

· 综 述 ·

外泌体在脑胶质瘤诊治中的研究进展

董林正 综述 王 诚 李炜昕 审校

【关键词】脑胶质瘤;诊断;外泌体
【文章编号】1009-153X(2020)02-0121-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41

外泌体是细胞(尤其是肿瘤细胞)分泌到细胞外的小囊泡,其内包含信号传递的受体、生物活性脂质、核酸及蛋白质等。外泌体参与肿瘤进展的多个方面。体液外泌体(包括蛋白质、核酸等)可以作为肿瘤生物标志物。本文就外泌体在脑胶质瘤诊治中的研究进展进行综述。

1 外泌体简介

外泌体的发现最早可以追溯到 1940 年,研究发现血浆中有一种亚细胞结构能促进血液凝固^[1]。1985 年,Johnstone 等^[2]在网织红细胞培养液中分离纯化了一种囊泡样结构,并将其命名为“外泌体”。随后发现 B 细胞分泌外泌体能够激活 T 细胞,为外泌体在疾病治疗领域打开了新的篇章。有研究报道在外泌体中发现核酸(mRNA、miRNA、DNA)、脂质和蛋白质,且其 mRNA 可以被靶细胞翻译成蛋白质^[3]。外泌体广泛存在于如白细胞、内皮细胞、肿瘤细胞等细胞中的小囊泡,大小 40~110 nm,是由多泡体和质膜融合形成的封闭球体,包含信号传递的受体、生物活性脂质、核酸如各种 RNA、DNA 及蛋白质,能反映分泌细胞的生理状态和病理状态(包括肿瘤发生)^[4]。人体大多数体液(如血液、尿液、脑脊液)中可以检测到外泌体,在细胞外液中非常稳定,不易被降解,收集方便,且目前的技术可以分离纯化及定量分析外泌体。

2 外泌体与脑胶质瘤关系

脑胶质瘤是颅内最常见的原发性肿瘤,占中枢神经系统恶性肿瘤的 80%,发病率约 5/10 万,呈浸润性生长^[5],致残率、病死率高,术后极易复发。有学者

用电镜捕捉到脑胶质瘤细胞的外泌体从分泌到脱落的全过程,证实脑胶质瘤细胞可以分泌外泌体。

2.1 外泌体参与脑胶质瘤的发生、发展 外泌体参与胶质瘤的发生、发展的主要途径:①外泌体参与胶质瘤的免疫逃逸。Domenis 等^[6]发现胶质瘤干细胞分泌的外泌体能抑制 T 细胞增殖活化及 Th1 活化因子生成,导致免疫逃逸。②外泌体促进胶质瘤细胞增殖。研究发现胶质瘤干细胞分泌的外泌体参与微小核糖核酸(microRNA, miRNA)的转运,有利于胶质瘤细胞的增殖^[7,8]。③外泌体介导胶质瘤微环境。Kucharzewska 等^[9]发现胶质母细胞瘤分泌的外泌体中含有各种细胞因子,可以促进血管内皮细胞生成,改善胶质瘤血氧微环境。④外泌体提高胶质瘤的侵袭和转移能力。Ma 等^[8]将提取的胶质瘤干细胞相关外泌体植入人类神经胶质瘤 LN229 和 U118 细胞,发现其侵袭、转移能到力明显增强。

2.2 外泌体与胶质瘤治疗的关系 目前,手术切除联合术后放、化疗是胶质瘤的常规治疗手段,虽然能有效缓解病人的症状,延长病人寿命,但复发率很高,病人预后差。通过干预外泌体,有可能成为一种新型胶质瘤治疗手段,主要方法:①外泌体能自由通过血脑屏障,有望成为胶质瘤靶向药物载体;②树突状细胞能分泌外泌体激发肿瘤 T 细胞免疫反应^[10];③外泌体能促进肿瘤微环境中小胶质细胞介导的炎症反应,增强肿瘤化疗耐药性^[11]。

2.3 外泌体与胶质瘤预后、复发的关系 胶质瘤的预后主要取决于病理类型,而相同的组织病理类型的病人预后存在较大差异。目前,暂无有效的实时监测胶质瘤预后的手段。外泌体分子标志物与胶质瘤的预后和复发关系密切。研究发现 miR-21 含量越高,胶质瘤预后越差,越容易复发^[12]。

3 外泌体在脑胶质瘤诊断中研究进展

3.1 脑胶质瘤诊断现状 脑胶质瘤的准确诊断和分

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.02.021
作者单位:518118 广东,深圳市萨米医疗中心神经外科(董林正、王 诚、李炜昕)
通讯作者:王 诚,E-mail:honestking@163.com

级有助于确定脑胶质瘤的治疗方案及预后判断。目前,脑胶质瘤的诊断主要依靠影像学和组织病理学方法。

3.1.1 神经影像学检查 影像学检查不仅能反映肿瘤的形态学改变,更能反映肿瘤的生物学特征。MRI 是目前颅内占位的首选检查,可提供肿瘤形态学及良恶性诊断较可靠的依据。虽然 CT、MRI、PET-CT 等影像学诊断脑胶质瘤技术日益先进,但仍然有假阳性,不够方便快捷等,不易普及^[13,14]。

3.1.2 组织学诊断方法 是对肿瘤组织切片,然后在显微镜下观察其组织形态,是诊断脑胶质瘤的“金标准”^[5]。但是组织学诊断方法有一定局限性:首先,脑胶质瘤的组织形态类型繁多,不同观察者对组织学诊断也存在差异;其次,病理组织检测为侵入性检查,只能通过手术或者立体定向活检才能得到,受病人自身条件或者当地医学条件限制;最后,组织病理学分类不能判断预后,相同的组织病理其预后存在较大差异,也无法进一步划分肿瘤的亚型分类等。

3.2 外泌体在脑胶质瘤诊断中的应用进展 2016 年,WHO 更新了脑胶质瘤的诊断标准,联合了组织学和分子学特征,包括与临床和影像学相关的组织学特点,有助于诊断、预后判断的相关生物学指标,并由基因分析做出的脑胶质瘤亚型分型^[15]。新的标准把基因分型和分子生物标志物纳入脑胶质瘤的诊断,表皮生长因子受体变异 III (epidermal growth factor receptor variant III, EGFRv III)、异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH1)、miR-21 被证实为胶质瘤的特殊标志物^[16]。新的诊断标准主要依据肿瘤生长方式、生物学行为、基因突变等,提高了脑胶质瘤的诊断及预后判断的准确性,为临床诊断脑胶质瘤提供了新的标准^[17]。目前,已证实为胶质瘤特殊分子生物标志物并纳入胶质瘤最新诊断标准的标志物如下。

3.2.1 EGFRv III EGFRv III 与胶质母细胞瘤具有高度特异性。EGFR 基因外显子 2~7 缺失的病人占胶质母细胞瘤总数的 20%~25%。Skog 等^[17]从 30 例胶质母细胞瘤病人血清外泌体中检测到 EGFRv III,其中 14 例在匹配的组织样本中检测到 EGFRv III。这表明基于血清的生物标志物可能比组织样本更能灵敏地检测肿瘤特征。胶质母细胞瘤切除术后血清样本中不再含有 EGFRv III,表明 EGFRv III 可以作为诊断胶质瘤的生物分子标志物。

3.2.2 IDH1/2 突变 IDH1/2 是辅酶 II 依赖的脱氢酶,催化异柠檬酸的氧化脱羧反应生成酮戊二酸。这些

基因突变改变了 IDH1 和 IDH2 的酶活性。对比正常组织及胶质母细胞瘤,发现 80% 的低级别胶质瘤和约 10% 的胶质母细胞瘤中具有这种突变,但未在正常的大脑或身体组织检测到^[19]。在对胶质母细胞瘤组织使用单克隆抗体检测 IDH1 突变型,及使用高灵敏度的 qRT-PCR 或数字 PCR 技术对组织和脑脊液中外泌体来源的 RNA 及血液的 DNA 进行分析,发现对 IDH1/2 突变的鉴定不仅可以作为胶质瘤诊断的生物学标志物,还可以作为改善胶质母细胞瘤生存预后的标志物^[20,21]。

3.2.3 miR-21 miRNA 可通过部分互补序列沉默 mRNA 转录来帮助调节基因表达。鉴于 miRNA 比 mRNA 稳定以及能在外泌体中检测到,外泌体 miRNA 已成为生物分子标志物的研究热点。miR-21 是胶质母细胞瘤细胞中一种过表达的 miRNA,在胶质母细胞瘤中介导多种重要的致癌功能,包括抑制细胞凋亡、促进细胞增殖和耐药 DNA 表达等。Akers 等^[22]从胶质母细胞瘤病人脑脊液的外泌体中分离到的 miR-21 比对照组高 10 倍,而手术切除后脑脊液外泌体中的 miR-21 水平下降了一个数量级。

综上所述,脑胶质瘤是颅内最常见的恶性肿瘤,致残率、病死率高,术后极易复发,而外泌体中含有分泌细胞相关的遗传信息,参与脑胶质瘤发生发展的多个环节,可以从血液、尿液、脑脊液等多种体液中分离获得,是目前胶质瘤分子生物标志物研究的热点之一,但仍有很多问题有待进一步探索,外泌体如何进行细胞间信息传递? 能否找到其特异性靶点以阻止其促进脑胶质瘤的发展? 最重要的是目前还不清楚哪种外泌体对脑胶质瘤的早期诊断最有价值,外泌体在脑胶质瘤患者中的动态监测对预后判断的价值也值得进一步研究。

【参考文献】

- [1] Chargaff E, West R. The biological significance of the thromboplastic protein of blood [J]. J Biol Chem, 1946, 166 (1): 189-197.
- [2] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, *et al.* Vesicle formation during reticulocyte maturation: association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. J Biol Chem, 1987, 262: 9412-9420.
- [3] Whiteside TL. Exosomes and tumor-mediated immune suppression [J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1216-1223.
- [4] Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer

- [J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1208–1215.
- [5] Ferris SP, Hofmann JW, Solomon DA, *et al.* Characterization of gliomas: from morphology to molecules [J]. Virchows Arch, 2017, 471(2): 471–257.
- [6] Domenis R, Cesselli D, Toffoletto B, *et al.* Systemic T cells immunosuppression of glioma stem cell-derived exosomes is mediated by monocytic myeloid-derived suppressor cells [J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169932.
- [7] 张国滨, 聂秀涛, 张昀昇, 等. 不同氧环境下胶质瘤干细胞源性外泌体携带 miRNAs 对肿瘤增殖作用的研究[J]. 中华神经外科杂志, 2017, 33(5): 508–512.
- [8] Ma C, Nguyen H, Paradiso L, *et al.* P08. 35 Exosomes derived from glioma stem cells (GSCs) promote cell migration, proliferation and radiation resistance in brain cancer [J]. Neuro Oncol, 2017, 19(suppl 3): iii61.
- [9] Kucharzewska P, Christianson HC, Welch JE, *et al.* Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(18): 7312–7317.
- [10] Zheng L, Li Z, Ling W, *et al.* Exosomes derived from dendritic cells attenuate liver injury by modulating the balance of Treg and Th17 cells after ischemia reperfusion [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(2): 740–756.
- [11] 杨建凯, 齐雪姣, 焦保华, 等. GBM 细胞来源外泌体促进小胶质细胞介导的炎症反应[J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(11): 1311–1315.
- [12] Suehiro T, Miyaaki H, Kanda Y, *et al.* Serum exosomal microRNA122 and microRNA21 as predictive biomarkers in transarterial chemoembolization-treated hepatocellular carcinoma patients [J]. Oncol Lett, 2018, 19(6): 3267–3273.
- [13] Yeung TP, Bauman G, Yartsev S, *et al.* Dynamic perfusion CT in brain tumors [J]. Eur J Radiol, 2015, 84(12): 2386–2392.
- [14] Yamamoto Y, Ono Y, Aga F, *et al.* Correlation of ¹⁸F-FLT uptake with tumor grade and Ki-67 immunohistochemistry in patients with newly diagnosed and recurrent gliomas [J]. J Nucl Med, 2012, 53(12): 1911–1915.
- [15] Malzkorn B, Reifenberger G. Practical implications of integrated glioma classification according to the World Health Organization classification of tumors of the central nervous system 2016 [J]. Curr Opin Oncol, 2016, 28(6): 494–501.
- [16] Hirano M, Ohka F, Maeda S, *et al.* A novel high-sensitivity assay to detect a small fraction of mutant IDH1 using drop-let digital PCR [J]. Brain Tumor Pathol, 2018, 35(2): 1–9.
- [19] Bush NAO, Butowski N. The effect of molecular diagnostics on the treatment of glioma [J]. Curr Oncol Rep, 2017, 19(4): 26.
- [20] Hole P, Sillence K, Hannell C, *et al.* Interlaboratory comparison of size measurements on nanoparticles using nanoparticle tracking analysis (NTA) [J]. J Nanopart Res, 2013, 15(12): 2101–2112.
- [21] Neal A, Kwan P, O'Brien TJ, *et al.* IDH1 and IDH2 mutations in postoperative diffuse glioma-associated epilepsy [J]. Epilepsy Behavior, 2018, 78: 30–36.
- [22] Lin P, Luo Y, Zhu S, *et al.* Isocitrate dehydrogenase 2 mutations correlate with leukemic transformation and are predicted by 2-hydroxyglutarate in myelodysplastic syndromes [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(6): 1037–1047.
- [23] Jones PS, Dunn GP, Barker FG, *et al.* Molecular genetics of low-grade gliomas: genomic alterations guiding diagnosis and therapeutic intervention: 11th Annual Frye-Halloran Brain Tumor Symposium [J]. Neurosurg Focus, 2013, 34(2): E9.
- [24] Akers JC, Ramakrishnan V, Kim R, *et al.* miR-21 in the extracellular vesicles (EVs) of cerebrospinal fluid (CSF): a platform for glioblastoma biomarker development [J]. Plos One, 2013, 8(10): e78115.

(2019-07-16 收稿, 2019-09-16 修回)