

## 肿瘤来源外泌体对白血病疾病 进展的调控作用及机制\*

王培龙<sup>1</sup> 李姮<sup>1</sup>

[关键词] 外泌体;白血病;骨髓微环境

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2020.11.016

[中图分类号] R733.7 [文献标志码] A

### The mechanism of tumor-derived exosomes in the regulation of leukemia progression

**Summary** Exosomes are 30-150 nm lipid bilayer vesicles containing biological constituents such as proteins, lipids, nucleic acids. Exosomes are secreted in most body fluids and transfer kinds of cargos to cells, participating in intercellular communication. Leukemia derived exosomes can alter normal bone marrow to tumor-supporting microenvironment and suppress hematopoietic cells, immune cells functions. Exosomes play important roles in supporting tumor growth, immune regulation, drug resistance and tremendously contribute to the development of leukemia.

**Key words** exosomes; leukemia; tumor microenvironment

外泌体是一种直径约 30~150 nm 的具有脂质双层,携带多种蛋白和核酸的小囊泡,它被大多数细胞分泌,并广泛存在于体液中,与细胞间信息传递密切相关。肿瘤来源的外泌体不仅能促进肿瘤细胞自身增殖分化,并能通过携带的物质作用于其他细胞,影响其他细胞的功能。肿瘤源性外泌体通过作用于骨髓间质细胞、免疫细胞,将正常骨髓微环境向肿瘤微环境转变,肿瘤微环境可抑制正常细胞发育,促进白血病细胞分化增殖,抑制凋亡,促进免疫逃逸及耐药,这对白血病的发生发展均有重要作用<sup>[1]</sup>。在此,本文将对肿瘤来源的外泌体对白血病的调控作用及机制进行综述。

#### 1 外泌体概述

外泌体是一种直径约 30~150 nm 的脂质双层囊泡,已知的是,外泌体内含多种蛋白及核酸成分,如 DNA、mRNA、微小 RNA(microRNA, miRNA)及其他非编码 RNA 等。近期研究发现,外泌体内还含有核内成分(nExos),如 gDNA。核内成分进入外泌体的机制可能与细胞衰老,细胞核裂解所形成的微核(MN)有关。nExos 的发现对肿瘤细胞的检测有重要意义<sup>[2]</sup>。

目前,外泌体的分泌及不同成分进入外泌体的机制尚不明确,有研究显示,慢性淋巴细胞白血病(CLL)肿瘤细胞通过激活 B 细胞受体(BCR)信号通路来影响外泌体分泌,CLL 来源外泌体中显示出 CD37、CD63、CD9 分子高表达,miRNA-29、miRNA-150、miRNA-155 及 miRNA-223 富集,同时上述 miRNA 的高表达也会进一步增强 CLL 细胞内 BCR 信号通路,从而扩大肿瘤细胞增殖优

\* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No: 81800198)

<sup>1</sup> 中南大学湘雅二医院分子血液病研究中心(长沙,410000)  
通信作者:李姮,E-mail:liheng001@csu.edu.cn

[42] Agarwal MB, Malhotra H, Chakrabarti P, et al. Myeloproliferative neoplasms working group consensus recommendations for diagnosis and management of primary myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia[J]. Indian J Med Paediatr Oncol, 2015, 36: 3-16.

[43] Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet[J]. J Clin Oncol, 2011, 29: 761-770.

[44] Maze D, Kazi S, Gupta V, et al. Association of Treatments for Myeloproliferative Neoplasms During Pregnancy With Birth Rates and Maternal Outcomes: A

Systematic Review and Meta-analysis [J]. JAMA Netw Open, 2019, 2: e1912666.

[45] Griesshammer M, Sadjadian P, Wille K. Contemporary management of patients with BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms during pregnancy [J]. Expert Rev Hematol, 2018, 11: 697-706.

[46] Koschmieder S, Koppelle A, Seifert H. Ruxolitinib for myelofibrosis [J]. N Engl J Med, 2012, 366: 2031-2032; author reply 2032-2034.

[47] Federici AB, Sacco R, Stabile F, et al. Optimising local therapy during oral surgery in patients with von Willebrand disease: effective results from a retrospective analysis of 63 cases [J]. Haemophilia, 2000, 6: 71-77.

势<sup>[3]</sup>。慢性粒细胞白血病(CML)细胞中,BCR 信号通路活化可诱导 HNRNPA1 表达,调控外泌体内 miRNA 的分选,选择性地 miRNA-320 分选入外泌体,且发现 miRNA-320 对微环境的重塑有重要作用<sup>[4]</sup>。Prieto 等<sup>[5]</sup>发现,CLL 细胞外泌体携带的 S100-A9 蛋白会反过来激活 CLL 细胞内 NF- $\kappa$ B 通路,形成一个自体激活的循环通路,促进肿瘤进展。

## 2 外泌体对骨髓微环境的作用

外泌体对骨髓微环境的作用主要表现在抑制正常造血细胞功能<sup>[6]</sup>,作用于骨髓间质细胞,将正常骨髓微环境向适应肿瘤生长的微环境转变等方面。

研究发现,外泌体携带 miRNA-150 和 miRNA-155 通过抑制转录因子 c-MYB 功能来抑制造血干细胞的分化增殖<sup>[7]</sup>。Zhao 等<sup>[8]</sup>发现急性髓系白血病(AML)细胞及其外泌体内 miRNA-4532 表达上调,在 CD34<sup>+</sup>造血干细胞内表达下调,将 AML 源性外泌体与 CD34<sup>+</sup>造血干细胞共培养后,细胞集落形成受限。肿瘤源性外泌体内 miRNA-4532 通过作用于造血干细胞表面 LDOC1 分子,激活 STAT3 信号通路,使 DKK1 表达上调,从而抑制正常造血功能。慢性粒单核细胞白血病(CMML)患者体内骨髓间充质干细胞及单核细胞分泌带有组织因子的外泌体作用于骨髓微环境,使得微环境中趋于高凝状态,进而破坏正常造血细胞稳态<sup>[9]</sup>。

另一方面,骨髓微环境的转变与骨髓间质细胞功能紊乱有密切关系。Yoshida 等<sup>[10]</sup>发现,AML 源性外泌体通过携带 miRNA-7977 降低骨髓间质细胞内 STK4 表达来抑制 Hippo-YAP1 信号通路,使间质细胞基因调控失调。将 K562 慢性淋巴白血病细胞来源的外泌体作用于人骨髓间质细胞和小鼠巨噬细胞后,可使间质细胞内 TNF- $\alpha$ 、IL-10 等炎症因子水平升高,巨噬细胞内 NO、ROS 水平下调<sup>[11]</sup>。AML 细胞来源的外泌体作用于人骨髓间质细胞可使具有促造血功能的细胞因子(CXCL12、KITL、IL-7、IGF1 等)表达下调,同时促进肿瘤生长的细胞因子(DKK1、IL-6、CCL3)表达上调<sup>[12]</sup>。CLL 来源外泌体携带 miRNA-202-3p,作用于 HS-5 细胞(骨髓间质细胞),使得 Sufu mRNA 表达水平下调,并且可通过提高间质细胞内 c-fos 及 ATM 表达水平来影响间质细胞的增殖及转录水平<sup>[13]</sup>。HuT-102 源性的外泌体将白血病细胞相关基因 miRNA-21、miRNA-155、VEGF 等传递给骨髓间充质干细胞,并诱导激活 NF- $\kappa$ B 通路使骨髓微环境改变<sup>[14]</sup>。研究发现,LAMA84(CML 细胞系)及其分泌的外泌体内的双调蛋白(AREG)

能够激活骨髓间质细胞内 EGFR 信号通路,促进间质细胞内 IL-8 及 MMP9 蛋白高表达。将 LAMA84 源性的外泌体作用于 HS-5 细胞后,膜联蛋白 A2 表达上调,促进白血病细胞在骨髓微环境内的黏附;另一方面,K562 细胞源性的外泌体内的 miRNA-711 可抑制骨髓间充质干细胞黏附分子 CD44 的表达,使其黏附能力下降,这对肿瘤的生长侵袭有重要意义,同时也是骨髓移植失败的重要原因<sup>[15-16]</sup>。Javidi-Sharifi 等<sup>[17]</sup>研究发现,骨髓间质细胞分泌的外泌体携带 FGF2,并作用于白血病细胞上的 FGFR1,使得肿瘤细胞对酪氨酸激酶抑制剂的耐药作用增强。因此,肿瘤细胞与骨髓间质细胞的双向联系促进了骨髓微环境的重塑<sup>[18]</sup>。

另有研究表明,AML 源性外泌体携带转运骨成型蛋白(BMP2),可上调骨髓间充质干细胞内未折叠蛋白元件(UPR)表达水平,来传递内质网应激信号(ER stress),内质网应激反应与 T 细胞免疫调控有关,与 AML 细胞耐药及骨髓微环境的重塑关系密切<sup>[19-20]</sup>。

## 3 外泌体对免疫细胞的作用

外泌体对免疫细胞的调控,对肿瘤细胞的免疫逃逸起到重要作用。研究发现,AML 源性的外泌体使 CD8<sup>+</sup>T 细胞凋亡水平升高,抑制 NK-92 细胞的增殖。AML 源性的外泌体通过激活 NK-92 细胞内的 TGF- $\beta$  和腺苷通路,使其表面 NKG2D 表达减少,细胞毒性作用及免疫功能减弱,且表面 CXCR3 表达下调,抑制 NK-92 细胞的迁移,并且在高热或氧化应激条件下可使外泌体释放增加,继而加重免疫抑制<sup>[21-22]</sup>。多发性骨髓瘤源性的外泌体内 miRNA-16 作用于巨噬细胞 NF- $\kappa$ B 通路 I $\kappa$ -ka/b 成分,使巨噬细胞向 M2 型转化,而 M2 型巨噬细胞对肿瘤的进展有支持作用<sup>[23]</sup>。CLL 源性外泌体内 hY4 作用于巨噬细胞,使得促肿瘤细胞因子如 CCL2、CCL4、IL-6 等分泌增加,但上述反应并不存在于 TLR7 缺乏的巨噬细胞内,提示外泌体源性 hY4 作用于 TLR7 信号途径诱导肿瘤相关炎症的发生。

CLL 细胞还可以通过外泌体携带 miRNA-155 诱导产生髓系来源抑制性细胞(MDSC),MDSC 能够抑制 T 细胞免疫反应,是肿瘤细胞抑制机体免疫的重要途径,维生素 D 能够下调 CLL 内 miRNA-155 的表达,对临床治疗具有指导意义<sup>[24]</sup>。CML 源性外泌体能够上调胸腺调节性 T 细胞内 Foxp3 水平来增强其抑制功能,尤其是抑制 CD8<sup>+</sup>T 细胞的免疫功能,从而减弱其抗肿瘤效应<sup>[25]</sup>。研究发现,CLL 细胞经 CD40/IL-4 刺激后,外泌体分泌增加,且与原代细胞相比,miRNA-363 含量增加,携带 miRNA-363 的外泌体作用于 CD4<sup>+</sup>T 细

胞,可抑制 CD69 的表达。将 CD40/IL-4 刺激后的 CLL 外泌体与 CD4<sup>+</sup>T 细胞共培养后,发现 CD4<sup>+</sup>T 细胞免疫突触形成,细胞增殖能力与迁移能力提高,而肿瘤微环境中活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞(包括滤泡辅助性 T 细胞等)能够产生 CD40L、IL-4/IL-21 等细胞因子,激活 STAT 及 NF- $\kappa$ B 通路,继而促进 CLL 的增殖。因此,CD4<sup>+</sup>T 细胞与白血病细胞之间的双向联系对肿瘤的进展起到重要作用<sup>[26-27]</sup>。但多发性骨髓瘤源性的外泌体内 miRNA-690 可下调 CD4<sup>+</sup>T 细胞内抗凋亡蛋白,如 BCL-2、MCL-1、BCL-xl,激活线粒体凋亡通路,诱导 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡<sup>[28]</sup>。并且,多发性骨髓瘤细胞极大地促进破骨细胞的数量和活性,且破骨细胞内 PD-L1、CD200、T 细胞代谢调节因子吡哆胺 2,3-双加氧酶(IDO)、CD38 表达大幅度上调,破骨细胞通过抑制 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞增殖来保护肿瘤细胞,对多发性骨髓瘤肿瘤微环境中免疫抑制有重要作用<sup>[29]</sup>。

#### 4 外泌体其他作用

除上述作用外,AML 源性外泌体可作用于人脐静脉内皮细胞参与血管重塑<sup>[30]</sup>。弥漫大 B 细胞淋巴瘤微环境中 CD68 表达与微血管密度呈正相关,对肿瘤血管形成有重要意义<sup>[31]</sup>。CML 源性外泌体内 miRNA-92a-3p 下调脂肪干细胞内 C/EBP $\alpha$  表达,使脂肪形成受限,这对肿瘤患者恶病质的发生有重要作用<sup>[32]</sup>。临床上,中枢神经系统浸润是白血病常见并发症,研究发现 B 细胞前体急性淋巴细胞白血病源性外泌体可通过携带 IL-15 作用于星形胶质细胞,产生 VEGF-AA,使得血脑屏障被破坏,促进白血病的侵袭<sup>[33]</sup>。人嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型(HTLV-1)感染是成人 T 细胞白血病发病的重要病因,感染 HTLV-1 的细胞分泌的外泌体携带 HTLV-1 相关致病蛋白及 RNA,导致其他细胞炎症反应,外泌体携带 Tax 多肽可促进 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等多种炎症因子的表达上调,对于人嗜 T 淋巴细胞病毒 1 型相关性脊髓病/热带痉挛性瘫痪(HAM/TSP)的发生有重要作用<sup>[34]</sup>。

#### 5 总结

目前,外泌体在血液系统肿瘤的研究进展较其他系统肿瘤相对缓慢,且研究思路主要局限在探讨外泌体内容物及其功能,主要是 miRNA 及蛋白质,对外泌体内 DNA 的功能研究还甚少。本文介绍了肿瘤源性外泌体在白血病的进展过程中调控作用的最新进展,包括参与骨髓微环境的重塑及介导肿瘤细胞与其他细胞的相互作用。对白血病外泌体深入研究有利于发现更多疾病潜在机制,以及为临床治疗提供更多切入点,例如,gp350<sup>+</sup>外泌体被用于白血病治疗<sup>[35]</sup>,金纳米颗粒(AuNPs)来抑

制外泌体促血管生成作用<sup>[36]</sup>。但血液系统肿瘤多种多样,不同来源外泌体功能亦不相同,因此,更多的研究思路及研究方向还有待探讨。

#### 参考文献

- [1] Gargiulo E, Paggetti J, Moussay E. Hematological Malignancy-Derived Small Extracellular Vesicles and Tumor Microenvironment: The Art of Turning Foes into Friends[J]. *Cells*, 2019, 8: 511.
- [2] Thakur BK, Zhang H, Becker A, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection[J]. *Cell Res*, 2014, 24: 766-769.
- [3] Yeh YY, Ozer HG, Lehman AM, et al. Characterization of CLL exosomes reveals a distinct microRNA signature and enhanced secretion by activation of BCR signaling[J]. *Blood*, 2015, 125: 3297-3305.
- [4] Gao X, Wan Z, Wei M, et al. Chronic myelogenous leukemia cells remodel the bone marrow niche via exosome-mediated transfer of miR-320 [J]. *Theranostics*, 2019, 9: 5642-5656.
- [5] Prieto D, Sotelo N, Seija N, et al. S100-A9 protein in exosomes from chronic lymphocytic leukemia cells promotes NF-kappaB activity during disease progression[J]. *Blood*, 2017, 130: 777-788.
- [6] Boyiadzis M, Whiteside TL. Exosomes in acute myeloid leukemia inhibit hematopoiesis [J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25: 279-284.
- [7] Hornick NI, Doron B, Abdelhamed S, et al. AML suppresses hematopoiesis by releasing exosomes that contain microRNAs targeting c-MYB[J]. *Sci Signal*, 2016, 9: ra88.
- [8] Zhao C, Du F, Zhao Y, et al. Acute myeloid leukemia cells secrete microRNA-4532-containing exosomes to mediate normal hematopoiesis in hematopoietic stem cells by activating the LDOC1-dependent STAT3 signaling pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 384.
- [9] Zannoni J, Mauz N, Seyve L, et al. Tumor microenvironment and clonal monocytes from chronic myelomonocytic leukemia induce a procoagulant climate [J]. *Blood Adv*, 2019, 3: 1868-1880.
- [10] Yoshida M, Horiguchi H, Kikuchi S, et al. miR-7977 inhibits the Hippo-YAP signaling pathway in bone marrow mesenchymal stromal cells [J]. *PLoS One*, 2019, 14: e0213220.
- [11] Jafarzadeh N, Safari Z, Pornour M, et al. Alteration of cellular and immune-related properties of bone marrow mesenchymal stem cells and macrophages by K562 chronic myeloid leukemia cell derived exosomes [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 3697-3710.
- [12] Kumar B, Garcia M, Weng L, et al. Acute myeloid leukemia transforms the bone marrow niche into a leukemia-permissive microenvironment through exosome secretion [J]. *Leukemia*, 2018, 32: 575-587.

- [13] Farahani M, Rubbi C, Liu L, et al. CLL Exosomes Modulate the Transcriptome and Behaviour of Recipient Stromal Cells and Are Selectively Enriched in miR-202-3p[J]. PLoS One, 2015, 10: e0141429.
- [14] El-Saghir J, Nassar F, Tawil N, et al. ATL-derived exosomes modulate mesenchymal stem cells; potential role in leukemia progression[J]. Retrovirology, 2016, 13: 73.
- [15] Corrado C, Saieva L, Raimondo S, et al. Chronic myelogenous leukaemia exosomes modulate bone marrow microenvironment through activation of epidermal growth factor receptor[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20: 1829–1839.
- [16] Jiang YH, Liu J, Lin J, et al. K562 cell-derived exosomes suppress the adhesive function of bone marrow mesenchymal stem cells via delivery of miR-711[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521: 584–589.
- [17] Javidi-Sharifi N, Martinez J, English I, et al. FGF2-FGFR1 signaling regulates release of Leukemia-Protective exosomes from bone marrow stromal cells[J]. Elife, 2019, 8: e40033.
- [18] Habieli DM, Krepostman N, Lilly M, et al. Senescent stromal cell-induced divergence and therapeutic resistance in T cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma[J]. Oncotarget, 2016, 7: 83514–83529.
- [19] Doron B, Abdelhamed S, Butler JT, et al. Transmissible ER stress reconfigures the AML bone marrow compartment[J]. Leukemia, 2019, 33: 918–930.
- [20] Rodvold JJ, Mahadevan NR, Zanetti M. Immune modulation by ER stress and inflammation in the tumor microenvironment[J]. Cancer Lett, 2016, 380: 227–236.
- [21] Hong CS, Danet-Desnoyers G, Shan X, et al. Human acute myeloid leukemia blast-derived exosomes in patient-derived xenograft mice mediate immune suppression[J]. Exp Hematol, 2019, 76: 60–66. e2.
- [22] Hedlund M, Nagaeva O, Kargl D, et al. Thermal-and oxidative stress causes enhanced release of NKG2D ligand-bearing immunosuppressive exosomes in leukemia/lymphoma T and B cells[J]. PLoS One, 2011, 6: e16899.
- [23] Khalife J, Ghose J, Martella M, et al. MiR-16 regulates crosstalk in NF-kappaB tolerogenic inflammatory signaling between myeloma cells and bone marrow macrophages[J]. JCI Insight, 2019, 4: e129348.
- [24] Bruns H, Bottcher M, Qorraj M, et al. CLL-cell-mediated MDSC induction by exosomal miR-155 transfer is disrupted by vitamin D[J]. Leukemia, 2017, 31: 985–988.
- [25] Swatler J, Dudka W, Bugajski L, et al. Chronic myeloid leukemia-derived extracellular vesicles increase Foxp3 level and suppressive activity of thymic regulatory T cells[J]. Eur J Immunol, 2019, 50: 606–609.
- [26] Pascutti MF, Jak M, Tromp JM, et al. IL-21 and CD40L signals from autologous T cells can induce antigen-independent proliferation of CLL cells [J]. Blood, 2013, 122: 3010–3019.
- [27] Smallwood DT, Apollonio B, Willimott S, et al. Extracellular vesicles released by CD40/IL-4-stimulated CLL cells confer altered functional properties to CD4<sup>+</sup> T cells[J]. Blood, 2016, 128: 542–552.
- [28] Zhou J, Yang Y, Wang W, et al. Melanoma-released exosomes directly activate the mitochondrial apoptotic pathway of CD4(+) T cells through their microRNA cargo[J]. Exp Cell Res, 2018, 371: 364–371.
- [29] 安刚, 邱录贵. 破骨细胞促进多发性骨髓瘤免疫抑制微环境的形成 [J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(7): 499–502.
- [30] Wang B, Wang X, Hou D, et al. Exosomes derived from acute myeloid leukemia cells promote chemoresistance by enhancing glycolysis-mediated vascular remodeling [J]. J Cell Physiol, 2019, 234: 10602–10614.
- [31] 吴金锷, 马树沛, 孙玲玲, 等. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤微环境中 CD68 表达与微血管密度的关系及意义 [J]. 临床血液学杂志, 2019, 32(3): 193–196.
- [32] Wan Z, Chen X, Gao X, et al. Chronic myeloid leukemia-derived exosomes attenuate adipogenesis of adipose derived mesenchymal stem cells via transporting miR-92a-3p[J]. J Cell Physiol, 2019, 234: 21274–21283.
- [33] Kinjyo I, Bragin D, Grattan R, et al. Leukemia-derived exosomes and cytokines pave the way for entry into the brain[J]. J Leukoc Biol, 2019, 105: 741–753.
- [34] Otaguiri KK, Dos Santos DF, Slavov SN, et al. TAX-mRNA-Carrying Exosomes from Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1-Infected Cells Can Induce Interferon-Gamma Production In Vitro[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2018, 34: 1075–1082.
- [35] Gartner K, Luckner M, Wanner G, et al. Engineering extracellular vesicles as novel treatment options: exploiting herpesviral immunity in CLL[J]. J Extracell Vesicles, 2019, 8: 1573051.
- [36] Roma-Rodrigues C, Fernandes AR, Baptista PV. Counteracting the effect of leukemia exosomes by antiangiogenic gold nanoparticles[J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 6843–6854.

(收稿日期: 2020-05-08)