

间充质干细胞来源外泌体在恶性肿瘤中的研究进展

黄磊^{①②} 宋嘉琪^① 罗超^{①②} 熊欣^{①②} 综述 殷明^② 审校

摘要 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于各种组织中的多能基质细胞。外泌体为细胞间的通讯载体,能在细胞间传递脂质、核酸以及蛋白质等生物活性分子。MSCs 分泌的外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-EXO)为肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的主要组成部分,并且在肿瘤的发生发展、血管生成及转移过程中发挥重要作用。本文旨在对 MSCs 来源的外泌体在癌症研究及其对肿瘤的作用机制予以综述,为适当利用修饰的 MSC-EXO 作为肿瘤治疗的策略提供新思路。

关键词 间充质干细胞 外泌体 肿瘤微环境 药物传递 癌症治疗

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2019.22.181

Research progress of mesenchymal stem cell-derived exosomes in malignant tumors

Lei Huang^{1,2}, Jiaqi Song¹, Chao Luo^{1,2}, Xin Xiong^{1,2}, Ming Yin²

Correspondence to: Ming Yin; E-mail: yinming0791@yahoo.com.cn

¹Graduate School of Medicine, Nanchang University, Nanchang 330006, China; ²Department of Orthopedics, The Second Hospital Affiliated of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Abstract Mesenchymal stem cells (MSCs) are pluripotent stromal cells present in various tissues. Exosomes are intercellular communication carriers that can transfer bioactive molecules such as bioactive lipids, nucleic acids, and proteins between cells. Studies have shown that exosomes secreted by mesenchymal stem cells (MSC-EXO) are a major component of the tumor microenvironment and play an important role in the development, angiogenesis and metastasis of tumors. This review aimed to demonstrate the knowledge of mesenchymal stem cell-derived exosomes in cancer research and its mechanism of action on tumors and provides new ideas for the appropriate use of modified MSC-EXO as a strategy for cancer therapy in the future.

Keywords: mesenchymal stem cell, exosomes, tumor microenvironment, drug delivery, cancer therapy

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)为产生多种效能的原始细胞,能分化为多种不同细胞,如骨细胞、脂肪细胞与软骨细胞。细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)描述为细胞衍生结构,由脂质双层膜组成,为细胞间通讯的介质,通常分为外泌体、微囊泡以及凋亡小体 3 个亚型^[1-2]。有研究表明,以干细胞为基础的治疗方法可以参与肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)形成,并与肿瘤细胞相互作用促进肿瘤生长, MSCs 能通过旁分泌发挥其治疗效能,外泌体正是 MSCs 旁分泌的主要物质,其能够将蛋白质和 RNA 转移至受体细胞并对各类肿瘤细胞的生长产生多种影响^[3]。MSCs 来源的外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-EXO)具有发挥抗肿瘤活性的潜力^[3-4]。已有研究表明,人骨髓间充质干细胞来源的外泌体(bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes, BMSC-EXO)能够通过激活 Hedgehog 信号通路促进恶性肿瘤生长^[5], Hedgehog 通路的激活与多种癌症有密切关联,如神经

管细胞瘤、基底细胞癌、白血病和肺癌等^[6],为外泌体参与肿瘤进展提供了有力证据。本文就 MSC-EXO 对恶性肿瘤的影响及可能的调控机制进行综述。

1 MSCs 与外泌体

MSCs 是一类来源于早期胚胎的中胚层、具有自行更新能力的多潜能祖细胞,可以从骨髓、脂肪、滑膜及外周血等组织中分离^[7], MSCs 在促进肿瘤进展过程中发挥至关重要的作用。有研究表明, MSCs 提供以肿瘤间质形成锚定肿瘤细胞的框架,分泌促进肿瘤生长的因子^[8]。但是 MSCs 存在自身的局限性,如分离采集和运输要求条件高、体外培养过程中不断衰老以及增殖能力有限等,上述因素也一定程度上限制了其在临床上的应用^[9]。MSCs 能够分泌多种生物活性因子参与其与 TME 相互作用的过程,显著改变相邻细胞的关键细胞功能,如生存、凋亡、成熟及分化等,外泌体在其中发挥重要作用^[10]。外泌体为一类直径在 30 ~ 100 nm 之间的胞外囊泡,可在 100 000 g

作者单位:①南昌大学研究生医学部(南昌市 330006);②南昌大学第二附属医院骨科

通信作者:殷明 yinming0791@yahoo.com

下离心收集,在 -80°C 的环境中储存^[11]。外泌体包含特定 DNA、脂质、RNA 和胞质蛋白质,如微管蛋白、肌动蛋白和肌动蛋白结合蛋白以及负责细胞内运输和膜融合的膜联蛋白。此外还有热休克蛋白(heat shock protein, HSP),如 HSP70 和 HSP90,与包括 CD9、CD63、CD81 或 CD82 在内的四分子交联体,这些也常用作外泌体标记物^[11-12]。外泌体能够作为肿瘤早期诊断的潜在生物标记物,以及治疗恶性肿瘤的药物载体,用于基因治疗^[13]。MSC-EXO 包含多种 mRNA 和 microRNA,能够传递给其他细胞并使受体细胞发生一系列生物学反应^[14],通过对不同基因或 miRNA 的调控能够发挥促进或抑制肿瘤细胞生长的作用^[15]。

2 MSC-EXO 在肿瘤中的作用

肿瘤的微环境由不同的细胞类型组成,如成纤维细胞、免疫细胞和内皮细胞,这种微环境与肿瘤之间的相互作用对肿瘤细胞的生长和进展至关重要。MSC-EXO 能够作为旁分泌介质通过传递信号分子发挥作用,这些信号分子能够通过控制一些细胞途径来调节肿瘤细胞增殖、血管生成和转移等过程。

2.1 肿瘤生长

外泌体对肿瘤进展的影响已经受到广泛关注, MSC-EXO 可通过支持或抑制两种方式影响肿瘤的发展^[15]。有研究发现, MSC-EXO 能够通过转移支持肿瘤的 miRNAs 和蛋白质促进乳腺癌细胞的增殖及转移^[16],该研究表明多种促进肿瘤的 miRNAs,如 miR-21 和 miR-34a 富集在 MSC-EXO 之中,这也表明 MSC-EXO 促进肿瘤增殖的能力可能与 miRNAs 相关的机制有关。有研究提示,骨髓 MSCs 来源的外泌体(BMSCs-EXO)在骨肉瘤和胃癌细胞系中通过激活 Hedgehog 信号通路促进肿瘤生长^[5],同时研究还发现 MSC-EXO 含有基质金属蛋白酶-2,可能参与促进肿瘤微环境的重组和生长这一过程。虽然 MSC-EXO 在肿瘤微环境中主要介导肿瘤促进作用,但也有研究表明 MSC-EXO 具有抑制肿瘤活性的能力^[10,15]。有研究发现,脂肪 MSCs 来源的外泌体能够转运 miRNA-145,通过降低 Bcl-xl 的活性与 caspase-3、caspase-7 途径促进肿瘤细胞凋亡来抑制前列腺癌的生长^[17]。有研究发现,在子宫内膜癌模型的治疗过程中,miR-302A 负载的 HUMSCs-EXO 具有抗癌作用,其可通过抑制细胞周期蛋白 D1 的表达和 AKT 信号通路而抑制子宫内膜癌细胞的增殖和迁移,同时这些外泌体还具有肿瘤归巢能力,显示其在肿瘤靶向递送中的趋势^[18]。上述研究结果之间的差异可能与多种因素相关,如 MSCs 培养的标准化条件,因为 MSCs 培养条件可能影响分泌生物活性因子的整体特征。此外,提取外泌体的 MSCs 来源不同也是重要因

素,虽然 MSC-EXO 中 RNA 载物因其组织来源的不同而存异,但是 MSC-EXO 的疗效并不取决于 MSCs 的组织,尽管有研究报导不同组织来源 MSCs 分泌的营养因子对软骨形成有相似的影响^[9],发挥相似功能,但是不同组织来源的 MSCs 对肿瘤的作用存在不同的影响,如多发性骨髓瘤患者骨髓 MSCs 来源的外泌体能够促进多发性骨髓瘤细胞增殖,除了较高的 miRNA 含量外,其他因素如较高数量的细胞因子和黏附分子也可能参与肿瘤的促进作用,而从正常人骨髓 MSCs 分离出的外泌体能够通过转移较低量的 miRNA-15a 抑制多发性骨髓瘤细胞的生长^[15],表明 MSCs 的来源对肿瘤的抑制或促进至关重要。

2.2 血管生成

血管生成成为肿瘤发生过程中必不可少的生理步骤,外泌体含有多种血管生成因子,能够调控肿瘤血管生成, MSC-EXO 可通过提高肿瘤细胞中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的产生及通过刺激 ERK1/2 和 P38 丝裂原活化蛋白激酶途径来刺激血管生成^[15], MSC-EXO 还能通过将 mRNAs 和 miRNAs 转运至靶细胞并诱导内皮细胞增殖,从而促进血管生成、良好的血流恢复及毛细血管网络的形成。有研究发现,脂肪 MSCs 来源外泌体可被人微血管内皮细胞内化,并促进血管生成,通过这项研究也发现血小板衍生的生长因子可通过促使脂肪 MSCs 分泌富含血管生成因子的外泌体来进一步促进血管生成^[19]。有研究发现,人脑内皮细胞能够通过摄取外泌体分泌的 VEGF-A 来促进血管生成,该研究表明在缺氧的条件下肺癌细胞所分泌的外泌体 miRNA-23a 能够通过靶向脯氨酰羟化酶和紧密连接蛋白 ZO-1 来增加血管生成与提高血管通透性^[20],由此可以推断 MSC-EXO 可通过血管生成蛋白与 miRNA 的转运来诱导细胞间信号传递从而加速血管生成,进一步促进肿瘤细胞增长。虽然有其他报道表明 MSCs 在血管生成过程中起关键作用,但是 MSC-EXO 在血管生成中的作用仍存争议,可能与 MSC-EXO 中的 miRNAs 特异性参与了肿瘤血管生成有关。有研究进行生物信息学分析发现, MSC-EXO 靶向的各种基因的 miRNA 含量与血管生成有关,因此血管生成素可能是 MSC-EXO 在血管生成诱导中的关键靶标^[21]。其他因素如致癌蛋白、细胞因子和黏附分子的数量也被证实参与外泌体介导的血管生成。

2.3 肿瘤转移与侵袭

MSC-EXO 也被证实在肿瘤的转移过程发挥重要作用。有研究发现, MSC-EXO 可将 miRNA-221 转移至胃癌 HGC27 细胞,从而促进肿瘤细胞的生长及迁移^[22],这项实验结果也表明,尽管正常组织和癌组

织中的 MSC-EXO 对肿瘤细胞增殖和迁移具有相似的作用,但从癌组织中获得 MSCs 分泌了富含支持肿瘤细胞的 miRNA-221 的外泌体,因此有利于癌症的促进和迁移,这与上述所言相一致,表明 MSCs 的来源不同对肿瘤的作用存在差异。也有研究发现, MSC-EXO 可诱导 Wnt 信号转导活化,促进乳腺癌细胞的生长和迁移,以及来自肿瘤微环境的 MSCs 可通过离子型嘌呤能信号传导促进乳腺癌细胞增殖与转移,该过程也与 MSC-EXO 密切相关^[22]。MSC-EXO 也由多种多功能的蛋白质组成,有研究报导大量的 20S 蛋白酶体的所有 7 个 α 链、7 个 β 链以及免疫蛋白酶体的 3 个 β 亚基存在于 MSC-EXO 之中,表明其能够通过蛋白酶体靶向肿瘤细胞^[23-24]。MSC-EXO 的肿瘤或抗肿瘤的特征可能取决于培养 MSCs 和促进外泌体形成的环境以及要利用的肿瘤模型有关,因为肿瘤的微环境和宿主的条件可能与促进/抑制肿瘤有关,因此部分研究结果并未得到所进行实验的充分验证,亟需进一步给出详细的数据进行评估。

2.4 修饰 MSC-EXO 及其在肿瘤方面的应用

在传统治疗中,缺乏对病变部位的选择性是主要的弊端,大部分 MSCs 对肿瘤表现出内在的趋向性,使其成为抗癌药物靶向输送的潜在细胞,通过对此类 MSCs 进行加工修饰以表达抗癌药物,可以有效地靶向进入肿瘤部位,这类基与外泌体的新策略有望成为一类新型替代疗法,因为其比相应的 MSCs 更具优势,如药物毒性、免疫原性更低,不良反应更少,且外泌体的生产及储存也更便利^[18],除了将药物加载到外泌体中的方法外,还可以应用各种修饰方法将 miRNA 封装在外泌体内。有研究表明,抗 miRNA-9 加载的 MSC-EXO 能够逆转耐药胶质母细胞瘤中多药转运蛋白的表达,并逆转了化学耐药性,替代研究表明瘤内注射表达 miRNA-146b 的 MSC-EXO 可显著减少大鼠脑肿瘤模型中神经胶质瘤异种移植的发育,并减少细胞的生长、迁移和侵袭^[25]。根据上述研究发现,miRNA 可将其包装到 MSC-EXO 中,并移植神经胶质瘤肿瘤细胞,这表明修饰后含特定 miRNA 的 MSC-EXO 可能是治疗恶性神经胶质瘤的有效方法。在一项类似的研究中,miRNA-122 转染的脂肪 MSCs 可以生成含有 miRNA-122 的外泌体来传递 miRNA-122 进入肝癌细胞中,通过基因表达改变和体内外肿瘤增殖提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[26],转染的 MSCs 已经在体内实验中用于释放包裹 miRNA-379 的外泌体的乳腺癌治疗,表明修饰的外泌体能被递送到肿瘤部位并发挥治疗作用^[27]。有研究发现,修饰后表达 TRAIL 的 MSC-EXO 能以剂量依赖的方式促进 11 种癌细胞系细胞凋亡^[28],在 MSC-

EXO 介导的 siRNA 基因递送中也观察到相似的结果。有研究通过使用 MSC-EXO 作为载体将 PLK-1 siRNA 转移至膀胱癌细胞中,实现了对 PLK-1 基因的选择性沉默,有效抑制 PLK-1 mRNA 及相关蛋白的表达^[29]。研究发现,乳腺癌细胞能够诱导 MSCs 分泌具有特定 miRNA 的外泌体,根据这一发现能够通过应用装载 antagomiR-222/223 的 MSC-EXO 靶向沉默乳腺癌细胞,达到化学增敏作用并提高乳腺癌患者的生存率^[30]。但是 MSC-EXO 中 RNA 的数量和特性可能因亲代细胞类型和来源的不同而有所不同,因此对各种来源的 MSC-EXO 含量进行全面表征和比较也是极其重要的环节^[31]。

3 结语

近年来, MSC-EXO 在科研领域已经受到广泛关注,由于其便于获取及操作, MSC-EXO 在治疗应用中具有巨大的潜力。相比于 MSCs 的全细胞疗法, MSC-EXO 有良好的耐受性,并且免疫原性的不良反应风险更低^[32],尽管已有研究证实 MSC-EXO 是安全有效的,但是 MSC-EXO 应用在临床治疗中还需要对其生物发生、药代动力学和生物分布机制等进一步深入探究。外泌体为 TME 的重要组成部分,参与恶性肿瘤微环境中细胞之间的信息传递,对癌细胞的生长、迁移、侵袭、血管生成等过程发挥重要作用。通过 MSC-EXO 合理进行修饰,对肿瘤进行靶向治疗已经获得初步认识,随着对 MSC-EXO 研究的深入,以及对外泌体提取、分离和药物装载方法的完善与提高,外泌体对肿瘤的靶向治疗,可能在未来癌症治疗中发挥重要作用。

参考文献

- [1] Das S. The extracellular RNA communication consortium: establishing foundational knowledge and technologies for extracellular RNA Research[J]. Cell, 2019, 177(2):231-242.
- [2] Wang B, Li P, Shangguang L, et al. A novel bacterial cellulose membrane immobilized with human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosome prevents epidural fibrosis[J]. Int J Nanomedicine, 2018, (13):5257-5273.
- [3] Whiteside TL. Exosome and mesenchymal stem cell cross-talk in the tumor microenvironment[J]. Semin Immunol, 2018, 35(2):69-79.
- [4] Lazennec G, Lam PY. Recent discoveries concerning the tumor-mesenchymal stem cell interactions[J]. BBA-Reviews on Cancer, 2016, (2):18-24.
- [5] Qi J, Zhou Y, Li Y, et al. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth through hedgehog signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(6):2242-2254.
- [6] Gradilla AC, Gonzalez E, Seijo I, et al. Exosomes as hedgehog carriers in cytoneme-mediated transport and secretion[J]. Nat Commun, 2014, (5):5649.

- [7] Samsonraj RM, Raghunath M, Nurcombe V, et al. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine[J]. *Stem Cell Transl Med*, 2017, 6(12):9.
- [8] Ridge SM, Sullivan FJ, Glynn SA. Mesenchymal stem cells: key players in cancer progression[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):31.
- [9] Drela K, Stanaszek L, Nowakowski A, et al. Experimental strategies of mesenchymal stem cell propagation: adverse events and potential risk of functional changes[J]. *J Stem Cells Int*, 2019, (2019):12-16.
- [10] Norozi F, Ahmadzadeh A, Shahabi S, et al. Mesenchymal stem cells as a double-edged sword in suppression or progression of solid tumor cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9):11679-11689.
- [11] Shi Y, Yang Y, Guo Q, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells promote fibroblast- to- myofibroblast differentiation in inflammatory environments and benefit cardioprotective effects[J]. *Stem Cells*, 2019, 28(12):781-799.
- [12] Gao D, Jiang L. Exosomes in cancer therapy: a novel experimental strategy[J]. *Am Cancer Res*, 2018, 8(11):2165-2175.
- [13] Mathieu M, Martin JL, Lavieu G, et al. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1):9-17.
- [14] Lai RC, Tan SS, Yeo RW, 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):22-28.
- [15] Vakhshiteh F, Atyabi F, Ostad SN, et al. Mesenchymal stem cell exosomes: a two-edged sword in cancer therapy[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, (14):2847-2859.
- [16] Vallabhaneni KC, Penforis P, Dhule S, et al. Extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem/stromal cells transport tumor regulatory micro RNA, proteins, and metabolites[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7):4953-4967.
- [17] Takahara K, Li M, Inamoto T, et al. MicroRNA-145 mediates the inhibitory effect of adipose tissue-derived stromal cells on prostate cancer[J]. *Stem Cells*, 2016, 25(17):1290-1298.
- [18] Li X, Li Z. Effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on co-cultured ovarian carcinoma cells[J]. *Microscopy Res Tech*, 2019, 82(6):898-902.
- [19] Lopatina T, Bruno S, Tetta C, et al. Platelet-derived growth factor regulates the secretion of extracellular vesicles by adipose mesenchymal stem cells and enhances their angiogenic potential[J]. *Cell Commun Signal*, 2014, (12):26.
- [20] Hsu YL, Hung JY, Chang WA, et al. Hypoxic lung cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1[J]. *Oncogene*, 2017, 36(34):4929-4942.
- [21] Ferguson SW, Wang J, Lee CJ, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):1419.
- [22] Wang M, Zhao C, Shi H, et al. Deregulated microRNAs in gastric cancer tissue- derived mesenchymal stem cells: novel biomarkers and a mechanism for gastric cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(5):1199-1210.
- [23] Maffery A, Storini C, Diceglio C, et al. Mesenchymal stem cells from tumor microenvironment favour breast cancer stem cell proliferation, cancerogenic and metastatic potential, via ionotropic purinergic signaling[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):13-16.
- [24] Lai RC, Tan SS, Teh BJ, et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome: Implications for an exosome- dedicated delivery of therapeutic proteasome[J]. *Int J Proteomics*, 2012, (2012):16-19.
- [25] Munoz JL, Bliss SA, Greco SJ, et al. Delivery of functional anti-miR-9 by mesenchymal stem cell-derived exosomes to glioblastoma multiforme cells conferred chemosensitivity[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, (2):26-31.
- [26] Lou G, Song X, Yang F, et al. Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue- derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, (8):112-122.
- [27] O'Brien KP, Khan S, Gilligan KE, et al. Employing mesenchymal stem cells to support tumor- targeted delivery of extracellular vesicle(EV)- encapsulated microRNA-379[J]. *Oncogene*, 2018, 37(16):2137-2149.
- [28] Yuan Z, Kolluri KK, Gowers KH, et al. TRAIL delivery by MSC-derived extracellular vesicles is an effective anticancer therapy[J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1):12-19.
- [29] Greco KA, Franzen CA, Foreman KE, et al. PLK-1 silencing in bladder cancer by siRNA delivered with exosomes[J]. *Urology*, 2016, (91):241-247.
- [30] Bliss SA, Sinha G, Sandiford OA, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulate cycling quiescence and early breast cancer dormancy in bone marrow[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(19):5832-5844.
- [31] Chiu YJ, Cai W, Shih YR, et al. A single-cell assay for time lapse studies of exosome secretion and cell behaviors[J]. *Small*, 2016, 12(27):3658-3666.
- [32] Ma CH, Wu CH, Jou IM, et al. PKR promotes oxidative stress and apoptosis of human articular chondrocytes by causing mitochondrial dysfunction through p38, ARK activation- PLR activation causes apoptosis in human chondrocytes[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(9):2201-2209.

(2019-10-18 收稿)

(编辑:孙喜佳 校对:孙悦)

作者简介

黄磊 专业方向为外泌体在恶性肿瘤领域中的研究。
E-mail:361960059@qq.com

