外泌体在前列腺癌中的研究进展*

陆琳娟[1]　李凌云[1]　金玉翠[1△]

［摘要］ 外泌体是一种富含多种生物活性物质的直径 30～100 nm 的细胞外囊泡。前列腺癌来源的外泌体调控着肿瘤微环境，介导肿瘤的侵袭转移、免疫逃逸和耐药等过程。随着研究的深入，外泌体在肿瘤的早期诊断、治疗等方面显示出巨大的潜力。本文主要对前列腺癌外泌体的生物学功能以及在前列腺癌诊断和治疗中的应用前景作一综述。

［关键词］ 前列腺癌；外泌体；miRNA；诊断；治疗
doi：10.13201/j.issn.1001-1420.2019.12.022
［中图分类号］ R737.25　　［文献标志码］ A

Research progress of exosomes in prostate cancer

LU Linjuan　LI Lingyun　JIN Yucui
(Department of Medical Genetics, Nanjing Medical University, Nanjing, 211166, China)
Corresponding author: JIN Yucui, E-mail: jyc@njmu.edu.cn

Abstract Exosomes are extracellular vesicles with a diameter of 30-100 nm, containing various bioactive molecules. The exosomes derived from prostate cancer regulate the tumor microenvironment and mediate tumor invasion, metastasis, immune escape and drug resistance. As the research moves along, exosomes show great potential in the early diagnosis and therapeutics of tumors. In this review, we summarize the biological functions of prostate cancer exosomes and its potential applications in the diagnosis and therapeutics of prostate cancer.

Key words prostate cancer; exosomes; miRNA; diagnosis; therapeutics

前列腺癌是男性泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤之一。在欧美国家，其发病率位居男性恶性肿瘤首位，死亡率位居第 3。近些年来，我国前列腺癌的发病率逐年升高，由于缺乏有效的早期诊断措施，超过 80%的患者就诊时已发生骨转移[1]。外泌体是一种富含多种生物活性物质的直径 30～100 nm 的细胞外囊泡，可作为细胞间运输载体将信号传递给其他细胞。外泌体在肿瘤微环境中尤其丰富，与肿瘤的增殖、侵袭转移、免疫逃逸和耐药等多种生物学过程相关，其在肿瘤早期诊断、治疗以及预后评估中的应用已成为目前研究的热点。本文将着重阐述外泌体在前列腺癌侵袭转移、免疫逃逸和耐药中的作用以及其在前列腺癌临床诊断和治疗中的应用前景。

1　外泌体的组成及特征

1983 年，Pan 等发现体外培养的绵羊红细胞上清中有膜结构的小囊泡，1987 年，Johnstone 等将其命名为外泌体(Exosomes)。外泌体是细胞通过胞内体内陷形成多泡体，再与细胞膜融合释放的囊泡状小体，直径 30～100 nm，含有多种生物活性物质，如蛋白质、脂类、核酸和病毒颗粒，在细胞间物质和信息传递中发挥着重要的作用[2]。ExoCarta 数据库(http://exocarta.org/)显示，外泌体中包含有 41860 种蛋白质，7540 种 RNA 和 1116 种脂类[3]。外泌体通过与靶细胞膜融合释放其内容物进入胞质，或直接识别靶细胞表面的特异性受体，或通过内吞作用被靶细胞摄取，实现细胞间的信号传递，调控细胞增殖、分化、炎症、肿瘤的侵袭转移等过程[4]。外泌体广泛存在于人体体液，包括血液、尿液、唾液、淋巴液、乳汁等，也可从体外培养的细胞中分离出来。脂质双层膜结构使其包裹的蛋白质、核酸分子免受蛋白酶、核糖核酸酶的降解，这使得它们在肿瘤的治疗中充当良好的递送载体[5]。

2　前列腺癌外泌体的生物学功能

肿瘤微环境在肿瘤的发生、发展中起着非常重要的作用。早在 1989 年，Paget 提出“种子与土壤”理论，认为肿瘤(种子)之所以能够发生转移并定植于远端组织器官(土壤)，必须与它周围的基质细胞(成纤维细胞、免疫细胞、内皮细胞、骨细胞等)相互作用。以往研究认为这种相互作用主要通过直接作用或细胞因子进行“交流”，近年来研究发现外泌体可作为细胞间信息传递的载体，调控肿瘤微环境，介导肿瘤的侵袭转移、免疫逃逸和耐药等过程。

2.1　前列腺癌外泌体介导肿瘤侵袭转移

很多前列腺癌患者最终死于癌症的转移。有研究表明肿瘤细胞分泌的外泌体可以被特定组织器官的细胞摄取并且协助肿瘤形成转移前微环境。Webber 等[6]发现前列腺癌细胞分泌的外泌体可以

* 基金项目：南京医科大学“十三五”第一批教育研究课题重点项目(编号 ZD2017003)
[1] 南京医科大学医学遗传学系(南京，211166)
△ 审校者
通信作者：金玉翠，E-mail：jyc@njmu.edu.cn

激活 TGF-β/SMAD3 信号通路，促进成纤维细胞转化为肌成纤维细胞，从而具有血管生成的能力，促进肿瘤的增殖和侵袭。Bijnsdorp 等[7]发现前列腺癌细胞外泌体中的整合素$\alpha_3\beta_1$能够促进周围正常细胞的增殖、迁移和侵袭，且其高表达于转移性前列腺癌患者尿液外泌体，可用来预测转移性前列腺癌。此外，Hoshino 等[8]研究证实肿瘤外泌体中整合素可用来预测肿瘤器官特异性转移，其中整合素$\alpha_6\beta_4$和$\alpha_6\beta_1$与肺转移相关，$\alpha_V\beta_5$与肝转移相关。Josson 等[9]发现前列腺癌外泌体中 miR-409 能够抑制 Ras 抑制蛋白 1 和基质抗原促进上皮-间充质转化(EMT)的形成。此外，有研究发现转移性前列腺癌患者外泌体中 miR-21 和 miR-141 能够调节肿瘤微环境中破骨细胞和成骨细胞的活性，介导前列腺癌的骨转移[10,11]。

2.2 前列腺癌外泌体介导肿瘤免疫逃逸

肿瘤外泌体可以通过抑制 T 细胞免疫应答来帮助肿瘤细胞免疫逃逸。Lundholm 等[12]研究发现前列腺癌外泌体下调 NKG2D 介导的 $CD8^+$ T 细胞毒性反应，促进肿瘤免疫逃逸。Salimu 等[13]发现前列腺癌外泌体中 PGE2 能够促进树突状细胞表面的 CD73、CD39 的表达，抑制免疫反应。此外，前列腺癌外泌体中 IL-33、EBAG9 蛋白也与肿瘤免疫逃逸相关[14,15]。Abusamra 等[16]发现前列腺癌外泌体中的 Fas 配体能够诱导 T 淋巴细胞凋亡，介导肿瘤免疫逃逸。

2.3 前列腺癌外泌体介导肿瘤耐药

肿瘤细胞通过外泌体不仅可以排出化疗药物，而且可以转运相应的耐药蛋白使周围的细胞获得耐药性。研究发现多西他赛耐药的前列腺癌细胞分泌的外泌体可以将药物转导体 MDR-1 转导到非耐药的前列腺癌细胞中，使其获得耐药性，这主要与外泌体中 P-糖蛋白相关[17]。Corcoran 等[18]利用 miRNAs 表达谱芯片发现 4 种 miRNAs(miR-598、miR-34a、miR-146a、miR-148a)与前列腺癌的多西他赛耐药性相关。其中，miR-34a 主要通过调控 Bcl-2 介导多西他赛耐药。而 Kharaziha 等[19]发现外泌体中 MDR-1、MDR-3、Endophilin、PABP4 蛋白的高表达与前列腺癌对紫杉醇的耐药相关。

3 前列腺癌外泌体的临床应用

3.1 外泌体 miRNA 与前列腺癌诊断

miRNA 是一种由 19～23 nt 组成的内源性单链非编码 RNA，参与肿瘤增殖、分化、迁移、血管形成、凋亡等过程。研究发现血液中循环 miRNA 可作为肿瘤诊断的生物标志物，然而，由于循环 miRNA 的不稳定性和来源、含量测定的不确定性，限制了其在肿瘤诊断中的应用[20]。miRNA 可被选择性地包裹进外泌体，这是一个主动的过程，可近似真实地反映了亲缘细胞的生物学特征和状态[21]。因此，与循环 miRNA 相比，外泌体 miRNA 可能在肿瘤诊断中具有更为重要的意义。Bryant 等[22]研究发现转移性前列腺患者血清外泌体 miRNA-141、miRNA-375 的表达水平高于健康志愿者，这 2 种 miRNA 可能成为转移性前列腺癌诊断的标志物。Li 等[23]也证实了这一结果。Huang 等[24]研究发现，激素抵抗型前列腺癌患者血浆外泌体中 miR-1290 和 miR-375 的高表达与较低的总生存率明显相关，提示外泌体源性 miR-1290 和 miR-375 可能作为激素抵抗型前列腺癌患者预后的标志物。Bhagirath 等[25]提出外泌体中 miR-1246 的表达与前列腺癌的病理分级、阳性转移和不良预后相关，可作为前列腺癌诊断的标志物。Mahn 等[26]发现前列腺癌患者血清 miR-195、let-7i 表达与 GS 评分及术后切缘阳性显著相关，这些 miRNA 可以用于区分局限性前列腺癌和良性前列腺增生。除血清外，尿液外泌体也富含 miRNA。研究发现，尿液外泌体中 miR-196a-5p、miR-501-3p、miR-21 和 miR-375 可作为前列腺癌诊断的生物标志物[27]。Samsonov 等[28]发现前列腺癌患者尿液外泌体 miR-574-3p、miR-141-5p、miR-21-5p 表达水平均高于健康志愿者，提示这 3 种 miRNA 成为前列腺癌生物标志物的潜能。

3.2 外泌体蛋白与前列腺癌诊断

外泌体包含的蛋白质在前列腺癌的诊断中也起到重要的作用。Webber 等[29]发现乳脂球表皮生长因子 8 和 α-胰蛋白酶抑制剂重链 H4 在前列腺癌外泌体中富集。Hosseini-Beheshti 等[30]提出 Annexin A2、calsyntenin 1、脂肪酸合成、丝状蛋白 C、叶酸水解酶-1 和生长分化因子 15 蛋白可能对前列腺癌的诊断具有特异性。Gabriel 等[31]发现前列腺癌细胞 DU145 外泌体表达 PTEN 蛋白，而健康人外泌体中并未检测到 PTEN 的表达，说明 PTEN 可能可以用于前列腺癌的诊断。另外，有研究发现血清外泌体中 survivin 蛋白、γ-GGT 活性也可用于前列腺癌的诊断[32,33]。Singh 等[34]提出整合素 $\alpha_v\beta_3$ 可作为侵袭性神经内分泌前列腺癌的生物标志物。Wang 等[35]利用质谱、Western blot 方法发现 4 种蛋白(flotillin 2、TMEM256、Rab3B 和 LAMTOR1)大量聚集于前列腺癌患者尿液外泌体，flotillin 2 和 PARK7 蛋白可作为前列腺癌诊断的生物标志物。此外，Nisson 等[36]提出前列腺癌患者尿液外泌体 PCA3 和 TMPRSS2 蛋白可作为前列腺癌诊断的生物标志物。Fujita 等[37]发现 5 种蛋白包括 FABP5、Granulin、AMBP、CHMP4A、CHMP4C，在高 GS 评分的前列腺癌患者尿液外泌体呈现高表达，提示这些蛋白可作为高 GS 评分的

前列腺癌诊断标志物。Sequeiros 等[38]发现联合检测尿液外泌体中 ADSV-TGM4 2 种蛋白，可以区分良恶性前列腺肿瘤，同时 CD63-GLPK5-SPHM-PSA-PAPP 5 种蛋白的联合检测可以用来检测高低评分的前列腺癌患者。

3.3　外泌体与前列腺癌治疗

外泌体能够传递各种生物活性分子，包括蛋白质、DNA、RNA 等。由于外泌体固有的细胞靶向性和稳定性，其可作为化疗药物或特异性肿瘤抗原的良好载体。Saari 等[39]利用前列腺癌细胞来源的外泌体作为运载体携带抗癌药物紫杉醇，将该药物作用于前列腺癌细胞，发现经外泌体包装的紫杉醇具有更强的细胞毒性作用。Takahara 等[40]发现脂肪源性基质（ACS）细胞外泌体中 miR-145 可激活 Caspase-3/7 通路降低 Bcl-xl 活性，促进前列腺癌细胞的凋亡，预示着 ACS 细胞外泌体可用于前列腺癌的治疗。此外，研究人员发现肿瘤分泌的外泌体中具有肿瘤特异性抗原，此抗原可以刺激树突状细胞外泌体的分泌，诱发 T 淋巴细胞反应，揭示了外泌体用于肿瘤免疫治疗的可能[41]。Routree 等[42]研究也认同上述的观点。此外，有研究提出体外制备的纳米级外泌体模拟物直接包装药物或基因，具有较强的靶向递送能力，预示其可能可用于肿瘤的靶向治疗[43]。然而，所有这些研究仍处于实验阶段，外泌体在前列腺癌治疗中的作用仍需要更进一步的临床研究。

4　总结

外泌体是细胞间物质运输和信息交流的重要载体，参与前列腺癌的侵袭转移、免疫逃逸和耐药等生物学过程，其在前列腺癌诊断和治疗中拥有广阔的应用前景。然而外泌体要广泛应用于临床诊断和治疗，仍然面临很多挑战。首先，如何从有限的患者血液、尿液等样本中高效分离外泌体。其次，虽然许多研究报道外泌体源性的 miRNA 和蛋白具有前列腺癌特异性，可能成为前列腺癌诊断的生物标记物，但由于外泌体、细胞和环境因素之间存在复杂的相互作用，目前对于外泌体源性的 miRNA 和蛋白在肿瘤诊断中的特异性和敏感性并不特别清楚。此外，以外泌体为药物载体将其应用于临床肿瘤的治疗还需大量的在体实验研究。相信在不久的将来，随着实验室技术的发展和对外泌体研究的深入，外泌体用于肿瘤的早期筛查、精准诊断和治疗指日可待。

[参考文献]

1　杨进益，杨明州，魏伟，等. 前列腺癌发生发展的流行病学研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志，2017，32(9)：721－725.

2　Su S A，Xie Y，Fu Z，et al. Emerging role of exosome-mediated intercellular communication in vascular remodeling[J]. Oncotarget，2017，8(15)：25700－25712.

3　Keerthikumar S，Chisanga D，Ariyaratne D，et al. ExoCarta：A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo[J]. J Mol Biol，2016，428：688－692.

4　Tian T，Zhu Y L，Hu F H，et al. Dynamics of exosome internalization and trafficking[J]. J Cell Physiol，2013，228(7)：1487－1495.

5　Franzen C A，Blackwell R H，Foreman K E，et al. Urinary Exosomes：The Potential for Biomarker Utility，Intercellular Signaling and Therapeutics in Urological Malignancy[J]. J Urol，2016，195(5)：1331－1339.

6　Webber J P，Spary L K，Sanders A J，et al. Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes[J]. Oncogene，2015，34(3)：290－302.

7　Bijnsdorp I V，Geldof A A，Lavaei M，et al. Exosomal ITGA3 interferes with non-cancerous prostate cell functions and is increased in urine exosomes of metastatic prostate cancer patients[J]. J Extracell Vesicles，2013.

8　Hoshino A，Costa-Silva B，Shen T L，et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis[J]. Nature，2015，527(7578)：329－335.

9　Josson S，Gururajan M，Sung S Y，et al. Stromal fibroblast-derived miR-409 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and prostate tumorigenesis[J]. Oncogene，2015，34(21)：2690－2699.

10　Sugatani T，Vacher J，Hruska K A. A microRNA expression signature of osteoclastogenesis[J]. Blood，2011，117(13)：3648－3657.

11　Zhang H L，Qin X J，Cao D L，et al. An elevated serum miR-141 level in patients with bone-metastatic prostate cancer is correlated with more bone lesions[J]. Asian J Androl，2013，15(2)：231－235.

12　Lundholm M，Schroder M，Nagaeva O，et al. Prostate tumor-derived exosomes down-regulate NKG2D expression on natural killer cells and CD8＋T cells：mechanism of immune evasion[J]. PLoS One，2014，9(9)：e108925.

13　Salimu J，Webber J，Gurney M，et al. Dominant immunosuppression of dendritic cell function by prostate-cancer-derived exosomes[J]. J Extracell Vesicles，2017，6(1)：1368823.

14　Miyazaki T，Ikeda K，Sato W，et al. Extracellular vesicle-mediated EBAG9 transfer from cancer cells to tumor microenvironment promotes immune escape and tumor progression[J]. Oncogenesis，2018，7(1)：7.

15　Saranchova I，Han J，Huang H，et al. Discovery of a Metastatic Immune Escape Mechanism Initiated by the Loss of Expression of the Tumour Biomarker Interleukin-33[J]. Sci Rep，2016，6：30555.

16　Abusamra A J，Zhong Z，Zheng X，et al. Tumor exosomes expressing Fas ligand mediate CD8＋T-cell apoptosis[J]. Blood Cells Mol Dis，2005，35(2)：

169－173.

17 Kato T, Mizutani K, Kameyama 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]. Urol Oncol, 2015, 33 (9): 385 e15－20.

18 Corcoran C, Rani S, O'Driscoll L. miR-34a is an intracellular and exosomal predictive biomarker for response to docetaxel with clinical relevance to prostate cancer progression[J]. Prostate, 2014, 74(13): 1320－1334.

19 Kharaziha P, Chioureas D, Rutishauser D, et al. Molecular profiling of prostate cancer derived exosomes may reveal a predictive signature for response to docetaxel [J]. Oncotarget, 2015, 6(25): 21740－21754.

20 赵强，张宁，杜鹏，等. 前列腺癌循环肿瘤细胞研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志，2017，32(2)：152－156.

21 Gallo A, Tandon M, Alevizos I, et al. The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e30679.

22 Bryant R J, Pawlowski T, Catto J W, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer[J]. Br J Cancer, 2012, 106(4): 768－774.

23 Li Z, Ma Y Y, Wang J, et al. Exosomal microRNA-141 is upregulated in the serum of prostate cancer patients [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 139－148.

24 Huang X, Yuan T, Liang M, et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer[J]. Eur Urol, 2015, 67(1): 33－41.

25 Bhagirath D, Yang T L, Bucay N, et al. microRNA-1246 Is an Exosomal Biomarker for Aggressive Prostate Cancer[J]. Cancer Res, 2018, 78(7): 1833－1844.

26 Mahn R, Heukamp L C, Rogenhofer S, et al. Circulating microRNAs(miRNA)in serum of patients with prostate cancer[J]. Urology, 2011, 77(5): 1265. e9－16.

27 Rodriguez M, Bajo-Santos C, Hessvik N P, et al. Identification of non-invasive miRNAs biomarkers for prostate cancer by deep sequencing analysis of urinary exosomes[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 156.

28 Samsonov R, Shtam T, Burdakov V, et al. Lectin-induced agglutination method of urinary exosomes isolation followed by mi-RNA analysis: Application for prostate cancer diagnostic[J]. Prostate, 2016, 76(1): 68－79.

29 Webber J, Stone T C, Katilius E, et al. Proteomics analysis of cancer exosomes using a novel modified aptamer-based array(SOMAscan)platform[J]. Mol Cell Proteomics, 2014, 13(4): 1050－1064.

30 Hosseini-Beheshti E, Pham S, Adomat H, et al. Exosomes as biomarker enriched microvesicles: characterization of exosomal proteins derived from a panel of prostate cell lines with distinct AR phenotypes[J]. Mol Cell Proteomics, 2012, 11(10): 863－885.

31 Gabriel K, Ingram A, Austin R, et al. Regulation of the tumor suppressor PTEN through exosomes: a diagnostic potential for prostate cancer[J]. PLoS One, 2013, 8 (7): e70047.

32 Kawakami K, Fujita Y, Matsuda Y, et al. Gamma-glutamyltransferase activity in exosomes as a potential marker for prostate cancer[J]. BMC Cancer, 2017, 17 (1): 316.

33 Khan S, Jutzy J M, Valenzuela M M, et al. Plasma-derived exosomal survivin, a plausible biomarker for early detection of prostate cancer [J]. PLoS One, 2012, 7 (10): e46737.

34 Singh A, Fedele C, Lu H, et al. Exosome-mediated Transfer of alphavbeta3 Integrin from Tumorigenic to Nontumorigenic Cells Promotes a Migratory Phenotype [J]. Mol Cancer Res, 2016, 14(11): 1136－1146.

35 Wang L, Skotland T, Berge V, et al. Exosomal proteins as prostate cancer biomarkers in urine: From mass spectrometry discovery to immunoassay-based validation[J]. Eur J Pharm Sci, 2017, 98: 80－85.

36 Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer[J]. Br J Cancer, 2009, 100(10): 1603－1607.

37 Fujita K, Kume H, Matsuzaki K, et al. Proteomic analysis of urinary extracellular vesicles from high Gleason score prostate cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42961.

38 Sequeiros T, Rigau M, Chiva C, et al. Targeted proteomics in urinary extracellular vesicles identifies biomarkers for diagnosis and prognosis of prostate cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(3): 4960－4976.

39 Saari H, Lazaro-Ibanez E, Viitala T, et al. Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells [J]. J Control Release, 2015, 220(PtB): 727－737.

40 Takahara K, Ii M, Inamoto T, et al. microRNA-145 Mediates the Inhibitory Effect of Adipose Tissue-Derived Stromal Cells on Prostate Cancer[J]. Stem Cells Dev, 2016, 25(17): 1290－1298.

41 Liu H, Chen L, Peng Y, et al. Dendritic cells loaded with tumor derived exosomes for cancer immunotherapy[J]. Oncotarget, 2018, 9(2): 2887－2894.

42 Rountree R B, Mandl S J, Nachtwey J M, et al. Exosome targeting of tumor antigens expressed by cancer vaccines can improve antigen immunogenicity and therapeutic efficacy[J]. Cancer Res, 2011, 71(15): 5235－5244.

43 Zhang P, Zhang L, Qin Z, et al. Genetically Engineered Liposome-like Nanovesicles as Active Targeted Transport Platform[J]. Adv Mater, 2018, 30(7).

（收稿日期：2018-04-27）