

. 综 述 .

# 胞外囊泡源性 miRNA 在胶质母细胞瘤中作用的研究进展

王明明 唐瑞天 综述 刘建雄 审校

【关键词】 胶质母细胞瘤; MicroRNA; 胞外囊泡

【文章编号】 1009-153X(2021)01-0050-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 739.41

胶质瘤是中枢神经系统最常见、最具侵袭性、预后较差的原发性恶性肿瘤,占颅内肿瘤的 50%~60%。胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)属于脑胶质瘤的一种,WHO 分级 IV 级,恶性程度最高,即使积极手术联合放化疗,GBM 治疗效果仍然不佳,平均生存期大约 17 个月<sup>[1]</sup>。本文就胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)源性微小 RNA(miRNA)的生物学特性及其在 GBM 中的作用研究进展进行综述。

## 1 EV 的生物特性

EV 是一类起源于细胞膜的微小颗粒,来源于激活 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞抗原提呈细胞,依据起源、大小以及组成可分为凋亡体、外泌体、微泡、癌小体。凋亡体是最大的 EV,大小 1 000~5 000 nm,可促进细胞的程序性死亡。外泌体是一种最小的囊泡,通过质膜的外向出芽所形成,CD3 和 CD9 被认为在外泌体形成中起关键作用<sup>[2]</sup>,直径 30~100 nm,形态大致为杯状;也可起源于内体膜的内向出芽,多个的外泌体聚集形成多泡体。微泡起源于膜蛋白富积的质膜结构域,最具特征的外泌体能够在细胞间进行信息交流,不仅在正常生理过程中起重要的作用,也参与病理的发生发展,进行信息交流的物质有蛋白质、DNA、miRNA、mRNA、脂质和非编码 RNA 等。癌小体,直径 1~10 μm,起源于膜泡脱落,其中细胞角蛋白 18 最为富集<sup>[3]</sup>,含有大量的参与局部侵袭的生物活性分子,与肿瘤进展相关。

脑组织分泌的 EV 参与神经元、胶质细胞以及内皮细胞之间的信息传递,调节血脑屏障的形成,以及神经系统的功能和神经再生等。GBM 中 EV 含有 miRNA 信号,有小部分反映肿瘤细胞起源的 miRNA,也有少量 miRNA 在肿瘤 EV 中特异性富集。3'端腺苷化的 miRNA 在细胞中相对富集,而 3'端尿苷化的 miRNA 主要存在于 EV 中。

## 2 miRNA 的生物特性

miRNA 属于一种家族性的微小非编码 RNA,大小约 22 个核苷酸,可调控多种细胞功能,如细胞增殖、分化、凋亡、细胞周期和组织发育<sup>[4]</sup>。miRNA 主要通过减少目的基因的表达,减少互补结合的 mRNA 的 3'端非编码区,导致 mRNA 的快速衰变或阻止编码蛋白质的表达。miRNA 由 RNA 聚合酶 II(RNA polymerase II, Pol II)通过蛋白编码基因或者内含区序列转录而来。虽然初级转录体通过 DGosha-DGCR8 复合物,绕过 RNase III,将原始 miRNA 切割为大小约 70 个核苷酸的茎环样前体;再由 RNase III 酶 DICER1 进一步加工成具有 22 个核苷酸的双链 miRNA,之后不稳定的 miRNA 双链加工修饰变成稳定的成熟单链 miRNA。

成熟 miRNA 生成并装载到 argonaute 效应蛋白中,形成 miRNA 诱导沉默复合物的核心,识别并结合 mRNA 3'非编码区,通过 seed 序列互补介导基因沉默<sup>[5]</sup>或抑制表达,促进 miRNA 靶点降解。由于 mRNA 靶向的复杂性,miRNA 可以靶向很多个不同的 mRNA。因此,单独的一个 miRNA 就能够有规律性的调控复杂的生物过程。

## 3 EV 与受体细胞的相互作用

研究表明,受体细胞在体外和体内都对 EV 有很强的吸引力,EV 似乎只是与它们特定识别的细胞相

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.01.017

作者单位:730000 兰州,甘肃中医药大学(王明明);730000 兰州,甘肃省人民医院神经外科(唐瑞天);750000 银川,宁夏医科大学(刘建雄)

通讯作者:刘建雄, E-mail:ljx626390@163.com

互作用。肿瘤来源的 EV 被器官特异性细胞内化,导致肿瘤细胞转移前的微生态改变<sup>[6]</sup>。EV 与受体细胞相互作用的性质很关键,能通过直接刺激受体表面的受体而激发信号,并不需要进入受体细胞<sup>[7]</sup>。EV 也可以直接与受体细胞的质膜融合,将其内容物释放到细胞质中。这种细胞间转移通过致癌受体导致细胞内信号异常,进而导致受体细胞的转化。因此靶细胞可通过内吞作用把 EV 内化,但需要一个初始受体介导的结合步骤,然后达到内部化效应。在 GBM 的 EV 中,这种结合至少在一定程度上由硫酸肝素蛋白多糖介导。一旦内吞, EV 可以通过与膜融合释放其在细胞质中的包含物,也可以通过相邻细胞间的连接,在细胞之间传递信号。

#### 4 EV 源性 miRNA 对微环境的调控

在 GBM 中, EV 富集于几种致癌 miRNA, 包括 miR-21、miR-23a、miR-30a、miR-221 和 miR-451。在 GBM 细胞间信息的传递过程中, EV 介导的致癌 miRNA 可能是调控肿瘤细胞增殖、侵袭和生存的重要机制。同时, GBM 中 EV 源性 miRNA 可以转移到微环境中的非恶性细胞中, 改变其表型, 促进肿瘤进展。van der Vos 等<sup>[8]</sup>发现 GBM 中 EV 与小胶质细胞相互作用, 传递 miR-21、miR-451; 小胶质细胞暴露于 GBM 的 EV 中, 受体细胞中两种 miRNA 水平升高, 导致共同靶细胞原癌基因水平降低。

在 GBM 进展过程中, 缺氧环境可导致肿瘤细胞内应激反应通路的激活, 导致 mRNA 和蛋白富积 EV 的产生。EV 介导 GBM 和内皮细胞之间的缺氧依赖性细胞间通信, 导致肿瘤新生血管的强烈激活。因此, EV 组成的变化及其在缺氧环境下的影响可能是由于 GBM 细胞中 miRNA 信号的改变。有研究表明, 在缺氧过程中, miR-210 可以通过 EV 分泌, 直接影响内皮细胞的反应。细胞 miRNA 表达的变化可能在 miRNA 和蛋白组 mRNA 水平上影响 EV 的组成。

#### 5 miRNA 在 GBM 病理生理中的作用

GBM 的 miRNA 表达失调, 如 miR-221 表达显著上调, miR-128、miR-181a 和 miR-181b 表达下调, 其中 miR-181a 的下调会降低胶质瘤对放疗的敏感性。同时, miRNA 影响多种细胞和分子途径, 如调控胰岛素样生长因子结合蛋白-3、金属蛋白酶组织抑制因子等, 进一步参与 GBM 的病理生理过程。

miRNA 可以通过促进肿瘤抑制基因的转移和沉默在癌症的发生和进展中发挥重要作用。有研究

提示多种 miRNA 在调控 GBM 的发展和进程中具有致癌和抑癌的作用, 如 miR-543 通过金属蛋白酶-9 调控 GBM, 起到抑癌作用<sup>[9]</sup>。GBM 叉头蛋白 M1 的表达与 miR-876-5p 呈负相关, 叉头蛋白 M1 的下调导致 miR-876-5p 过表达, 其抑癌作用更明显<sup>[10]</sup>。GBM 恶性增殖失控等显著特征的发生, 不只是蛋白质编码基因信号通路的失活, 也可能是基因间 miRNA 介导相互作用异常所导致。

#### 6 miRNA 对血管生成的调控

血管内皮生长因子及其受体是肿瘤诱导血管生成的重要介质, 如血管抑制素、内皮抑制素、血栓反应蛋白-1、血栓反应蛋白-2 等。血管的生成是内皮细胞向微血管中萌发, 为肿瘤细胞提供营养与氧气的过程。血管生成与肿瘤细胞的浸润在肿瘤生长和转移方面成正相关, 有基础作用, 更具有促进作用。肿瘤的缺氧环境易诱导肿瘤血管的生成。在新的血管形成过程中, 间充质干细胞可分化为周细胞, 最后迁移形成新的血管。然而间充质干细胞在 GBM 中的血管生成和 miRNA 修饰机制尚不清楚<sup>[12]</sup>。有研究表明 miR-299 参与 GBM 血管生成过程, 牛磺酸上调因子 1 通过直接与 miR-299 结合调控肿瘤血管的生成<sup>[12]</sup>。miR-137 可通过直接靶向组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶的增强子, 调控 GBM 的血管生成<sup>[13]</sup>。

#### 7 miRNA 对代谢的调控

代谢与肿瘤生长有关。miR-451 可作为 GBM 代谢和侵袭的强有力调控因子<sup>[14]</sup>。在高糖环境中, miR-451 在 GBM 中保持高水平的表达, 且通过直接靶向激活腺苷酸活化蛋白激酶的肝激酶 B1, 是腺苷酸活化蛋白激酶复合物的有效抑制剂。GBM 很显著的特征之一是有氧糖酵解, 也被称为 Warburg 效应。miRNA 是一个控制细胞代谢相关基因的转录表达的关键性调控因子, 可通过两种方式调节 GBM 糖酵解代谢。首先, miRNA 可直接调控 GBM, 参与糖摄取和糖代谢基因的表达, 如 miR-106a 抑制葡萄糖转运蛋白 3, 促进糖酵解, 提高葡萄糖通量。miRNAlet-7a 抑制 M2 型丙酮酸激酶<sup>[15]</sup>, 导致上游糖酵解中间体的积累。另外 miRNA 可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 和 RAS 通路调控受体酪氨酸激酶的信号转导, 间接调控糖酵解。

#### 8 EV 源性 miRNA 作为 GBM 生物标志物

单个多个 microRNA 在肿瘤细胞和微环境中调

控基因表达,可能是监测 GBM 复发和化疗反应的非常有价值的生物标志物。然而,最常用的检测手段活检术对 GBM 肿瘤的异质性检测准确度不高。在人的血液<sup>[16]</sup>、唾液、脑脊液、滑液、房水<sup>[17]</sup>等体液中可检测到 EV,可作为诊断和预后生物标志物。miR-21 为 GBM 中上调最多的 miRNA 之一,通过诱导与 caspase3 活性,降低相关促凋亡蛋白表达,保护 GBM 细胞免受替莫唑胺诱导的凋亡。Qu 等<sup>[18]</sup>在 meta 分析中指出,细胞外的 miR-21 可作为诊断脑肿瘤的生物标志物,其具有一定的准确性。

综上所述, EV 源性 miRNA 在受体细胞中的摄取和处理的机制尚不清楚,但在 GBM 的生长、侵袭过程中具有重要作用。

【参考文献】

[1] 魏若伦,陈若琨,薛亚轲,等. 胶质母细胞瘤的预后影响因素分析[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2018, 23(9): 393-396.

[2] Abels ER, Breakefield XO. Introduction to extracellular vesicles: biogenesis, rna cargo selection, content, release, and uptake [J]. Cell Mol Neurobiol, 2016; 36(3): 301-312.

[3] Minciocchi VR, You S, Spinelli C, et al. Large oncosomes contain distinct protein cargo and represent a separate functional class of tumor-derived extracellular vesicles [J]. Oncotarget, 2015; 6(13): 11327-11341.

[4] Gulyaeva LF, Kushlinskiy NE. Regulatory mechanisms of microRNA expression [J]. J Transl Med, 2016; 14(1): 143.

[5] Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing [J]. Nat Rev Genet, 2015, 16(7): 421-433.

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

[7] Patel B, Patel J, Cho JH, et al. Exosomes mediate the acquisition of the disease phenotypes by cells with normal genome in tuberous sclerosis complex [J]. Oncogene, 2016, 35(23): 3027-3036.

[8] van der Vos KE, Abels ER, Zhang X, et al. Directly visu-

alized glioblastoma-derived extracellular vesicles transfer rna to microglia/macrophages in the brain [J]. Neuro Oncol, 2016, 18(1): 58-69.

[9] Ji T, Zhang X, Li W. MicroRNA543 inhibits proliferation, invasion and induces apoptosis of glioblastoma cells by directly targeting adam9 [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 6419-6427.

[10] Wang L, Lu J, Zhang H, et al. MicroRNA8765p inhibits the progression of glioblastoma multiforme by directly targeting forkhead box m1 [J]. Oncol Rep, 2019, 41(1): 702-710.

[11] Yi D, Xiang W, Zhang Q, et al. Human glioblastoma-derived mesenchymal stem cell to pericytes transition and angiogenic capacity in glioblastoma microenvironment [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(1): 279-290.

[12] Cai H, Liu X, Zheng J, et al. Long non-coding rna taurine upregulated 1 enhances tumor-induced angiogenesis through inhibiting microRNA-299 in human glioblastoma [J]. Oncogene, 2017, 36(3): 318-331.

[13] Sun J, Zheng G, Gu Z, et al. Mir-137 inhibits proliferation and angiogenesis of human glioblastoma cells by targeting ezh2 [J]. J Neurooncol, 2015, 122(3): 481-489.

[14] Bronisz A, ChioCCA EA, Godlewski J. Response to energy depletion: Mir-451/ampk loop [J]. Oncotarget, 2015, 6(20): 17851-17852.

[15] Luan W, Wang Y, Chen X, et al. Pkm2 promotes glucose metabolism and cell growth in gliomas through a mechanism involving a let-7a/c-myc/hnrnpa1 feedback loop [J]. Oncotarget, 2015, 6(15): 13006-13018.

[16] Westphal M, Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas [J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(10): 556-566.

[17] van der Merwe Y, Stekete MB. Extracellular vesicles: biomarkers, therapeutics, and vehicles in the visual system [J]. Curr Ophthalmol Rep, 2017, 5(4): 276-282.

[18] Qu K, Lin T, Pang Q, et al. Extracellular mirna-21 as a novel biomarker in glioma: Evidence from meta-analysis, clinical validation and experimental investigations [J]. Oncotarget, 2016, 7(23): 33994-34010.

(2019-02-24 收稿, 2019-07-20 修回)