

# 外泌体在膀胱癌中作用的研究进展

赵世贤<sup>1,2</sup> 韦海荣<sup>2</sup> 万伟鸣<sup>2</sup> 陈戡<sup>2\*</sup>

1. 昆明医科大学 云南昆明 650000

2. 昆明医科大学第二附属医院 云南昆明 650000

**摘要：**外泌体 (exosome) 大量分散在多种体液中，其中富含核酸、蛋白质等关键的物质，通过自分泌、旁分泌和内分泌等三种方式实现信息的交流与传递，形成一种全新的细胞间交流系统。膀胱癌来源的外泌体在膀胱癌发生、侵袭迁移、诱导耐药和免疫逃逸等过程中发挥着重要作用。本文综述了外泌体的主要生物学特征以及其在膀胱癌进展与诊疗方面的新进展。

**关键词：**外泌体；膀胱癌；诊断；治疗

膀胱癌 (Bladder cancer, BC) 属于泌尿系统普遍性最高的一类恶性肿瘤，其患病率在全球呈现逐年迅速增长的趋势<sup>[1]</sup>。就当前而言，膀胱镜是诊断膀胱癌的金标准，但具有较为明显的缺点如价格较高、有创、操作难度大、受炎症影响而难以保障诊断的准确性等，许多相关专业领域的研究者正聚焦膀胱癌的诊断，探讨更为便捷、准确度更高、伤害更小的方法。

外泌体 (exosome) 属于胞外囊泡，实际有效直径在 30nm 至 100nm，在人体体液如唾液、血液中分布较多，曾被认为只是生物细胞借以向外界进行物质运输所需的“垃圾袋”；它亦是人体生物细胞将碎片移至体外、将特定大分子进行消除的关键途径之一<sup>[2]</sup>。后来的相关接连探讨成果显示，外泌体在人体各大系统中参与了不同的生物学过程，例如蛋白质和核酸转运、胞间通信、抗原提呈、肿瘤侵袭转化等<sup>[3]</sup>，胞间物质传递与信息交流等的关键环节都离不开它。病痛的有效诊治基于近几年聚焦肿瘤外泌体的研究实践获取了创新的发展思路与实践方向，本文将围绕外泌体对膀胱癌的作用与影响，结合相关研究成果，进行针对性的总体性概述。

## 1 外泌体的来源及特征

生物细胞外囊泡 (Extracellular vesicles, EVs) 属于一类微小囊泡的统一名称，这些囊泡具备生物膜结构，由生物细胞主动分泌而出。所有的生物细胞基本上都具有分泌 EVs 的能力，以其大小、产生过程、生物特点等作为依据，可将 EVs 分成 3 类，分别是外泌体 (exosome)、微囊泡 (Microvesicles, MV)、凋亡小体 (apoptotic bodies)<sup>[4]</sup>。其中，外泌体属于纳米精确级囊泡类型之一，产生于生物细胞

内多囊体育生物细胞膜融合后向胞外基质的排放过程，结构类型为双层磷脂分子包裹，应用电镜进行观察时，可见外泌体呈现扁形、球形小体、环状等的形状分布，其中所含的物质类型丰富，包括蛋白、非序号编码 RNA 等。外泌体的产生通常划分成三个时期：第一步，生物细胞质膜第一次内陷产生内吞小体，多个内吞小体互相作用依赖产生最开始阶段核内体 (early endosomes)；第二步，最开始阶段核内体产生多个腔内小囊泡 (intraluminal vesicle, ILVs)，逐渐转化为晚期核内体，也就是多泡体 (multivesicular bodies, MVBs)；最后，胞内的溶酶体将会发挥降解作用，直接处理部分 MVBs，其他部分 MVBs 将会受到 Rab 蛋白家族 (例如 Rab11、Rab27、Rab35 等) 的调控作用影响而与生物细胞膜进行融合，排放生成的小囊泡至外界，外泌体由此形成<sup>[5]</sup>。外泌体产生于质膜的 2 次内陷过程，但其膜结构呈现的是磷脂在内外膜随机分布，与质膜内外膜的磷脂不对称分布存在较为明显的差别。这些外泌体所含的特征性标志蛋白 (四跨膜蛋白家族成员 CD9、CD63、CD81，以及 Alix、TSG101、SNARE、RABGTPase) 普遍地存在于各生物细胞与体液之内。随着研究的深入，这些蛋白已被确立为鉴定外泌体的关键指标，展现了它们在不同生物环境中的一致性和重要性<sup>[6]</sup>。除了特定的蛋白质组成，外泌体也有特殊的脂质组成，如外泌体膜富含神经酰胺、鞘磷脂和胆固醇，上述脂质参加外泌体的产生和分泌过程，在这其中神经酰胺参加腔内小囊泡到多泡体的出芽。

## 2 外泌体在膀胱癌中的作用机制

在细胞交流过程中，外泌体发挥着信息传递的关键

作用，它内部包含的物质在调控如丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mTOR）、苏氨酸蛋白激酶（AKT）等信号传导途径中发挥着分子媒介的作用，促进了遗传信息的交流和受体细胞的重新编程，这对膀胱癌的起始与进展具有显著影响。不仅如此，外泌体还具有传递肿瘤细胞成分至肿瘤微环境中其他细胞的能力，肿瘤细胞接受这些成分之后，便可在外泌体的辅助下对免疫系统的监测进行有效的躲避，同时实现肿瘤自然生态位的进展。

### 2.1 外泌体介导的上皮间质转化处理（EMT）

上皮间质转化处理，指的是上皮细胞之间失去密切链接、丧失生物细胞极性，由此获得讲解处理生物细胞外基质综合水平的表型之一，属于肿瘤生物细胞获得侵袭能力、迁移能力、转化能力的必要机制，亦是这一过程的核心生物学体制。间质细胞具有促成肿瘤细胞发生 EMT 的能力，Goulet 等<sup>[7]</sup>经研究得出结论，释放自肿瘤相关成纤维细胞（CAF）的外泌体可对膀胱癌细胞的体外突起发挥诱导作用，使其实现突起之后进入转化状态，呈现间质细胞的特点。由进一步研究成果可知，外泌体推进膀胱癌侵袭、迁移的关键分子途径就在于 IL-6 信号的激活。Berrondo 等<sup>[8]</sup>通过具体研究总结得出，当对 T24、TCC-SUP 膀胱癌细胞系中外泌体携带的长非编码 RNA-HOTAIR 的表达进行敲低处理时，这两类细胞的上皮间质转化（EMT）过程显著减缓，其在体外的迁移与侵袭能力也会受此影响而出现弱化。此外，他们还发现，具有高转移性特征的膀胱癌细胞，它们分泌的外泌体可对低转移性膀胱癌细胞的 EMT 进行诱导。

Huang 等人<sup>[9]</sup>发现，高级别膀胱癌细胞的外泌体在  $\beta$ -catenin、Notch、Smad2/3 信号通路激活时能引导低级别膀胱癌细胞发生 EMT。这些外泌体的增多可由缺氧环境引起，影响肿瘤微环境中的细胞间沟通<sup>[10]</sup>。Xue 等人<sup>[11]</sup>的研究表明，在缺氧下，高表达 lncRNA-UCA1 的膀胱癌外泌体与低表达 lncRNA-UCA1 的膀胱癌细胞共培养后，外泌体中的 lncRNA-UCA1 显著增加，促进常氧下膀胱癌细胞的 EMT 及肿瘤迁移和侵袭。

### 2.2 外泌体促进血管新生

作为恶性肿瘤发展过程中关键的病理过程，血管新生指的是已有血管产生腔毛细血管的过程，涉及多个差异化的生物学过程如管腔的产生、生物细胞外基质降解处理、血管内皮生物细胞增殖和变迁转化等。肿瘤组织具有较为活跃的

血管新生，使其微血管密度明显高于正常组织。Beckham 等<sup>[12]</sup>的研究结果显示，通过 EGFR 信号通路，膀胱癌外泌体中的表皮生长因子样重复序列、盘菌素样优势应答-3（EDIL-3）可对下游 ERK1/2 发挥激活作用，血管新生受此影响而得以促进。sh-EDIL-3 后，小管形成实验结果显示，无论是血管生成能力还是内皮细胞迁移能力，都呈现出较为显著的增长，且幅度明显。Andreu 等<sup>[13]</sup>的研究表明，促炎因子载脂蛋白 B（ApoB）可对血管内皮生长因子受体（VEGFR1）的表达发挥抑制作用，以抑制血管新生、降低肿瘤局部区域的血液供应。

### 2.3 外泌体介导的免疫应答与逃逸

在免疫调节中，外泌体起“双刃剑”作用。巨噬细胞分泌的外泌体能释放促炎因子和肿瘤坏死因子（TNF），同时增强自然杀伤细胞（NK）活性，并推动树突状细胞（DC）向成熟稳定状态发展，参与 MHC 肽分子递送和抗原呈递，激活免疫系统<sup>[14]</sup>。肿瘤和干细胞来源的外泌体含有调节免疫的因子，如免疫应答因子、非编码 RNA 和细胞因子，帮助肿瘤细胞逃避免疫监测<sup>[15]</sup>。Clayton 等<sup>[16]</sup>的研究表明，膀胱癌细胞外泌体通过 TGF- $\beta$  信号通路抑制淋巴细胞中 NKG2D 表达，该受体对自然杀伤性 T 细胞、CD8+ T 细胞和 NK 细胞活化至关重要，其抑制促进肿瘤发展。

### 3 外泌体在膀胱癌诊断中的作用

无论是肿瘤自身还是其微环境中其他细胞释放的外泌体，都承载着源自这些肿瘤亲本细胞的、可在细胞组织之间自由穿梭的生物组分与信号分子，以“内吞-融合-外排”等机制，参与到生物细胞之间庞大而复杂的综合监控管理网络，密切影响着肿瘤的形成与进展，相当于诊断肿瘤疾病的关键标志物，为临床诊断提供了可靠的理论依据。Li 等人<sup>[17]</sup>的研究发现，膀胱癌患者尿液外泌体中的多肽 N-乙酰氨基半乳糖转移酶 1（GALNT1）水平显著高于健康人，而且这种表达仅见于膀胱癌患者的尿液外泌体，健康人的尿液中则未检测到此表达。在对 Sonic Hedgehog（SHH）信号通路进行有效激活之后，受到 GALNT1 的影响，膀胱癌干细胞能够显著强化其自我更新能力、致使肿瘤形成发展的能力；若缩减 GALNT1，则其生长与进一步的迁移均会受到不同程度是抑制。Zheng 等人<sup>[18]</sup>发现，膀胱癌患者血浆中的长链非编码 RNA-PTENP1 水平低于健康人。正常细胞通过外泌体传递 PTENP1 至膀胱癌细胞，PTENP1 与 miRNA-17 竞争性

结合，促进 PTEN 过表达，从而抑制肿瘤。Wang 等<sup>[19]</sup>的研究揭示了膀胱癌患者尿液中 Lotillin2、TMEM256、Rab3B、LAMTOR1 这四种蛋白质的含量显著上升。经过 Elisa、Western blot 方法的验证，这 4 种蛋白质被证实具有作为膀胱癌早期诊断标志物的潜力，其在区分膀胱癌患者与健康人群时的灵敏度介于 68% 至 83% 之间，特异度则高达 93% 至 94%。Zhan 等<sup>[20]</sup>在具体研究中对膀胱癌患者的尿液与健康人士的尿液进行了比较分析，总结得出 lncRNA-MALAT1、PCAT-1、SPRY4-IT1 的联合检测方式具有最佳的膀胱癌诊断价值，发展前景广阔，有望进展为判别潜在膀胱癌的非侵入性检测标志物，以及该疾病的治疗靶点。崔琪等<sup>[21]</sup>的研究表明，在膀胱癌的辅助诊断方法中，尿液外泌体中的轴突导向因子 -1 (netrin-1, NTN1) 可提供有价值的新线索与新方向。当前而言，外泌体已被应用于膀胱癌的早期诊断，并随着对分子机制的深入研究，未来联合多种生物分子进行膀胱癌的早期诊断、复发监测及随访将变得更加可行。

#### 4 外泌体在膀胱癌治疗中的应用

膀胱癌具有高复发率、高转移率的特征，对于临床而言是一项关键而艰巨的挑战，促使我们不断探索更优化的治疗策略。对于外泌体的作用，过去往往将其视为细胞碎片、产生于代谢环节的废物，后经专业领域的众多研究实践，外泌体对于肿瘤治疗的效果被逐渐证实：一是外泌体依托自身的脂质双层结构有效保护内容物、确保其生物稳定性，避免被 RNA 酶等酶降解。二是外泌体毒性偏低、组织耐受性与生物相互包容性均较为理想，比与传统脂质体化学制剂更具优势。三是外泌体表面表达的多种系统相关蛋白有助于其向靶组织或器官的定向传递，为治疗提供了新途径<sup>[22]</sup>。

##### 4.1 递送工具 RNA

在疾病进展与干预治疗过程中，外泌体发挥的作用不可小觑，它参与病情治疗的多个环节——病原体或有关疾病蛋白的转运等，就其自身的作用而言，除了可能会导致机体患病，也能够帮助机体疾病的治疗。在外循环系统中，siRNA 的稳定性并不理想，也容易被以较快的速度降解；若以外泌体作为递送载体，可以有效解决 siRNA 在体内的不稳定问题。Greco 等人<sup>[23]</sup>的研究表明，从不同膀胱细胞系分离得到的外泌体能稳定转运 siRNA-PLK-1 至体外培养的膀胱癌细胞，并有效实现对 PLK-1 的特异性沉默。鉴于外泌体所含 miRNA 的数量较为理想、大部分的肿瘤细胞会出现 miRNA

表达量降低，可充分利用外泌体的成分特性，进行 miRNA 递送，如借助 miRNA-9-3p 对内皮细胞特异性分子 1 (ESM1) 的下调作用，对细胞凋亡的过程进行诱导。Cai 等人<sup>[24]</sup>提高骨髓间充质干细胞中 miRNA-9-3p 表达后，发现其外泌体中 miRNA-9-3p 含量增加，有效抑制膀胱癌细胞增殖、侵袭和转移，促进凋亡。

##### 4.2 肿瘤疫苗

肿瘤细胞来源的外泌体含有肿瘤特异性抗原，这些抗原能够刺激树突状细胞分泌外泌体，进而调节环磷酸腺苷对肿瘤免疫反应的影响，促进特异性 T 细胞的增殖，引发有效的抗肿瘤免疫反应。这一发现揭示了外泌体在肿瘤免疫治疗中的潜在应用前景<sup>[25]</sup>。Zhang 等<sup>[26]</sup>在研究中进行外泌体疫苗治疗膀胱癌的构建并展开分析，发现膀胱癌源性外泌体的抗肿瘤能力在被糖基磷脂酰肌醇锚定白介素 2 (GPI-IL-2) 修饰之后实现明显增长。就当前而言，在有关膀胱癌免疫系统的实践中，外泌体应用于其中的试验属于初步状态，后续需要开展相对应的临床研究，以支撑这一研究成果。

##### 4.3 药物载体

相较于其他纳米药物载体，外泌体的毒性相对更低、免疫原性相对更少，能在提高被包裹药物稳定性的基础上实现药品剂量的减少，涵盖了以粒子说明修饰的主动靶向特征形成等特点<sup>[27]</sup>。

李思迪等<sup>[28]</sup>的研究显示，将紫杉醇载入外泌体后，外泌体不仅能有效运输药物且保持其功能不受损。在 0.047mg/ml 至 0.095mg/ml 的浓度之内，该载药外泌体可对 50% 的肿瘤细胞凋亡过程发挥诱导作用，体外抗癌效果并不比纯紫杉醇差。研究中的动物模型显示，植物制剂如白藜芦醇、姜黄素和儿茶素可通过外泌体传递，作为单药或辅助疗法，在临床上助力患者实现抗肿瘤效果<sup>[29]</sup>。

#### 5 小结

通过对膀胱癌来源外泌体的研究，让我们从另一个角度了解膀胱癌进展的分子机制。在肿瘤微环境内，外泌体不仅是关键构成之一，还参与了多个胞间信号传导过程、肿瘤产生过程、肿瘤发展过程。随着对外泌体在肿瘤中的作用研究的不断深入，其在临床应用方面将会展现出一个广阔的前景，例如根据血清外泌体的遗传基因测序的肿瘤最开始阶段无创诊治判断和监督管理控制，研发出了靶向外泌体抗肿瘤药品中间作用载体等，这些临床转化研究将为患者带来一种

新的治疗选择。

**参考文献：**

- [1]SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *Ca-cancer j clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [2]HARDING C V, HEUSER J E, STAHL P D. Exosomes: looking back three decades and into the future [J]. *J cell biol*, 2013, 200(4): 367-71.
- [3]WORTZEL I, DROR S, KENIFIC C M, LYDEN D. Exosome-Mediated Metastasis: Communication from a Distance [J]. *Dev cell*, 2019, 49(3): 347-60.
- [4]SHAO H, IM H, CASTRO C M, et al. New Technologies for Analysis of Extracellular Vesicles [J]. *Chem rev*, 2018, 118(4): 1917-50.
- [5]LEE Y, EL ANDALOSSI S, WOOD M J. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy [J]. *Hum mol genet*, 2012, 21(R1): R125-34.
- [6]刘维辉, 陈俊毅, 李毅宁, 朱绍兴. 外泌体应用于膀胱癌诊疗的基础与临床研究进展 [J]. *中国肿瘤*, 2019, 28(01): 50-4.
- [7]GOULET C R, CHAMPAGNE A, BERNARD G, et al. Cancer-associated fibroblasts induce epithelial-mesenchymal transition of bladder cancer cells through paracrine IL-6 signalling [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 137.
- [8]BERRONDO C, FLAX J, KUCHEROV V, et al. Expression of the Long Non-Coding RNA HOTAIR Correlates with Disease Progression in Bladder Cancer and Is Contained in Bladder Cancer Patient Urinary Exosomes [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147236.
- [9]HUANG C S, HO J Y, CHIANG J H, et al. Exosome-Derived LINC00960 and LINC02470 Promote the Epithelial-Mesenchymal Transition and Aggressiveness of Bladder Cancer Cells [J]. *Cells*, 2020, 9(6): null.
- [10]KUMAR A, DEEP G. Hypoxia in tumor microenvironment regulates exosome biogenesis: Molecular mechanisms and translational opportunities [J]. *Cancer lett*, 2020, 479(null): 23-30.
- [11]XUE M, CHEN W, XIANG A, et al. Hypoxic exosomes facilitate bladder tumor growth and development through transferring long non-coding RNA-UCA1 [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 143.
- [12]BECKHAM C J, OLSEN J, YIN P N, et al. Bladder cancer exosomes contain EDIL-3/Del1 and facilitate cancer progression [J]. *J urology*, 2014, 192(2): 583-92.
- [13]ANDREU Z, OTTA OSHIRO R, REDRUELLO A, et al. Extracellular vesicles as a source for non-invasive biomarkers in bladder cancer progression [J]. *Eur j pharm sci*, 2017, 98(null): 70-9.
- [14]BAIG M S, ROY A, RAJPOOT S, et al. Tumor-derived exosomes in the regulation of macrophage polarization [J]. *Inflamm res*, 2020, 69(5): 435-51.
- [15]ALLAN D, TIEU A, LALU M, BURGER D. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles for regenerative therapy and immune modulation: Progress and challenges toward clinical application [J]. *Stem cell transl med*, 2020, 9(1): 39-46.
- [16]CLAYTON A, MITCHELL J P, COURT J, et al. Human tumor-derived exosomes down-modulate NKG2D expression [J]. *J immunol*, 2008, 180(11): 7249-58.
- [17]LI C, DU Y, YANG Z, et al. GALNT1-Mediated Glycosylation and Activation of Sonic Hedgehog Signaling Maintains the Self-Renewal and Tumor-Initiating Capacity of Bladder Cancer Stem Cells [J]. *Cancer res*, 2016, 76(5): 1273-83.
- [18]ZHENG R, DU M, WANG X, et al. Exosome-transmitted long non-coding RNA PTENP1 suppresses bladder cancer progression [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 143.
- [19]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(null): 80-5.
- [20]ZHAN Y, DU L, WANG L, et al. Expression signatures of exosomal long non-coding RNAs in urine serve as novel non-invasive biomarkers for diagnosis and recurrence prediction of bladder cancer [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 142.
- [21]崔琦, 许学文, 杨文娟, et al. 膀胱癌组织及尿液外泌体中 NTN1 的表达与膀胱癌恶性程度的相关性研究 [J]. *解剖科学进展*, 2024, 30(04): 337-40+44.

- [22]LIAO W, DU Y, ZHANG C, et al. Exosomes: The next generation of endogenous nanomaterials for advanced drug delivery and therapy [J]. *Acta biomater*, 2019, 86(null): 1–14.
- [23]GRECO K A, FRANZEN C A, FOREMAN K E, et al. PLK-1 Silencing in Bladder Cancer by siRNA Delivered With Exosomes [J]. *Urology*, 2016, 91(null): 241.e1–7.
- [24]CAI H, YANG X, GAO Y, et al. Exosomal MicroRNA-9-3p Secreted from BMSCs Downregulates ESM1 to Suppress the Development of Bladder Cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18(null): 787–800.
- [25]LIU H, CHEN L, PENG Y, et al. Dendritic cells loaded with tumor derived exosomes for cancer immunotherapy [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(2): 2887–94.
- [26]ZHANG J, ZHANG Y, LUO C, et al. Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored interleukin-2 expressed on tumor-derived exosomes induces antitumor immune response in vitro [J]. *Tumori j*, 2010, 96(3): 452–9.
- [27]INGATO D, EDSON J A, ZAKHARIAN M, KWON Y J. Cancer Cell-Derived, Drug-Loaded Nanovesicles Induced by Sulfhydryl-Blocking for Effective and Safe Cancer Therapy [J]. *Acs nano*, 2018, 12(9): 9568–77.
- [28]李思迪, 侯信, 亓洪昭, et al. 外泌体: 为高效药物投递策略提供天然的内源性纳米载体 [J]. *化学进展*, 2016, 28(Z2): 353–62.
- [29]FAIS S, LOGOZZI M, LUGINI L, et al. Exosomes: the ideal nanovectors for biodelivery [J]. *Biol chem*, 2013, 394(1): 1–15.

#### 作者简介:

赵世贤 (1999—), 男, 汉族, 专业型硕士研究生, 泌尿系结石及肿瘤。