

外泌体在乳腺癌侵袭转移及治疗耐药中的研究进展

阚宝芹, 王晓武

青海大学附属医院乳腺甲状腺外科, 青海 西宁

收稿日期: 2021年9月29日; 录用日期: 2021年10月27日; 发布日期: 2021年11月3日

摘要

研究提示外泌体通过分泌各种信号分子参与乳腺癌发展及治疗过程, 乳腺癌在侵袭转移过程中缺乏可重复性高且可靠的特异性肿瘤标志物, 治疗上仍受药物毒性、治疗耐药等因素的限制, 故外泌体成为进一步突破乳腺癌侵袭转移及治疗耐药研究的新靶标。笔者在本文中对外泌体与乳腺癌侵袭转移及治疗耐药研究进展做一综述, 探讨其在乳腺癌诊治中的意义。

关键词

乳腺癌, 外泌体, 侵袭转移, 化疗耐药, 进展

Research Progress of Exosome in Invasion, Metastasis and Drug Resistance of Breast Cancer

Baoqin Kan, Xiaowu Wang

Department of Breast and Thyroid Surgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Sep. 29th, 2021; accepted: Oct. 27th, 2021; published: Nov. 3rd, 2021

Abstract

It is suggested that exosome is involved in the development and treatment of breast cancer by secreting various signal molecules. In the process of invasion and metastasis, breast cancer lacks high reproducible and reliable specific tumor markers. The treatment is still limited by drug toxicity and drug resistance. Therefore, exosome has become a new target for further breakthrough

in breast cancer invasion and metastasis and drug resistance. In this article, we reviewed the progress of invasion and metastasis of breast cancer and drug resistance, and discussed its significance in the diagnosis and treatment of breast cancer.

Keywords

Breast Cancer, Exosome, Invasion and Metastasis, Chemotherapy Resistance, Progress

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

根据 WHO 国际癌症研究机构发布的 2020 年全球最新癌症负担数据显示: 2020 年全球乳腺癌 (breast cancer, BC) 新发病例高达 226 万例, 乳腺癌取代肺癌, 成为全球第一大癌[1]。随着 BC 发病率逐年上升, BC 侵袭转移的诊治、耐药性的产生及高复发率是现阶段面对的亟待解决的问题。传统的某些化疗药物出现耐药情况、检查手段和标志物存在不同的缺点, 文献报道外泌体是液体活检“三架马车”(即外泌体(Exosome, EV)、循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cell, CTC)、循环肿瘤 DNA (Circulating Tumor DNA, ctDNA))之一[2]。外泌体是一种细胞主动分泌的纳米级小囊泡, 直径为 30~120 nm, 人体几乎所有类型的细胞都能分泌 EV, 且广泛分布于多种体液当中, 在肿瘤微环境中也能检测到。研究表明癌细胞分泌 EV 携带其体内信号分子 lncRNA、miRNA、mRNA、DNA 和蛋白质等与 BC 的发生、发展密切相关[3]。目前研究显示 EV 可由 BC 细胞、基质和 BC 相关成纤维细胞释放到细胞外环境及肿瘤微环境中, 其稳定性高及可穿过血脑屏障等特性在 BC 的诊断、侵袭转移、治疗耐药性[4]等方面发挥重要作用。在此, 本文对 EV 在 BC 侵袭转移和治疗耐药中作用的最新进展进行综述, 探讨 EV 在 BC 诊治中的应用前景。

2. 外泌体参与 BC 侵袭转移

肿瘤的侵袭转移特性是肿瘤的本质特征。外泌体主要通过 3 种方式作用于靶细胞[5]: ① 与靶细胞膜融合, 将体内各种 RNA、DNA 及蛋白质非选择性释放到胞质中; ② 被靶细胞内吞作用后与胞膜融合释放内容物; ③ 外泌体与受体细胞表面特异性受体结合, 寻找受体结合从而介导细胞间信息传导以及激活相应的信号通路进而影响 BC 的侵袭和转移过程。

2.1. 外泌体可直接或增加恶性转化促进 BC 侵袭和转移

Zhou 等[6]研究发现转移性 BC 细胞分泌的 EV 中高表达作为靶向调节紧密连接蛋白 ZO-1 的迁移调节剂 miRNA-105, 其破坏受体上皮细胞间紧密连接及其天然屏障的完整性, 从而使促进非转移细胞发生转移。有研究表明肿瘤相关巨噬细胞 EV 可被摄取内吞进入三阴性 BC 的 MDA-MB-231 细胞, 促进 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力[7]。Acuña 等[8]证明 BC 细胞释放的 EV 中连接蛋白 46 (EVs-Cx46) 呈过度表达, EV-Cx46 促进 EV 和 BC 细胞之间的相互作用, 并与异种移植小鼠中肿瘤生长相关, 从而增加 BC 的迁移和侵袭特性。因此认为 BC 外泌体的 EV-CX46 增强了 BC 细胞的恶性特征, 可能成为 BC 新的诊断标志物以及治疗靶点。

2.2. 外泌体影响机体微环境促进转移微环境形成

肿瘤微环境中的基质细胞如成纤维细胞(NFs)的 EV 与 BC 细胞表面的 CD81 结合, 促进 BC 细胞自分泌 Wnt-PCP 信号, 驱动 BC 细胞侵袭和转移[9], Ren 等[10]体外实验表明, BC 细胞来源的 EV 促进正常 NFs 活化, EV 将 BC 细胞中的 miR-370-3p 转移到 NFs, EV 包裹的 miR-370-3p 通过转染 NFs 以激活 NF- κ B 信号通路, 证实 EV 活化的 NFs 有助于增强癌细胞的干细胞迁移、侵袭以及上皮间质转化。Luga 等[11]发现 BC 细胞可激活基质细胞 NOTCH-MYC 信号通路, 导致 POL3 驱动的内源性 RNA-RN7SL1 增加。未与 RNA 的结合蛋白 SRP9/14 结合的 RN7SL1 可激活识别受体 RIG-1, 促进 BC 侵袭和转移。脂肪细胞是 BC 组织中最丰富的基质细胞成分, 近期研究发现脂肪细胞来源的 EV 可以被 BC 细胞 MCF7 吸收整合, 其可通过激活 Hippo 信号通路促进 MCF7 细胞增殖和转移[12]。最近, Vismara 等[13]研究证明血小板衍生的外泌体(PEVs)可被 BC 转移细胞株 MDA-MB-231、SKBR3 和导管癌细胞株 BT474 大量内化, PEVs 能刺激 MDA-MB-231 的迁移侵袭、降低 SKBR3 细胞线粒体脱氢酶活性来改变细胞周期进程, 表明 PEVs 可根据特定的 BC 细胞亚型引起多种不同的反应。综上所述, BC 细胞分泌的 EV 可影响机体微环境、微环境基质信号通路及基质细胞进而促进转移微环境形成, EV 携带的 miR-370-3p 通过激活 NF- κ B 信号通路加重 BC, PEVs 作为血小板与癌症相互作用的潜在介质广泛参与 BC 的进展。

2.3. 外泌体在 BC 远处转移中表达

转移性 BC 通常以肺、肝、骨骼和大脑作为定植点。研究表明 BC 细胞来源 EV 在不同转移部位中表达不同, 三阴性 BC (MDA-MB-231)细胞分离的外泌体(MDA-MB-231) EV 处理的小鼠表现出肺血管渗漏并促进实验肺的转移, 表明(MDA-MB-231) EV 反映了亲本细胞并传播恶性肿瘤[14]。Chen 等[15]发现 BC 肿瘤相关的 NFs 可以分泌携带 Wnt10b 的外泌体递送到相邻的上皮细胞, 通过激活 Wnt-catenin 信号通路, 诱导上皮间质转化过程, 从而增强 BC 细胞的侵袭能力, 促进 BC 肝转移的发生。Yuan 等[16]将 BCSCP28 细胞分泌的 EV 植入受体小鼠体内发现其破骨细胞活性增加和骨密度降低, 考虑与 SCP28 细胞的 EV 中 miR-21 可激活破骨细胞生成作用有关, 促进 BC 骨丢失和溶骨性转移。Morad 等[17]研究发现 BC 衍生的 EV 可通过胞饮作用突破血脑屏障(BBB), EV 携带的某些蛋白质和 miRNA 可与星形胶质细胞相互作用促进脑转移, 可能作为在 BC 脑转移中早期检测和治疗干预的诊断和治疗的靶标。研究发现肿瘤相关 NFs 的外泌体线粒体 DNA (mitochondrial, mtDNA)可唤醒沉睡的 BC 细胞导致 BC 复发[18]。

3. 外泌体参与 BC 治疗耐药

BC 多药耐药问题为 BC 的化疗设置了难题。研究发现 BC 细胞来源 EV 具有特殊的生物活性, 除了介导 BC 细胞耐药, 同时其靶向作用可保证运载药物安全到达治疗靶点以提高 BC 治疗效果的双重作用[19]。阿霉素(多柔比星)是临床常用治疗 BC 的药物, 阿霉素敏感 MCF-7 细胞(MCF-7/S)可吸收耐阿霉素 MCF-7 细胞所分泌的携带 miRNA-222 的 EV, 从而使 MCF-7/S 获得部分阿霉素耐药性[20]。Yin 等[21]表明 EV 中 microRNA-221 对阿霉素的耐药也有显著影响, 其抑制 PTEN 转录, 激活 Akt/mTOR 通路, 进而增强 BC 对阿霉素的耐药性。microRNA-221/PTEN 轴可能是治疗化疗耐药乳腺肿瘤的一种有前途的策略。目前对于 BC 细胞分泌包含 miRNA 的 EV 介导多西他赛、顺铂、吉西他滨等化疗常用药物的耐药均有报道。但具有明确治疗意义的通路及靶点仍待进一步研究。他莫昔芬(TAM)是雌激素受体阳性 BC 的标准抗激素疗法, 长期 TAM 治疗使 TAM 产生耐药性, 研究发现 TAM 耐药的 MCF-7 (TAMR-MCF-7)细胞中 P2X7 的蛋白质表达较高, 抑制 P2X7 可抑制 TAMR-MCF-7 细胞的迁移和肝转移, P2X7 拮抗剂可降低 TAMR-MCF-7 细胞分泌 EV 的数量[22]。MCF7-S 细胞中培养的巨噬细胞可被诱导成肿瘤相关巨噬细胞, 并分泌的趋化因子配体 2 (CCL2)激活某些信号通路, 促进 TAM 抵抗性并缩短无进展生存期[23]。研究证

实 BC 外泌体 HIF- α 稳定的长非编码 RNA (HIF- α Stabilizing long noncoding RNA, HISLA) 在肿瘤相关巨噬细胞中表达可增强 BC 细胞的有氧糖酵解, 因为 HISLA 特殊的细胞凋亡抗性, 认为其是在针对 BC 化疗耐药方面理想的分子标志物[24]。综上表明当前报道 EV 参与 BC 化疗、内分泌靶向治疗药物的耐药, CCL2 可能是耐内分泌性 BC 患者的新型治疗靶标, P2X7 拮抗剂考虑用于 TAM 耐药患者的转移预防。

4. 结语

虽然研究者在乳腺癌的发生发展、侵袭转移特性方面研究得比较透彻, 但仍然无法达到微创准确监测转移、有效精准抗耐药治疗的目的。目前研究证实外泌体参与了乳腺癌侵袭转移及治疗耐药等过程, 由于其不同于其他细胞通讯方式的能力, 外泌体在乳腺癌远处转移、治疗耐药等方面的生物特性及功能特点越来越清晰。现有研究表明: ① 对外泌体携带的 RNA、DNA 等信号分子生理功能的确切作用和作用机制仍需更多临床研究; ② 如何提取外泌体中相对含量较少的 DNA 和外泌体检测应用于临床诊断也是未来面临的一项技术挑战; ③ 外泌体所介导的乳腺癌药物耐受靶向治疗的研究尚处于初级阶段。因此, 未来针对外泌体的进一步研究为新型抗癌靶向药物的研发提供新方向, 未来对抗耐药、提高乳腺癌细胞药物敏感性及降低治疗失败复发方面提供更具体的研究方向与思路, 将为乳腺癌患者的诊治带来新希望。外泌体中 DNA 片段的研究相对较少, 对于研究肿瘤药物的耐药机制提供了新的思路, 同时提示筛选 mtDNA 可以早期发现癌症及阻止此类外泌体的产生来预防乳腺癌复发。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. and Bray, F. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] 戚丽娜. 乳腺癌及大肠癌循环肿瘤细胞捕获及鉴定方法的建立[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [3] Weidle, U.H., Birzele, F., Kollmorgen, G. and Ruger, R. (2017) The Multiple Roles of Exosomes in Metastasis. *Cancer Genomics & Proteomics*, **14**, 1-15. <https://doi.org/10.21873/cgp.20015>
- [4] 曹黎霞, 史振东, 刘晶晶, 等. 外泌体 miRNA 作为乳腺癌生物标志物的临床应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2019, 46(7): 423-426.
- [5] 付亚文, 高峰, 杜玉珍. 外泌体在肿瘤转移前微环境形成中的作用[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(23): 4167-4170.
- [6] Zhou, W., Fong, M.Y., Min, Y., Somlo, G., Liu, L., Palomares, M.R., et al. (2014) Cancer-Secreted miR-105 Destroys Vascular Endothelial Barriers to Promote Metastasis. *Cancer Cell*, **25**, 501-515. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.03.007>
- [7] 刘玉, 王超群, 曾江正, 等. TAMs 外泌体对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移、侵袭的影响[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(9): 667-671.
- [8] Acuna, R.A., Varas-Godoy, M., Berthoud, V.M., Alfaro, I.E. and Retamal, M.A. (2020) Connexin-46 Contained in Extracellular Vesicles Enhance Malignancy Features in Breast Cancer Cells. *Biomolecules*, **10**, 676. <https://doi.org/10.3390/biom10050676>
- [9] Luga, V., Zhang, L., Vilorio-Petit, A.M., Ogunjimi, A.A., Inanlou, M.R., Chiu, E., et al. (2012) Exosomes Mediate Stromal Mobilization of Autocrine Wnt-PCP Signaling in Breast Cancer Cell Migration. *Cell*, **151**, 1542-1556. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.11.024>
- [10] Ren, Z., Lv, M., Yu, Q., Bao, J., Lou, K. and Li, X. (2021) MicroRNA-370-3p Shuttled by Breast Cancer Cell-Derived Extracellular Vesicles Induces Fibroblast Activation through the CYLD/Nf- κ B Axis to Promote Breast Cancer Progression. *FASEB Journal*, **35**, e21383. <https://doi.org/10.1096/fj.202001430RR>
- [11] Nabet, B.Y., Qiu, Y., Shabason, J.E., Wu, T.J., Yoon, T., Kim, B.C., et al. (2017) Exosome RNA Unshielding Couples Stromal Activation to Pattern Recognition Receptor Signaling in Cancer. *Cell*, **170**, 352-366.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.031>
- [12] Wang, S., Su, X., Xu, M., Xiao, X., Li, X., Li, H., Keating, A. and Zhao, R.C. (2019) Exosomes Secreted by Mesenchymal Stromal/Stem Cell-Derived Adipocytes Promote Breast Cancer Cell Growth via Activation of Hippo Signaling Pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, **10**, 117. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1220-2>

- [13] Vismara, M., Zara, M., Negri, S., Canino, J., Canobbio, I., Barbieri, S.S., *et al.* (2021) Platelet-Derived Extracellular Vesicles Regulate Cell Cycle Progression and Cell Migration in Breast Cancer Cells. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Cell Research*, **1868**, Article ID: 118886. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118886>
- [14] Duan, S., Nordmeier, S., Byrnes, A.E. and Buxton, I. (2021) Extracellular Vesicle-Mediated Purinergic Signaling Contributes to Host Microenvironment Plasticity and Metastasis in Triple Negative Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 597. <https://doi.org/10.3390/ijms22020597>
- [15] Chen, Y., Zeng, C., Zhan, Y., Wang, H., Jiang, X. and Li, W. (2017) Aberrant Low Expression of p85 α in Stromal Fibroblasts Promotes Breast Cancer Cell Metastasis through Exosome-Mediated Paracrine Wnt10b. *Oncogene*, **36**, 4692-4705. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.100>
- [16] Yuan, X., Qian, N., Ling, S., Li, Y., Sun, W., Li, J., *et al.* (2021) Breast Cancer Exosomes Contribute to Pre-Metastatic Niche Formation and Promote Bone Metastasis of Tumor Cells. *Theranostics*, **11**, 1429-1445. <https://doi.org/10.7150/thno.45351>
- [17] Morad, G., Daisy, C.C., Otu, H.H., Libermann, T.A., Dillon, S.T. and Moses, M.A. (2020) Cdc42-Dependent Transfer of mir301 from Breast Cancer-Derived Extracellular Vesicles Regulates the Matrix Modulating Ability of Astrocytes at the Blood-Brain Barrier. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 3851. <https://doi.org/10.3390/ijms21113851>
- [18] Thakur, B.K., Zhang, H., Becker, A., Matei, I., Huang, Y., Costa-Silva, B., Zheng, Y., Hoshino, A., *et al.* (2014) Double-Stranded DNA in Exosomes: A Novel Biomarker in Cancer Detection. *Cell Research*, **24**, 766-769. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.44>
- [19] Ohno, S., Takanashi, M., Sudo, K., Ueda, S., Ishikawa, A., Matsuyama, N., Fujita, K., Mizutani, T., Ohgi, T., Ochiya, T., Gotoh, N. and Kuroda, M. (2013) Systemically Injected Exosomes Targeted to EGFR Deliver Antitumor microRNA to Breast Cancer Cells. *Molecular Therapy*, **21**, 185-191. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.180>
- [20] Huang, J.F., Wen, C.J., Zhao, G.Z., Dai, Y., Li, Y., Wu, L.X. and Zhou, H.H. (2018) Overexpression of ABCB4 Contributes to Acquired Doxorubicin Resistance in Breast Cancer Cells *In Vitro*. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **82**, 199-210. <https://doi.org/10.1007/s00280-018-3603-y>
- [21] Yin, Y., Wang, X., Li, T., Ren, Q., Li, L., Sun, X., *et al.* (2020) MicroRNA-221 Promotes Breast Cancer Resistance to Adriamycin via Modulation of PTEN/Akt/mTOR Signaling. *Cancer Medicine*, **9**, 1544-1552. <https://doi.org/10.1002/cam4.2817>
- [22] Park, M., Kim, J., Phuong, N., Park, J.G., Park, J.H., Kim, Y.C., *et al.* (2019) Involvement of the P2X7 Receptor in the Migration and Metastasis of Tamoxifen-Resistant Breast Cancer: Effects on Small Extracellular Vesicles Production. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 11587. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47734-z>
- [23] Li, D., Ji, H., Niu, X., Yin, L., Wang, Y., Gu, Y., Wang, J., Zhou, X., Zhang, H. and Zhang, Q. (2020) Tumor-Associated Macrophages Secrete CC-Chemokine Ligand 2 and Induce Tamoxifen Resistance by Activating PI3K/Akt/mTOR in Breast Cancer. *Cancer Science*, **111**, 47-58. <https://doi.org/10.1111/cas.14230>
- [24] Chen, F., Chen, J., Yang, L., Liu, J., Zhang, X., Zhang, Y., *et al.* (2019) Extracellular Vesicle-Packaged HIF-1 α -Stabilizing lncRNA from Tumour-Associated Macrophages Regulates Aerobic Glycolysis of Breast Cancer Cells. *Nature Cell Biology*, **21**, 498-510. <https://doi.org/10.1038/s41556-019-0299-0>