

Research Progress of Exosomes in Pancreatic Cancer

Junli Wang^{1,2} Yuefeng Li³ Qin Dong^{2*}

1.Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010050, China

2.The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010050, China

3.Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010050, China

Abstract

As pancreatic cancer is a malignant tumor with high mortality rate in the digestive system, the early diagnosis rate is not high, and patients have often developed to the advanced stage, and have lost many radical opportunities. Pancreatic cancer is predicted to soon surpass breast cancer, becoming the third largest cause of cancer death in the European Union. The external body is a vesoid small body with a diameter of 30~100 nm, which can transmit the tiny RNA (miRNA), protein, etc. to the target cell through cell membrane fusion and cytoocytosis of the target cell, mediate the communication of information between cells and regulate the physiological function of cells. In recent years, exosomes has plays an important role in clinical diagnosis and treatment of pancreatic tumors. This paper discusses the role of the exosomes in the diagnosis and treatment of pancreatic cancer.

Keywords

pancreatic cancer; extrinsic body; diagnosis; treatment

外泌体在胰腺癌中的研究进展

王俊丽^{1,2} 李跃峰³ 董勤^{2*}

1.内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010050

2.内蒙古医科大学附属医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010050

3.内蒙古自治区人民医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010050

摘要

胰腺癌作为消化系统中高病死率的恶性肿瘤, 早期诊断率不高, 患者确诊时常已发展至晚期, 丧失很多根治性机会。据预测, 胰腺癌将很快超过乳腺癌, 成为欧盟癌症死亡的第三大原因。外泌体是直径为30~100nm的囊泡样小体, 能通过与靶细胞的细胞膜融合、胞吞作用等方式将其携带的微小RNA (miRNA)、蛋白质等传递至靶细胞中, 介导细胞间的信息交流并调控细胞的生理功能。近年来, 发现外泌体在胰腺肿瘤的临床诊断与治疗中具有很重要的作用。论文针对外泌体在胰腺癌诊断与治疗中的作用进行探讨。

关键词

胰腺癌; 外泌体; 诊断; 治疗

1 引言

胰腺癌是发生于胰腺外分泌腺的恶性肿瘤, 恶性程度极高, 其总体5年生存率仍小于5%^[1]。其中胰腺导管腺癌是胰腺癌的主要类型, 占80%~90%。胰腺癌具有起病隐匿, 早期

【作者简介】王俊丽(1994-), 女, 中国内蒙古包头人, 硕士, 从事肝胆胰脾外科研究。

【通讯作者】董勤(1963-), 男, 中国内蒙古呼和浩特人, 硕士, 主任医师, 现任职于内蒙古医科大学附属医院普外科, 从事肝胆胰脾疾病研究。

症状不典型, 易出现转移等特点。尽管在过去的30年间胰腺癌的诊断检测与治疗取得了进展, 然而现有的影像学检查及血清学标志物难以发现其微小的转移, 80%以上的患者确诊为胰腺癌时已出现明显的远处转移, 丧失了根治性手术的机会。这种低生存率主要归因于胰腺癌诊断时常为晚期, 治疗选择有限。因此, 探索胰腺癌有效的诊断治疗方法成为亟待解决的问题。

2 外泌体的概述

早在很多年前, Pan^[2]等人在研究网织红细胞多泡体胞外

细胞质融合时就发现了外泌体。1987年, Johnstone^[3]等人从绵羊网织红细胞中分离出囊泡, 随着对囊泡的深入研究, 得出外泌体主要来自网织红细胞, 而不是血液中的其他细胞成分这一结论。外泌体几乎由所有正常和病理细胞产生, 存在于所有体液中, 包括血浆、尿液、唾液、羊水、腹水、脑脊液等^[4]。通常, 肿瘤细胞会分泌更多的外泌体。肿瘤外泌体现在被认为是 PDAC 肿瘤间质重塑中的重要角色, 特别是在免疫抑制微环境的建立中。外泌体携带蛋白质、脂质、核糖核酸和脱氧核糖核酸, 并作为细胞间通讯的介质^[5]。外泌体作为细胞间连接和信号传递的重要载体, 受到越来越多的关注, 研究表明肿瘤来源的外泌体对胰腺癌的生长发育过程至关重要, 不仅能提示癌症预后信息, 还能反应疗效。

3 外泌体与胰腺癌的诊断

目前临床上常用糖类抗原 19-9 (CA19-9)、癌胚抗原等肿瘤标志物进行胰腺癌的筛检。然而, CA19-9 作为一种筛查工具尚有缺陷, 阳性预测值较低^[6], 诊断敏感性和特异性均不理想。这些原因导致 PC 的早期诊断率不高。患者发现胰腺癌时常已发展至晚期, 因此寻找新的早期诊断标志物已成为 PC 诊治的重点。近年研究发现外泌体蛋白质以及核酸作为胰腺癌的诊断标志物具有极高的敏感性和特异性, 为胰腺癌的早期诊断提供了新的思路。

3.1 外泌体 miRNA 对胰腺癌的诊断

从目前相应研究资料提示, 很多 miRNA 有望成为胰腺癌早期诊断的标志物。2013年, QUE 等^[7]研究发现 PC 患者的血清外体 miR-17-5p 和 miR-21 水平显著升高, 这表明这些血清外体 miRNAs 可作为 PC 的潜在生物标志物。利用 ROC 曲线分析评价 miR-21、miR-17-5p 对 PC 的诊断价值发现, miR-21 诊断 PC 的敏感性高, 特异性低, 而 miR-17-5p 诊断 PC 的敏感性、特异性较高。2017年, Lai 等^[8]发现, 当与适当的临床评估结合使用时, 由升高水平的 miR-10b、-21、-30c 和低水平的 let7a 组成的外体 miR 信号可诊断 PDAC 病, 并在 PDAC 和慢性胰腺炎之间产生明显的区别。2018年, Goto 等人^[9]将 32 例胰腺癌患者、29 例 IPMN 患者和 22 例非肿瘤患者 (对照组) 使用下一代测序分析来评估 ExmiRs 的表达, 并且通过定量实时聚合酶链反应来确认通过该分析选择的三个

miRs。结果显示: 与对照组相比, 在胰腺癌和 IPMN 病患者中, ExmiR-191、ExmiR-21 和 ExmiR-451a 的表达显著上调 ($P < 0.05$)。为评价三种 ExmiRs 的诊断性能, 采用 ROC 曲线分析, 结果表明 ExmiRs 对 IPMN 和 PC 的诊断比 (循环) CmiRs 更敏感。Goto 等人还比较了 3 种 ExmiRs 与癌胚抗原 (CEA) 和碳水化合物抗原 19-9 (ca1 19-9) 的诊断性能, 结果提示, ExmiR-191、ExmiR21 和 ExmiR-451a 是 IPMN 和早期 PC 的良好诊断标志物, 但 CA19-9 对晚期肿瘤的诊断仍有优势。

3.2 外泌体蛋白质对胰腺癌的诊断

Melo Sa 等^[10]利用质谱分析, 鉴定了一种细胞表面蛋白多糖, 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-1 (GPC1), 它集于癌细胞衍生的外泌体。GPC1 与许多蛋白质相互作用, 具有多种功能, 许多癌细胞过度表达 GPC1。Melo Sa 等人通过研究表明 GPC1 是检测早期胰腺癌的可靠生物标志物, 也是优于 CA19-9 的预后标志。此外, 研究者们还发现胰腺癌患者血液中的 GPC1 外泌体含量与胰腺肿瘤发展程度呈正相关, 当患者经过外科手术将肿瘤切除后, 体内的 GPC1 外泌体的水平也随之下降, 这些实验结果进一步说明 GPC1 外泌体不仅是检测早期胰腺癌的可靠生物标志物, 其对胰腺癌的治疗和预后影响也有着巨大的潜力。Adam E. Frampton 等人^[11]研究了 crExos GPC1 作为 PDAC 生物标志物的有效性。他们在胰腺切除术前从良性胰腺疾病患者 (16 例) 和 PDAC 病患者 (27 例) 中获取血浆, 用超离心法分离 crExos。从手术标本中提取蛋白质。并使用酶联免疫吸附试验测定 GPC1 水平。他们的结果表明, 正常胰腺和 PDAC 组织之间的 GPC1 水平没有显著差异。此外, 他们发现, 具有高 GPC1 蛋白水平的 PDACs 倾向于产生具有更高 GPC1 水平的 crExos。这也进一步提示, 外泌体中的 GPC1 蛋白可用于 PDAC 的早期检测。然而, 有研究表明, 由于乳腺癌^[10]和结直肠癌^[12]患者的 crExos GPC1 水平也升高, 这表明它不是筛查 PDAC 的良好生物标志物, 而是监测已知疾病或用作疑似 PDAC 患者的辅助调查。因此, 还需要进一步的努力来阐明其作为诊断和 / 或预后生物标志物的作用, 使用更大的 PDAC 患者队列。除了 GPC1 蛋白外, 外泌体中胞外锌转运蛋白 ZIP4 也可用于胰腺癌的检测。Jin 等人^[13]通过研究确定锌转运蛋白 ZIP4 是 PC-1.0 衍生的外来体中上调

最大的蛋白。并通过研究表明外泌体 ZIP4 促进癌症生长，是胰腺癌的一种新的诊断生物标志物。

4 外泌体与胰腺癌的治疗

最近有证据表明，在免疫治疗中使用像外泌体这样的纳米级粒子，可以通过抗原呈递细胞技术，为开发新的癌症疫苗奠定可行的基础，从而使免疫系统能够识别和杀死癌细胞^[14]。在最近的一项研究中^[15]，将常用于 PDAC 治疗的化疗药物与负载肿瘤外泌体（TEX）的树突状细胞（DC）疫苗相结合，研究结果表明 DC-TEX 显著延长了细胞毒药物的存活时间，其疗效超过细胞毒药物。本实验大胆预测接种含 tex 的 DC 似乎是 PaCa 治疗中最有前途的选择。Zech 等人^[16]通过实验表明来自大鼠胰腺癌细胞系 BSp73ASML（ASML）的外泌体通过下调 CD44v6 和上调 lck、ZAP70 和 ERK1 2 磷酸化来影响白细胞增殖。此外，还有结果显示，胰腺癌衍生的外泌体通过 miR-203 下调树突状细胞（DC）中的 TLR4 和下游细胞因子^[17]。Richards 等^[18]发现癌相关成纤维细胞（CAFs）对 PDAC 的化疗药物——吉西他滨具有内在耐药性，此外，接触吉西他滨的 CaF 显著增加了外泌体的细胞外小泡的释放。这些外泌体增加了受体上皮细胞中的化学抗性诱导因子 Snail，并促进增殖和耐药性。当加入 GW4869（一种外泌体释放抑制剂）抑制 CAFs 外泌体释放后，胰腺癌细胞存活率显著降低。这表明 CAFs 外泌体在化疗耐药性中发挥了重要作用。Aspe 等人^[19]通过实验发现载有生存素 T34A（SurvivinT34A）的外泌体与吉西他滨联合使用可显著促进胰腺癌细胞凋亡，并增加吉西他滨化疗敏感度。

5 结论

在过去的 10 年里，外泌体已经成为以前未被识别的细胞间传递信息的载体。虽然信息穿梭可能是外泌体的主要生物学作用，但这种囊泡通信机制似乎超越了所有的细胞功能，并调节所有正常和异常细胞的分子和遗传信号。目前虽然有许多关于外泌体的研究，但是其分子机制及信号通路仍处于研究起始阶段。外泌体在临床上作为靶向生物标志物现已初步使用，如靶向化疗药及肿瘤疫苗，虽然在胰腺癌的治疗上我们还处在不断摸索和挑战困难的阶段，但相信只要随着失败经验的不断积累，我们一定能成功战胜胰腺癌这个死神。

参考文献

- [1] Sergeant G, Vankelecom H, Gremeaux L, et al. Role of cancer stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009,6(10):580-586.
- [2] Pan BT, Teng K, Wu C, et al. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes[J]. *Cell Biol*, 1985,101(3):942-948.
- [3] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, et al. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *Biol Chem*, 1987,262(19):9412-9420.
- [4] Whiteside T L. Tumor-derived exosomes and their role in cancer progression[J]. *Adv Clin Chem*, 2016, 74:103-141.
- [5] Tkach M, Théry C. Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go[J]. *Cell*, 2016(6):1226-1232.
- [6] Zhang L, Sanagapalli S, Stoita A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2018(19):2047-2060.
- [7] Que R, Ding G, Chen J, et al. Analysis of serum exosomal microRNAs and clinicopathologic features of patients with pancreatic adenocarcinoma[J]. *World J Surg Oncol*, 2013(11):219.
- [8] Lai X, Wang M, Mcelyea S D, et al. A microRNA signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017(393):86-93.
- [9] Goto T, Fujiya M, et al. An elevated expression of serum exosomal microRNA-191, -21, -451a of pancreatic neoplasm is considered to be efficient diagnostic marker[J]. *BMC Cancer*, 2018(1):116.
- [10] Melo Sa L L, Kahlert C, Fernandez AF, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015(7559):177-182.
- [11] Frampton AE, Prado MM, et al. Glypican-1 is enriched in circulating-exosomes in pancreatic cancer and correlates with tumor burden[J]. *Oncotarget*, 2018(27):19006-19013.
- [12] Li J, Chen Y, Guo X, et al. GPC1 exosome and its regulatory miRNAs are specific markers for the detection and target therapy of colorectal cancer[J]. *Journal of Cellular&Molecular Medicine*, 2017,21(5):838.

（下转第 39 页）

4 肥胖

PCOS 体脂是过量的，甚至在很多瘦的 PCOS 患者，情况也是如此。原因是胰岛素过量刺激脂肪生成和腹部脂肪生成，从而抑制脂肪分解，导致脂肪细胞肥大^[1]。睾酮对抗胰岛素对皮下脂肪储存的影响^[6]，同时在这些细胞中诱导胰岛素抵抗并抑制胰岛素敏感性脂肪因子脂联素的水平。肥胖在 PCOS 病理生理学中非常重要，因为它会导致胰岛素抵抗，进而加重 FOH 病^[1]。肥胖通过一些与 PCOS 相同的营养介导的促炎途径诱导胰岛素抵抗^[7,8]。肥胖诱导的慢性炎症和氧化应激也在损害卵母细胞成熟中起作用。脂联素、IL-6、c 反应蛋白和 TNF α 与卵泡液中的游离脂肪酸密切相关^[7,8]。

5 结语

高雄激素血症、高胰岛素血症和肥胖阻碍 PCOS 卵泡发育：在 PCOS 的卵泡发育周期中，大多数卵泡在发育的任何阶段都会逐渐停滞。这种紊乱的卵泡发生是由高雄激素血症、伴有胰岛素抵抗的高胰岛素血症、异常活性氧（ROS）和肥胖症中的炎性细胞因子引起的。

参考文献

- [1] A Li, L Zhang, J Jiang, et al. Follicular hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome patients with normal circulating testosterone levels[J]. *Biomed Res*, 2018(3):43-46.
- [2] I Torre-Villalvazo, A.E. Bunt, G. Alemán, et al. Adiponectin synthesis and secretion by subcutaneous adipose tissue is impaired during obesity by endoplasmic reticulum stress[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018(9):5970-5984.
- [3] N A Malini, K. Roy George. Evaluation of different ranges of LH:FSH ratios in polycystic ovarian syndrome (PCOS) – Clinical based case control study[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2018(128):51-57.
- [4] Corbould A. Effects of androgens on insulin action in women: is androgen excess a component of female metabolic syndrome?[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2008(24):520-532.
- [5] Wu S, Divall S, Nwaopara A, et al. Obesity induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell[J]. *Diabetes*, 2014(63):1270-1282.
- [6] Rosenfield RL, Ehrmann DA. The pathogenesis of polycystic ovary syndrome(PCOS):the hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited[J]. *Endocr Rev*, 2016,37(5):467-520.
- [7] Gonzalez F, Considine RV, Abdelhadi OA, et al. Saturated fat ingestion promotes lipopolysaccharide-mediated inflammation and insulin resistance in polycystic ovary syndrome[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2019(104):934-946.
- [8] Gonzalez F, Considine RV, Abdelhadi OA, et al. Inflammation triggered by saturated fat ingestion is linked to insulin resistance and hyperandrogenism in PCOS[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2020(105):2152-2167.
- [13] Jin H, Liu P, et al. Exosomal zinc transporter ZIP4 promotes cancer growth and is a novel diagnostic biomarker for pancreatic cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018,109(9):2946-2956.
- [14] Tan A, De La Pena H, et al. The application of exosomes as a nanoscale cancer vaccine [J]. *Int J Nanomed*, 2010(5): 889900.
- [15] Xiao L, Erb U, Zhao K, et al. Efficacy of vaccination with tumor-exosome loaded dendritic cells combined with cytotoxic drug treatment in pancreatic cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2017,6(6):e1319044.
- [16] Zech D, Rana S, Büchler MW, et al. Tumor-exosomes and leukocyte activation: an ambivalent crosstalk [J]. *Cell Commun Signal*, 2012,10(1):37.
- [17] 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.
- [18] Richards KE, Zeleniak AE, Fishel ML, et al. Cancer-associated fibroblast exosomes regulate survival and proliferation of pancreatic cancer cells[J]. *Oncogene*, 2017,36(13):1770-1778.
- [19] Aspe JR, Diaz Osterman CJ, Jutzy JMS, et al. Enhancement of Gemcitabine sensitivity in pancreatic adenocarcinoma by novel exosome-mediated delivery of the Survivin-T34A mutant[J]. *Extracell Vesicles*, 2014(3):23244

(上接第 26 页)