

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.01.013

· 综述 ·

## 外泌体在多发性骨髓瘤中的作用及其临床应用

### The role of exosomes in multiple myeloma and its clinical application

邱森<sup>a</sup>综述;陈奎生<sup>ab</sup>审阅(郑州大学 a. 第一附属医院 病理科; b. 河南省肿瘤病理重点实验室, 河南 郑州 450052)

**[摘要]** 外泌体是由细胞分泌的内含蛋白或核酸等活性物质、直径为35~120 nm的脂质双分子层囊泡。外泌体通过调控细胞间通讯,不仅参与调控细胞的正常生理过程,同时参与包括肿瘤在内的多种疾病的病理过程。肿瘤来源的外泌体参与肿瘤细胞与微环境的相互作用,并通过与转移、免疫抑制等相关信号通路刺激肿瘤的发生与发展。多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是最为常见的血液系恶性肿瘤之一,其具体发病机制尚未完全清楚,且缺乏安全、高效的诊疗手段。而外泌体因携带丰富的生物学信息,为肿瘤的治疗提供了一个新的靶点。因此,本文就外泌体在MM发生和发展中的作用及其以外泌体为基础的诊疗新方向作一综述。

**[关键词]** 外泌体;肿瘤;多发性骨髓瘤;肿瘤微环境

**[中图分类号]** R733.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)01-0082-04

恶性肿瘤是复杂的器官病变。一方面,肿瘤细胞通过改变基质细胞及细胞外基质,构建适宜肿瘤生长和转移的肿瘤微环境;另一方面,基质细胞携带的信息干预肿瘤的发展<sup>[1]</sup>。肿瘤微环境中的细胞间通讯是肿瘤发展的重要影响因素<sup>[2]</sup>,而肿瘤细胞来源的外泌体因携带肿瘤细胞遗传信息,近年来备受关注<sup>[3]</sup>。外泌体是一种可由多种细胞分泌的、广泛存在于体液中的直径为35~120 nm的呈杯状或碟状的细胞外囊泡,由脂质双分子层包含蛋白及核酸等内容物构成<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>表明,肿瘤细胞分泌的外泌体量是正常细胞的10倍以上,分泌量与肿瘤恶性程度相关。多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性浆细胞疾病<sup>[6]</sup>,MM细胞可破坏骨髓微环境稳态,但由于耐药性表型的不断出现,使其目前仍然难以治愈<sup>[7]</sup>。本文主要论述MM微环境中外泌体在肿瘤发生和发展中的作用及其机制,以更好地攻克肿瘤诊疗的难题。

#### 1 外泌体在MM中的作用

外泌体通过在肿瘤微环境中运输肿瘤相关蛋白及核酸调控细胞间通讯,对肿瘤的生长、血管生成、侵袭、转移及免疫逃逸产生重要影响<sup>[8]</sup>。在MM进展中,外泌体通过调控肿瘤微环境中MM细胞、间充质基质细胞(mesenchymal stromal cell, MSC)、血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)、破骨细胞及免疫细胞等细胞之间的相互作用,促进MM细胞增殖、血管生成、骨质溶解等病理过程<sup>[9]</sup>。

##### 1.1 外泌体促进MM细胞增殖

MM细胞分泌的外泌体,通过上调miR-21和

miR-146a表达,可促进MSC的增殖和向肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)的分化<sup>[10]</sup>。miR-146a还可促进MSC分泌IL-6、TGF- $\beta$ 等细胞因子,参与MM细胞增殖、血管生成和转移<sup>[11]</sup>。外泌体可将miR-146a传递至骨髓MSC中,使MSC中miR-146a过表达,激活下游Notch信号通路,促进CXCL1、IL6、IL-8、IP-10、MCP-1和CCL-5等细胞因子和趋化因子的分泌,从而增强MM细胞的增殖和迁移能力<sup>[12]</sup>。lncRNA LINC00461在MSC来源的外泌体中表达水平增高,其与miR-15a/16结合后可降低对原癌基因Bcl-2的抑制作用,促进MM细胞的增殖<sup>[13]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMMSC)分泌的外泌体通过减少肿瘤抑制miRNA如miR-15a,同时增加致癌蛋白、细胞因子、黏附蛋白及迁移蛋白等内容物,影响肿瘤微环境,促进MM细胞的增殖、扩散等疾病进程<sup>[14]</sup>。难治型或复发型MM患者的MM细胞表现出低miR-15a水平<sup>[15]</sup>。

##### 1.2 外泌体促进MM血管生成

肿瘤的生长及转移需要通过血管提供氧气及营养,而肿瘤细胞分泌的外泌体携带miRNA影响着肿瘤血管的生成<sup>[16]</sup>。MM分泌的外泌体内包含多种促血管生成因子如血管生成素、bFGF、VEGF<sup>[17]</sup>,还可通

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81570199, No. U1704173)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81570199, No.U1704173)

**[作者简介]** 邱森(1989-),男,硕士,医师,主要从事多发性骨髓瘤的相关研究, E-mail: 190021620@qq.com

**[通信作者]** 陈奎生(CHEN Kuisheng, corresponding author), 博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤病理学的研究, E-mail: chenks2002@163.com

过调控 STAT3、JNK、Akt、p38、p53 等多条通路<sup>[18]</sup>, 直接促进内皮细胞生长。骨髓是一个生理性缺氧的环境, MM 浸润的骨髓其氧含量会进一步降低<sup>[19]</sup>, 外泌体促进血管生成的能力在缺氧环境下大大增强<sup>[20]</sup>。将 MM 细胞在体外缺氧环境(1% O<sub>2</sub>)下培养 6~7 个月, 诱导成为耐低氧能力的 HR-MM 细胞。HR-MM 细胞在低氧环境下上调 miR-135b 的表达, 并以外泌体的形式释放至细胞外, 可直接与内皮细胞的 FIH-1 3'-UTR 结合, 下调 FIH-1 的表达, 并通过 HIF-FIH 信号通路促进血管生成<sup>[21]</sup>。

### 1.3 外泌体促进破骨细胞的形成及分化

超过 60% 的 MM 患者在初诊时即出现溶骨性骨病的临床症状, 表现为病理性骨折、骨髓压迫、骨痛、高钙血症, 甚至出现肾功能障碍等<sup>[22-23]</sup>。MM 骨病主要是由 MSC 的成骨潜能降低和破骨细胞活力增强所导致的。MM 细胞分泌的外泌体富含 lncRNA RUNX2-AS1, 传递至 MSC 后, 富集的 lncRNA RUNX2-AS1 能够与 RUNX2 pre-mRNA 形成 RNA 双链体, 该双链体通过降低剪接效率来抑制 RUNX2 的转录表达, 从而导致 MSC 向成骨细胞分化的潜能降低<sup>[24]</sup>。RAIMONDO 等<sup>[25]</sup>发现, MM 细胞分泌的外泌体中富集的双调蛋白 AREG, 能够诱导激活破骨细胞前体细胞及破骨细胞的 EGFR 途径, 使其下游目的基因 SNAIL 的转录表达升高, 直接促进破骨细胞形成及分化。此外, AREG 还可通过作用于 MSC, 间接抑制成骨细胞的分化, 促进 MM 细胞黏附及增加促破骨细胞生成细胞因子 IL-8 和 RANKL 的分泌。MM 细胞分泌的外泌体还可提高破骨细胞前体细胞 CXCR4 的表达, 诱导破骨细胞前体细胞的迁移; 通过激活破骨细胞 PI3-Kinase/AKT 通路, 增强破骨细胞的活力和抗凋亡基因的表达; 还可刺激骨溶解相关因子 CTSK、MMP9 及 TRAP 的表达<sup>[26]</sup>。随着破骨细胞数量和活力的增强, 细胞间接触和 IL-6、B 细胞激活因子分泌增加, 进一步促进 MM 细胞的增殖, 形成了骨损伤与肿瘤细胞增殖的恶性循环。

### 1.4 外泌体抑制免疫功能

WANG 等<sup>[18]</sup>对小鼠每 2 d 注射一次 MM 外泌体, 3 周后可观察到髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)增多, 表明 MM 外泌体对 MDSC 有促进作用。MM 外泌体通过激活 STAT3 通路, 上调抗凋亡因子 Bcl-xL 和 Mcl-1 的表达, 增强 MDSC 的活力, 活化的 MDSC 表达高水平的精氨酸酶 1 和诱导性一氧化氮合酶(induced nitric oxide synthase, iNOS), 从而抑制 T 细胞功能。MM 外泌体在 mRNA 和蛋白质水平上促进 iNOS 的表达, 表明外泌体可能具有抑制 T 细胞的能力, 在 MM 免疫抑制中发挥重要

作用。

## 2 外泌体在 MM 诊疗中的应用前景

肿瘤早期诊断能够显著提高患者的治疗效果和预后。肿瘤细胞分泌的外泌体携带原肿瘤细胞的基因型或表型改变信息, 且较易从外周血中分离, 具有成为肿瘤特异性生物标志物的可能。已有大量研究<sup>[27-29]</sup>证明, 外泌体可在多种肿瘤的诊疗中发挥重要作用。李封等<sup>[30]</sup>不久前发现, 通过外泌体传输的 let-7a 作用于 MYC 基因 3'-UTR 区使得该基因沉默, 从而抑制三阴性乳腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力。MM 现有的诊疗技术不够完善, 临床上迫切需要更加有效的生物标志物, 以期指导 MM 的早期诊断、制定个体化诊疗策略并准确评估预后。

IACCINO 等<sup>[31]</sup>基于 MM 细胞分泌的外泌体高表达 Ig-BCR 的特性, 发现利用荧光标记的特异性结合肽(Id-肽)能够快速识别分离出 5T33MM 模型小鼠外周血中的 MM 来源的外泌体, 并且其检出时间较传统的血清蛋白学检测更早, 证明 MM 分泌的外泌体具有早期诊断价值。研究<sup>[32]</sup>发现, MM 患者外泌体内 PSMA3 和 PSMA3-AS1 与无进展生存(PFS)和总生存(OS)率具有一定相关性, 且在动物模型中使用 siPSMA3-AS1 能够增强蛋白酶体抑制剂卡非佐米(Kyprolis)的敏感性, 表明外泌体可能成为蛋白酶体抑制剂耐药的治疗靶点及判断预后的监测因子。FAICT 等<sup>[33]</sup>以 5TGM1 小鼠为研究模型, 发现 MM 外泌体能够增强破骨细胞活性, 同时抑制成骨细胞的分化和功能, 使用 GW4869 抑制外泌体分泌后不仅能够减少骨溶解, 并且能够增强硼替佐米(bortezomib)的敏感性, 提示了外泌体作为 MM 新的治疗靶点的可能性。MANIER 等<sup>[34]</sup>招募 156 例确诊的 MM 患者, 对其外周血中外泌体 miRNA 含量进行随访分析, 发现在同样接受硼替佐米和地塞米松治疗的 5.4 年中, 外泌体 let-7b 和 miR-18a 水平与 PFS 和 OS 呈正相关, 表明外泌体具有提示 MM 预后的可能。VULPIS 等<sup>[35]</sup>发现, 美法仑能够刺激 MM 分泌富含 DAMPs/HSP70 的外泌体, 与 TLR2 结合后增强 NK 细胞的抗肿瘤免疫应答, 证明外泌体在化疗中具有免疫调节作用, 有可能作为评估预后的生物标志物。

## 3 结语

综上所述, 肿瘤外泌体作为生物信息交换的运输载体, 参与细胞间通讯, 调控肿瘤微环境, 在 MM 细胞的增殖、侵袭及免疫应答中发挥重要作用。外泌体携带丰富的生物信息, 同时具有物质运输特性

和生物膜特异性,因此理论上认为可开发为特定肿瘤的治疗剂。尽管外泌体的作用机制尚未完全明了,分离和纯化技术也亟需完善,但在一些MM动物模型和小样本临床试验中已经展现出良好的应用前景。随着技术的创新和对MM病理机制的进一步明晰,外泌体作为潜在的药物载体将能够为MM患者提供治疗上新思路。

## [参考文献]

- [1] GE R W, TAN E, SHARGHI-NAMINI S, et al. Exosomes in cancer microenvironment and beyond: have we overlooked these extracellular messengers?[J/OL]. *Cancer Microenviron*, 2012, 5(3): 323-332[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3460057/>. DOI:10.1007/s12307-012-0110-2.
- [2] MAIA J, CAJA S, STRANO MORAES M C, et al. Exosome-based cell-cell communication in the tumor microenvironment[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 18[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5826063/>. DOI:10.3389/fcell.2018.00018.
- [3] RAK J. Extracellular vesicles-biomarkers and effectors of the cellular interactome in cancer[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2013, 4: 21[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3589665/>. DOI:10.3389/fphar.2013.00021.
- [4] ZIJLSTRA A, DI VIZIO D. Size matters in nanoscale communication[J/OL]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 228-230[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6652179/>. DOI:10.1038/s41556-018-0049-8.
- [5] ROMA-RODRIGUES C, FERNANDES A R, BAPTISTA P V. Exosome in tumour microenvironment: overview of the crosstalk between normal and cancer cells[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 179486[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4055162/>. DOI:10.1155/2014/179486.
- [6] KAZANDJIAN D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy[J]. *Semin Oncol*, 2016, 43(6): 676-681. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2016.11.004.
- [7] KRISHNAN S R, JAISWAL R, BROWN R D, et al. Multiple myeloma and persistence of drug resistance in the age of novel drugs (Review) [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(1): 33-50. DOI:10.3892/ijo.2016.3516.
- [8] TIAN X, SHEN H, LI Z, et al. Tumor-derived exosomes, myeloid-derived suppressor cells, and tumor microenvironment[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):84. DOI: 10.1186/s13045-019-0772-z.
- [9] MOLOUDIZARGARI M, ABDOLLAHI M, ASGHARI M H, et al. The emerging role of exosomes in multiple myeloma[J]. *Blood Rev*, 2019,38:100595. DOI: 10.1016/j.blre.2019.100595.
- [10] HANDA H, MURAKAMI Y, ISHIHARA R, et al. The role and function of microRNA in the pathogenesis of multiple myeloma[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(11): E1738[2019-04-09].<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6896016/>. DOI: 10.3390/cancers11111738.
- [11] CHENG Q, LI X, LIU J R, et al. Multiple myeloma-derived exosomes regulate the functions of mesenchymal stem cells partially via modulating miR-21 and miR-146a[J/OL]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 9012152[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5733127/>. DOI:10.1155/2017/9012152.
- [12] DE VEIRMAN K, WANG J H, XU S, et al. Induction of miR-146a by multiple myeloma cells in mesenchymal stromal cells stimulates their pro-tumoral activity[J]. *Cancer Lett*, 2016, 377(1): 17-24. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.04.024.
- [13] DENG M Y, YUAN H, LIU S F, et al. Exosome-transmitted LINC00461 promotes multiple myeloma cell proliferation and suppresses apoptosis by modulating microRNA/BCL-2 expression[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(1): 96-106. DOI:10.1016/j.jcyt.2018.10.006.
- [14] ROCCARO A M, SACCO A, MAISO P, et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression[J/OL]. *J Clin Invest*, 2013, 123(4): 1542-1555[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3613927/>. DOI: 10.1172/JCI66517.
- [15] ROCCARO A M, SACCO A, THOMPSON B, et al. MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma[J/OL]. *Blood*, 2009, 113(26): 6669-6680[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2710922/>. DOI: 10.1182/blood-2009-01-198408.
- [16] HE L, ZHU W, CHEN Q, et al. Ovarian cancer cell-secreted exosomal miR-205 promotes metastasis by inducing angiogenesis[J]. *Theranostics*, 2019,9(26):8206-8220. DOI: 10.7150/thno.37455.
- [17] JAKOB C, STERZ J, ZAVRSKI I, et al. Angiogenesis in multiple myeloma[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(11): 1581-1590. DOI:10.1016/j.ejca.2006.02.017.
- [18] WANG J H, DE VEIRMAN K, FAICT S, et al. Multiple myeloma exosomes establish a favourable bone marrow microenvironment with enhanced angiogenesis and immunosuppression[J]. *J Pathol*, 2016, 239(2): 162-173. DOI:10.1002/path.4712.
- [19] ASOSINGH K, DE RAEVE H, DE RIDDER M, et al. Role of the hypoxic bone marrow microenvironment in 5T2MM murine myeloma tumor progression[J]. *Haematologica*, 2005, 90(6): 810-817.
- [20] MARTIN S K, DIAMOND P, GRONTHOS S, et al. The emerging role of hypoxia, HIF-1 and HIF-2 in multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2011, 25(10): 1533-1542. DOI:10.1038/leu.2011.122.
- [21] UMEZU T, TADOKORO H, AZUMA K, et al. Exosomal miR-135b shed from hypoxic multiple myeloma cells enhances angiogenesis by targeting factor-inhibiting HIF-1[J/OL]. *Blood*, 2014, 124(25): 3748-3757[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4263983/>. DOI:10.1182/blood-2014-05-576116.
- [22] HEUSSCHEN R, MULLER J, DURAY E, et al. Molecular mechanisms, current management and next generation therapy in myeloma bone disease[J]. *Leuk Lymphoma*, 2018, 59(1): 14-28. DOI: 10.1080/10428194.2017.1323272.
- [23] D'SOUZA L, BHATTACHARYA D. Plasma cells: you are what you eat [J]. *Immunol Rev*, 2019,288(1):161-177. DOI: 10.1111/imr.12732.
- [24] LI B Z, XU H X, HAN H Y, et al. Exosome-mediated transfer of lncRUNX2-AS1 from multiple myeloma cells to MSCs contributes to osteogenesis[J]. *Oncogene*, 2018, 37(41): 5508-5519. DOI: 10.1038/s41388-018-0359-0.
- [25] RAIMONDO S, SAIIEVA L, VICARIO E, et al. Multiple myeloma-derived exosomes are enriched of amphiregulin (AREG) and activate the epidermal growth factor pathway in the bone microenvironment leading to osteoclastogenesis[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 2[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6325886/>. DOI:10.1186/s13045-018-0689-y.
- [26] RAIMONDI L, DE LUCA A, AMODIO N, et al. Involvement of

- multiple myeloma cell-derived exosomes in osteoclast differentiation[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(15): 13772-13789[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537049/>. DOI: 10.18632/oncotarget.3830.
- [27] MELO S A, SUGIMOTO H, O'CONNELL J T, et al. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis[J/OL]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5): 707-721[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4254633/>. DOI:10.1016/j.ccell.2014.09.005.
- [28] MASAOUTIS C, MIHAILIDOU C, TSOUROUFLIS G, et al. Exosomes in lung cancer diagnosis and treatment. From the translating research into future clinical practice[J]. *Biochimie*, 2018, 151: 27-36. DOI:10.1016/j.biochi.2018.05.014.
- [29] LI W H, LI C Y, ZHOU T, et al. Role of exosomal proteins in cancer diagnosis[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16: 145. DOI:10.1186/s12943-017-0706-8.
- [30] 李封, 张艳, 张琼, 等. 外泌体介导的 Let-7a 通过下调 MYC 表达抑制三阴性乳腺癌细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(9): 962-968. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x. 2019.09.005.
- [31] IACCINO E, MIMMI S, DATTILO V, et al. Monitoring multiple myeloma by idiotype-specific peptide binders of tumor-derived exosomes[J/OL]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 159[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5640902/>. DOI: 10.1186/s12943-017-0730-8.
- [32] XU H, HAN H, SONG S, et al. Exosome-transmitted PSMA3 and PSMA3-AS1 promotes proteasome inhibitors resistance in multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1923-1935. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2363.
- [33] FAICT S, MULLER J, DE VEIRMAN K, et al. Exosomes play a role in multiple myeloma bone disease and tumor development by targeting osteoclasts and osteoblasts[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(11): 105[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6224554/>. DOI:10.1038/s41408-018-0139-7.
- [34] MANIER S, LIU C J, AVET-LOISEAU H, et al. Prognostic role of circulating exosomal miRNAs in multiple myeloma[J/OL]. *Blood*, 2017, 129(17): 2429-2436[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5409448/>. DOI:10.1182/blood-2016-09-742296.
- [35] VULPIS E, CECERE F, MOLFETTA R, et al. Genotoxic stress modulates the release of exosomes from multiple myeloma cells capable of activating NK cell cytokine production: Role of HSP70/TLR2/NF- $\kappa$ B axis[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(3): e1279372[2019-04-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5384384/>. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1279372.

[收稿日期] 2019-04-10

[修回日期] 2019-11-24

[本文编辑] 党瑞山