侵袭、转移、耐药、免疫逃避等过程中均发挥重要功能。研究发现肿瘤细胞分泌的外泌体较正常细胞显著增多^[12],提示外泌体与肿瘤细胞的信号转导及物质交换有密切关系。一方面,外泌体有一定的抑瘤作用,但相关报道较少。肿瘤外泌体可将肿瘤特异性抗原呈递到树突状细胞,引发特异的抗肿瘤免疫反应甚至直接诱导肿瘤细胞凋亡。Ristorcelli 等^[13]研究发现胰腺癌细胞外泌体可能通过脂筏介导,抑制 Notch-1 基因表达及相关信号通路,降低丙酮酸脱氢酶的活性,从而促进胰腺癌细胞线粒体相关凋

亡途径的发生。另一方面,肿瘤外泌体能促进肿瘤适应并改造肿瘤微环境,为肿瘤侵袭、转移开辟道路,并参与肿瘤发生和发展的各个过程。肿瘤外泌体能够通过分泌和转运金属蛋白酶类促进细胞外基质的降解,并且有利于侵袭性伪足的形成和运动,同时其还能通过整合蛋白(integrins, ITGs)介导特定靶器官的细胞摄取,从而影响靶细胞的功能并促进转移灶的形成^[14-15]。综上所述,外泌体内容物成分多样并可稳定存在,且具有多重生物学功能。通过分析外泌体成分可充分了解来源细胞的生理及病理状态,这也使外泌体成为“液体活检”重要工具之一。

2 外泌体与前列腺癌

2.1 外泌体与前列腺癌早期诊断 早期发现和确诊前列腺癌对提高患者生存率、改善预后具有重要意义。外泌体在肿瘤早期诊断中可能具有独特优势,原因有以下几个方面:(1)人类几乎所有的细胞都能产生和分泌外泌体,在血液、尿液、唾液、腹水等多种体液中均可方便获取外泌体进行相关检测,这保证了临床上外泌体检测的无创性;(2)肿瘤来源的外泌体能保护其所含肿瘤相关蛋白、核酸等内容物免遭外界蛋白酶和核酸酶的降解,分离并检测这些外泌体内容物能较好地提示肿瘤的发生,具有一定敏感性;(3)外泌体膜上具有多种反映细胞来源的特异性标记物,使肿瘤外泌体检测具有特异性。研究发现尿液来源的 miR-19b 区分前列腺癌患者和健康人的特异性和敏感性分别为 93%、79%^[16]。Bryant 等^[17]通过分析前列腺癌患者和对照患者血液和尿液的外泌体,发现 17 种 miRNA 的表达存在差异,其中尿液外泌体中 miR-107 和 miR-574-3p 的诊断效率接近甚至优于经典的前列腺癌抗原 3 (PCA3)。外泌体中的被检测对象主要是核酸或蛋白,核酸主要包括 miR-1290、miR-375、PTEN、TMPRSS2-ERG、PCA3 等,其表达在前列腺癌患者的外泌体中均升高^[4,18];而蛋白主要是跨膜蛋白和表面受体,如 FOLH1、GDF15、MDR1、XPO1、TGM4、TIMP1、SFN、ADIRF、ITGA3 等,均有可能是蛋白层面的前列腺癌分子标记物^[19]。此外,按摩前列腺后再收集尿液和前列腺液的混合物[expressed prostatic secretion (EPS) urine],所得的前列腺液直接来源于前列腺且富含外泌体,对前列腺癌的早期诊断具

有独特价值。Duijvesz等^[20]使用时间分辨荧光免疫分析仪分析前列腺癌患者和对照患者尿液中外泌体的表达差异,结果发现前列腺癌患者外泌体中CD63⁺和CD9⁺的表达均显著高于对照组;经过前列腺按摩后再收集尿液,肿瘤患者和对照患者CD63⁺和CD9⁺的表达差异更大($P=0.0006$)。上述外泌体中各种标记物虽非前列腺癌特有,但对于前列腺癌的早期诊断同样具有重要作用,在诊断时可联合多种标记物进行综合评价,以提高外泌体对前列腺癌的诊断效能。

2.2 外泌体与前列腺癌预后 外泌体在肿瘤侵袭,特别是微转移灶的形成中发挥重要作用,因此研究肿瘤外泌体对制定合理的肿瘤治疗方案以及评估前列腺癌根治术后复发风险均具有重要意义。临床上,Gleason评分高低与前列腺癌生物学行为和预后有关联^[21]。Nilsson等^[22]分析11例前列腺癌患者尿液中外泌体的成分,发现外泌体融合基因*TMPRSS2-ERG*的表达高低与Gleason评分高低基本一致。转移性前列腺癌患者的外泌体中miRNA-141与miRNA-375的表达与无复发患者相比显著上调,血清外泌体中miRNA-141与miRNA-375的表达水平与高Gleason评分、阳性淋巴结数目等前列腺癌预后的重要风险因子密切相关^[17]。此外,去势抵抗性前列腺癌患者的RNA测序结果显示,外泌体中miR-1290和miR-375的高水平表达与患者的不良预后及总体生存率相关性良好,提示外泌体可能参与前列腺癌的去势抵抗过程^[23]。综上所述,通过检测前列腺癌患者外泌体中的相关成分,能较好地提示肿瘤的生物学行为和患者预后,可为前列腺癌治疗方案的制定提供重要参考。

2.3 外泌体与前列腺癌耐药 肿瘤细胞可通过外泌体排出化疗药物,同时通过外泌体转运miRNA、耐药相关蛋白等物质而介导耐药传递,使不耐药的肿瘤细胞亚群获得耐药性。Federici等^[24]研究发现人黑素瘤细胞通过pH值依赖的外泌体途径排出顺铂从而产生耐药性,用抑酸剂抑制外泌体的产生能显著提高黑素瘤细胞对药物的敏感性。Qu等^[25]报道外泌体源性的lncARSR能竞争性结合miR-34/miR-449,参与肾癌细胞对舒米替尼的耐药。多西他赛是前列腺癌化疗的一线药物,Corcoran等^[26]研究多西他赛耐药的前列腺癌细胞发现,外泌体中P-糖

蛋白作为转运蛋白参与耐药的发生,同时检测耐药患者的临床样本也验证了这一结果。现已有研究证实外泌体中的miRNA-34a、ABCB1、ABCB4、PABPC4等均与前列腺癌耐药性有关^[27]。综上所述,外泌体通过多种机制参与前列腺癌耐药,同时也为前列腺癌治疗提供了新的潜在治疗靶点。

2.4 外泌体的治疗作用 外泌体是自然形成的纳米级膜性细胞外囊泡,能克服血脑屏障等天然屏障,具有固有的细胞靶向性和在循环系统中的稳定性,是化疗药物和特异性肿瘤抗原的良好载体^[28],相对于传统给药系统具有一定优势。此外,通过基因工程手段修饰其固有的靶细胞亲和性,可以进一步提高外泌体介导的靶向药物的精准递送。研究发现利用前列腺癌细胞源性外泌体装载紫杉醇,能显著提高后者对前列腺癌细胞系的毒性作用^[29]。Rountree等^[28]报道将载有前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)及前列腺酸性磷酸酶(prostatic acid phosphatase, PAP)的外泌体皮下注入小鼠体内后,PSA抗体及抗PAP特异性T细胞均明显增加,肿瘤体积亦趋于减小,这为前列腺癌免疫疗法提供了有效参考。尽管胞外囊泡作为药物递送载体在治疗方面还存在一些不足,比如缺乏胞外囊泡的标准分离方法、过低的药物装载效率等,但外泌体依旧是有前景的肿瘤治疗手段之一。

3 小结及展望

外泌体是各种活细胞产生的天然细胞外囊泡,在前列腺癌患者的血液、尿液、前列腺液中均可以分离得到大量外泌体。前列腺癌源性外泌体中的蛋白和核酸等为前列腺肿瘤早期诊断及预后判断提供了重要依据,具有无创性、高灵敏性和组织特异性等优点。此外,外泌体参与前列腺癌的侵袭、转移及耐药的发生,表明前列腺源性外泌体可能是潜在的前列腺癌治疗靶点,利用外泌体作为药物或抗原载体进行靶向给药及免疫治疗颇具前景。但是,目前外泌体的分离鉴定方法不统一且复杂、耗时,难以满足临床大样本检测的要求^[30]。随着外泌体研究的不断深入,以及标准化外泌体分离和检测平台的建立,外泌体的临床应用将为前列腺癌的诊断和治疗提供新的方向。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 7-30.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, ZHANG S, ZENG H, BRAY F, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115-132.
- [3] JOHNSTONE R M, ADAM M, HAMMOND J R, ORR L, TURBIDE C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262: 9412-9420.
- [4] PRINCIPE S, JONES E E, KIM Y, SINHA A, NYALWIDHE J O, BROOKS J, et al. In-depth proteomic analyses of exosomes isolated from expressed prostatic secretions in urine [J]. *Proteomics*, 2013, 13: 1667-1671.
- [5] COLOMBO M, MOITA C, VAN NIEL G, KOWAL J, VIGNERON J, BENAROCHE P, et al. Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126: 5553-5565.
- [6] OSTROWSKI M, CARMO N B, KRUMEICH S, FANGET I, RAPOSO G, SAVINA A, et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 19-30; sup pp 1-13.
- [7] DE GASSART A, GEMINARD C, FEVRIER B, RAPOSO G, VIDAL M. Lipid raft-associated protein sorting in exosomes [J]. *Blood*, 2003, 102: 4336-4344.
- [8] PEREZ-HERNANDEZ D, GUTIÉRREZ-VÁZQUEZ C, JORGE I, LÓPEZ-MARTÍN S, URSA A, SÁNCHEZ-MADRID F, et al. The intracellular interactome of tetraspanin-enriched microdomains reveals their function as sorting machineries toward exosomes[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288: 11649-11661.
- [9] LAI R C, TAN S S, YEO R W, CHOO A B, REINER A T, SU Y, et al. MSC secretes at least 3 EV types each with a unique permutation of membrane lipid, protein and RNA [J]. *J Extracell Vesicles*, 2016, 5: 29828.
- [10] CONDE-VANCELLS J, RODRIGUEZ-SUAREZ E, EMBADE N, GIL D, MATTHIESEN R, VALLE M, et al. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes [J]. *J Proteome Res*, 2008, 7: 5157-5166.
- [11] TIAN Y, LI S, SONG J, JI T, ZHU M, ANDERSON G J, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 2383-2390.
- [12] TAYLOR D D, GERCEL-TAYLOR C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110: 13-21.
- [13] RISTORCELLI E, BERAUD E, MATHIEU S, LOMBARDO D, VERINE A. Essential role of Notch signaling in apoptosis of human pancreatic tumoral cells mediated by exosomal nanoparticles[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1016-1026.
- [14] PEINADO H, ALEČ KOVIĆ M, LAVOTSHKIN S, MATEI I, COSTA-SILVA B, MORENO-BUENO G, et al. Corrigendum: melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET [J]. *Nat Med*, 2012, 18: 883-891.
- [15] HOSHINO A, COSTA-SILVA B, SHEN T L, RODRIGUES G, HASHIMOTO A, TESIC M M, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis[J]. *Nature*, 2015, 527: 329-335.
- [16] BRYZGUNOVA O E, ZARIPOV M M, SKVORTSOVA T E, LEKCHNOV E A, GRIGOR'EVA A E, ZAPOROZHCHENKO I A, et al. Comparative study of extracellular vesicles from the urine of healthy individuals and prostate cancer patients[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11: e0157566. doi: 10.1371/journal.pone.0157566.
- [17] BRYANT R J, PAWLOWSKI T, CATTO J W, MARSDEN G, VESSELLA R L, RHEES B, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106: 768-774.
- [18] KORZENIEWSKI N, TOSEV G, PAHERNIK S, HADASCHIK B, HOHENFELLNER M, DUENSING S. Identification of cell-free microRNAs in the urine of patients with prostate cancer[J/OL]. *Urol Oncol*, 2015, 33: 16. e17-e22. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.09.015.

- [19] MINCIACCHI V R, YOU S, SPINELLI C, MORLEY S, ZANDIAN M, ASPURIA P J, et al. Large oncosomes contain distinct protein cargo and represent a separate functional class of tumor-derived extracellular vesicles[J]. *Oncotarget*, 2015, 6: 11327-11341.
- [20] DUIJVESZ D, VERSLUIS C Y, VAN DER FELS C A, VREDENBREGT-VAN DEN BERG M S, LEIVO J, PELTOLA M T, et al. Immuno-based detection of extracellular vesicles in urine as diagnostic marker for prostate cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137: 2869-2878.
- [21] LEAPMAN M S, COWAN J E, SIMKO J, ROBERGE G, STOHR B A, CARROLL P R, et al. Application of a prognostic Gleason grade grouping system to assess distant prostate cancer outcomes [J/OL]. *Eur Urol*, 2016. doi: 10.1016/j.eururo.2016.11.032.
- [22] NILSSON J, SKOG J, NORDSTRAND A, BARANOV V, MINCHEVA-NILSSON L, BREAKEFIELD X O, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100: 1603-1607.
- [23] HUANG X, YUAN T, LIANG M, DU M, XIA S, DITTMAR R, et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer[J]. *Eur Urol*, 2015, 67: 33-41.
- [24] FEDERICI C, PETRUCCI F, CAIMI S, CESOLINI A, LOGOZZI M, BORGHI M, et al. Exosome release and low pH belong to a framework of resistance of human melanoma cells to cisplatin[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e88193. doi: 10.1371/journal.pone.0088193.
- [25] QU L, DING J, CHEN C, WU Z J, LIU B, GAO Y, et al. Exosome-transmitted lncARSR promotes sunitinib resistance in renal cancer by acting as a competing endogenous RNA[J]. *Cancer Cell*, 2016, 29: 653-668.
- [26] CORCORAN C, RANI S, O'BRIEN K, O'NEILL A, PRENCIPE M, SHEIKH R, et al. Docetaxel-resistance in prostate cancer: evaluating associated phenotypic changes and potential for resistance transfer via exosomes [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7: e50999. doi: 10.1371/journal.pone.0050999.
- [27] KATO T, MIZUTANI K, KAMEYAMA K, KAWAKAMI K, FUJITA Y, NAKANE K, et al. Serum exosomal P-glycoprotein is a potential marker to diagnose docetaxel resistance and select a taxoid for patients with prostate cancer [J/OL]. *Urol Oncol*, 2015, 33: 385. e15-e20. doi: 10.1016/j.urolonc.2015.04.019.
- [28] ROUNTREE R B, MANDL S J, NACHTWEY J M, DALPOZZO K, DO L, LOMBARDO J R, et al. Exosome targeting of tumor antigens expressed by cancer vaccines can improve antigen immunogenicity and therapeutic efficacy[J]. *Cancer Res*, 2011, 71: 5235-5244.
- [29] SAARI H, LÁZARO-IB ÁÑEZ E, VIITALA T, VUORIMAA-LAUKKANEN E, SILJANDER P, YLIPERTTULA M. Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells[J]. *J Control Release*, 2015, 220: 727-737.
- [29] 严冰浩,张燕,方硕,王越,刘厚奇. 间充质干细胞来源的外泌体的制备方法及应用[J]. *解剖学杂志*, 2016, 39:622-626.

[本文编辑] 曾奇峰