

外泌体 miRNA 在结直肠癌诊断、治疗和预后中的研究进展

雷晓芳 陶叶青

根据全球癌症观察站 2024 年的最新数据,全球结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率持续上升,是全球第三大常见癌症。2022 年报告显示 CRC 新发病例数达到 190 万, 占所有癌症病例的 9.6%。预计到 2050 年, 由于人口老龄化和风险因素的增加, CRC 的新发病例将进一步显著增长^[1]。当前的 CRC 筛查和预后监测手段如大便隐血试验、结肠镜、癌胚抗原等存在灵敏度、特异性不足和高假阳性等问题, 难以满足非侵入性、经济高效的需求^[2-4]。因此, 寻找新的非侵入性诊断和预后标志物尤为重要。微 RNA (microRNA, miRNA) 因其高度稳定性和调控多种基因表达的能力, 成为癌症生物标志物研究的重点。尤其在体液中稳定存在的循环 miRNA, 已展现出在 CRC 诊断和预后监测中的潜力^[5-7]。外泌体中的 miRNA 通过携带和转运特定生物分子, 在 CRC 的发生、发展、转移等过程中发挥作用^[8,9]。本次综述聚焦于 CRC 患者血清或血浆中循环的外泌体 miRNA 在诊断、治疗和预后中的潜在应用价值, 为 miRNA 在 CRC 领域的非侵入性应用前景提供参考。

1 CRC 中的外泌体 miRNAs

1.1 外泌体 miRNA 的来源与功能 miRNA 既可以在血液中以游离状态存在, 也可以存在于直径约 30~100 nm 的胞外囊泡(外泌体)中。外泌体的主要功能是携带特定生物分子, 如脂质、蛋白质、mRNA、miRNA 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 并将其转运至目标细胞, 调控多种疾病的生理与病理过程, 包括肿瘤^[10]。外泌体不仅存

在于血液中, 还可以从唾液、母乳、尿液、羊水及精液等体液中检测到^[8,9]。研究显示, 外泌体中富含 miRNA, 这些 miRNA 在肿瘤免疫调节、化疗耐药性及转移过程中具有重要作用^[11]。

1.2 CRC 外泌体 miRNA 的特征表达与功能 在 CRC 中, 外泌体 miRNAs 的研究揭示了其在癌症生物学中的重要作用。多个研究采用不同的 CRC 细胞系进行了外泌体 miRNAs 表达分析^[12-17]。通过定量逆转录 PCR、miRNA 测序及芯片分析等方法, 研究者详细探索了 miRNAs 在 CRC 发展过程中的分子机制。研究发现, 特定 miRNAs (如 let-7a、miR-1229、miR-1246、miR-150、miR-21、miR-223 及 miR-23a) 在肿瘤细胞系中的表达显著高于非恶性细胞系, 这与 CRC 患者血清中的外泌体 miRNA 表达一致^[12]。此外, Zeng 等^[13]观察到 miR-25-3p 在某些 CRC 细胞系及患者的肿瘤组织和血清外泌体中的表达上调。另有两项研究对 CRC 细胞系 SW620 和 SW480 进行了 miRNA 测序分析, 发现 miR-17-92a 簇在 SW620 细胞衍生的外泌体中上调^[14,15]。更重要的是, 外泌体 miRNAs 的封装过程具有高度特异性。Moshammer 等^[16]发现 miR-21 和 miR-200c-3p 在所有检测的 CRC 细胞系外泌体中显著富集, 而其他 miR-200 家族成员未表现出显著转移。此外, 外泌体 miRNAs 与肿瘤细胞的化疗耐药性密切相关。例如, Jin 等^[17]发现耐奥沙利铂和 5-氟尿嘧啶的 CRC 细胞系中 miR-21-5p 和 miR-1246 在耐药细胞的外泌体中显著上调。

CRC 中的外泌体 miRNAs 呈现出显著的特异性表达, 与癌症进展、转移以及化疗耐药性紧密相关。这些 miRNAs 不仅反映了肿瘤细胞的生物特性, 还在患者血清外泌体中保持稳定的表达模式, 使其具有诊断和预测潜力。深入研究这些 miRNAs 的作用

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2024.011.019

作者单位: 325500 浙江温州, 泰顺县中医院检验科(雷晓芳); 泰顺县人民医院检验科(陶叶青)

通讯作者: 陶叶青, Email: 13758803877@163.com

机制,有助于进一步揭示CRC的发病过程,并为临床诊断、治疗监测和个性化治疗方案提供坚实的分子基础。

2 外泌体miRNAs在CRC诊断中的研究进展

2.1 外泌体miRNAs在早期CRC诊断中的应用 近年来,外泌体miRNAs作为CRC非侵入性诊断生物标志物的研究获得广泛关注。多项研究表明,CRC患者血清或血浆中外泌体miRNAs的表达模式显著不同于健康个体,这些特异性miRNAs为CRC的早期诊断及疾病进展监测提供了可靠工具。Ogata-Kawata等^[12]通过对88例CRC患者、29例术后CRC患者及11例健康个体的血清外泌体miRNAs分析,发现16种miRNAs在CRC患者中显著升高,并在手术后明显下降,提示外泌体miRNAs可反映CRC患者的肿瘤负荷。Karimi等^[18]进一步验证了miR-23a和miR-301的高表达在区分CRC患者与健康人方面具有较高的诊断价值。同时,miR-146a的高表达与CRC患者的免疫抑制性肿瘤微环境相关,有望作为免疫状态的标志物^[19]。

除单个miRNA分析外,还进行了更大规模的筛选研究。Zhu等^[20]对196例CRC患者和138名健康个体的四阶段研究筛选出14种差异表达miRNAs(如miR-19a-3p、miR-21-5p、miR-425-5p),显示出早期诊断的应用潜力。Mohajeri等^[21]的大样本研究发现,血清中的miR-17-92a簇与CRC肝转移和疾病进展呈正相关,其中miR-19a和miR-92a在各阶段CRC患者中均显著高于健康人群,为CRC早期筛查提供了潜在标志物。

2.2 外泌体miRNAs在CRC复发与分期中的应用 在CRC复发与分期的研究中,外泌体miRNAs已被发现具有显著的临床价值。复发性和转移性CRC患者通常需要更为精细的分期,以便制定个性化的治疗方案。而外泌体miRNAs因其在体液中的稳定性和高特异性,已被广泛应用于肿瘤生物标志物的研究。Liu等^[22]通过对辅助治疗后的CRC患者进行miRNA分析,发现miR-4772-3p和miR-4732-5p在复发与非复发患者中表现出显著差异。这些miRNAs的差异化表达可能源于肿瘤在复发过程中的基因表达和信号通路调控变化,提示这些外泌体miRNAs能够敏锐地反映CRC患者的复发风险。miR-4772-3p和miR-4732-5p作为复发监测标志物,能够为临床医生提供重要的预警信息,辅助判断患者是否存在复发的倾向,从而优化随访和治疗

方案。这一发现尤其对于接受辅助治疗的CRC患者具有重要意义,因为复发的早期检测可显著提高再治疗的效果,延长患者生存期。

在分期评估方面, Lee等^[23]的研究通过循环miRNA分析发现miR-323a-3p、miR-382-5p和miR-376a-3p的高表达与CRC患者的淋巴结转移密切相关。这些miRNAs的高表达可能影响着CRC细胞的侵袭和转移能力,尤其是在与淋巴结转移相关的通路中发挥重要作用。例如,miR-323a-3p、miR-382-5p和miR-376a-3p的上调或许会增强肿瘤细胞的迁移和侵袭特性,帮助肿瘤细胞逃避免疫系统的监视,从而加速癌细胞向淋巴结的转移。这一研究成果表明,外泌体miRNAs不仅能为分期评估提供分子标志物,还能深入揭示CRC在不同分期阶段的生物学特征,有助于预测患者的转移风险。

2.3 外泌体miRNAs在肿瘤微环境中的作用与诊断应用 进一步研究显示,特定miRNAs可反映肿瘤微环境的特征。Cheng等^[19]研究发现miR-146a在CRC干细胞外泌体中显著上调,其与CD66中性粒细胞水平相关,并与CD⁸⁺ T细胞的浸润性减弱呈负相关,可能是调控免疫抑制的关键分子。此外, Wang等^[24]的研究显示miR-125a-3p和miR-320c在CRC患者血浆中显著上调,结合传统标志物如癌胚抗原可提高诊断准确性,证明了其在CRC早期筛查中的应用价值。

总体而言,外泌体miRNAs在CRC非侵入性诊断中展现出广阔的应用前景。它们不仅能反映肿瘤负荷和肿瘤微环境变化,还可在早期筛查、疾病分期和复发监测中提供有效指标,具备较高的诊断敏感性和特异性。未来研究应进一步整合外泌体miRNAs与其他生物标志物,推进其在临床中的应用,助力于CRC个性化诊疗方案的开发。

3 外泌体miRNAs在CRC治疗中的研究进展

3.1 外泌体miRNAs在逆转耐药性中的应用 在CRC治疗中,化疗耐药性是限制疗效的主要挑战之一。目前,奥沙利铂和5-氟尿嘧啶是CRC治疗的常用药物,然而化疗耐药显著限制了疗效,因此亟需生物标志物预测耐药性以实现精准治疗。特定外泌体miRNAs的表达模式使其成为区分药物敏感性与耐药性的有效工具,在化疗反应评估中展现出广泛应用前景^[17]。

Jin等^[17]研究了43例Ⅲ期和Ⅳ期CRC患者的血

清样本,发现miR-21-5p、miR-96-5p、miR-1246和miR-1229-5p的组合在化疗前有效区分化疗敏感和耐药患者。此外,成纤维细胞外泌体中富集的lncRNA CCAL通过激活 β -catenin信号通路,增强了CRC细胞对奥沙利铂的耐药性^[25]。在5-氟尿嘧啶耐药性相关研究中,miR-196b-5p在CRC患者血清外泌体中显著上调,进一步加剧了5-氟尿嘧啶的耐药性^[26]。这些研究揭示了外泌体miRNAs在CRC耐药性预测中的标志物作用,为耐药性检测提供了新的手段。

3.2 外泌体miRNAs在药物递送和靶向治疗中的潜力 外泌体作为天然的药物递送载体,因其高生物相容性和靶向性备受关注。通过工程改造外泌体,可以实现特定药物的高效递送并增强治疗效果。例如,通过工程外泌体将miR-21抑制剂寡核苷酸与5-氟尿嘧啶联合递送至耐药CRC细胞,能有效逆转化疗耐药性并提升疗效^[27]。此外,低表达miR-128-3p的CRC患者对奥沙利铂的治疗反应较差,将表达miR-128-3p的外泌体从正常肠道上皮细胞递送至奥沙利铂耐药细胞显著改善了治疗效果^[28]。这一发现进一步证实了外泌体在递送miRNAs和逆转耐药性中的应用潜力。

在靶向治疗领域,特异性修饰的外泌体也为CRC治疗提供了新思路。例如,负载A33抗体的外泌体可携带多柔比星靶向CRC细胞,从而有效抑制肿瘤生长^[29]。这些成果表明,通过工程改造,外泌体不仅可以作为药物递送载体,还能携带功能性miRNAs以干预耐药性。

外泌体miRNAs在CRC治疗中的研究进展为精准医疗带来了新机遇。其在耐药性预测和逆转中的作用,为化疗耐药患者提供了新型生物标志物;在药物递送载体方面,工程化外泌体的研究为新一代靶向治疗提供了创新路径。未来研究可进一步优化外泌体miRNAs的工程化改造技术,将其转化为临床应用,为CRC患者提供更具针对性和安全性的治疗方案。

4 外泌体miRNAs在CRC预后的研究进展

近年来,外泌体miRNAs在CRC预后评估中的作用引起了广泛关注。这些外泌体miRNAs不仅与CRC的分期和病理严重程度密切相关,还被视为不良预后的重要分子标志物。

4.1 外泌体miRNAs在转移风险预测中的应用 近年来,外泌体miRNAs在CRC预后评估中的作用备

受关注。Takano等^[30]对日本240例CRC患者的研究发现,血清中外泌体miR-203的高表达与肿瘤侵袭性及晚期TNM分期显著相关,提示其在肿瘤进展中的作用。Yan等^[31]通过基因芯片技术分析CRC患者血清中的多种miRNAs,发现miR-638和miR-5787的低表达与晚期分期及肝转移相关,表明其低水平表达提示较高的转移风险。

在淋巴结转移风险评估方面,miR-320d的高表达在转移性和非转移性CRC中差异显著,其诊断曲线下面积值为0.633,显示了其在预测转移中的潜力^[32]。研究表明,miR-217与外泌体长链非编码RNA CRNDE-p联合应用能够显著提升CRC诊断的敏感性和特异性,曲线下面积值高达0.9326^[33]。在手术前后的标志物变化方面,Liu等^[2]发现miR-27a和miR-130a在术后表达显著下降,进一步支持其在监测肿瘤负荷方面的应用价值。此外,外泌体miRNAs在肝转移中的特殊作用也备受关注,例如miR-21和白介素-6在转移性患者血清中的水平升高,与晚期CRC的转移显著相关^[34]。

4.2 外泌体miRNAs与CRC患者生存率和无进展生存率的关系 近年来,研究显示,特定外泌体miRNAs的异常表达与CRC患者的生存率及疾病无进展生存率显著相关,尤其是在晚期患者中,这些miRNAs可以作为预后指标。研究表明,miR-6803-5p和miR-6869-5p在CRC患者中的表达水平显著升高,尤其是在晚期患者中,这些miRNAs的高表达与较差的总生存率及疾病无进展生存率显著相关^[35,36]。同样,Fu等^[15]发现miR-17-5p和miR-92a-3p的外泌体表达与转移性CRC相关,表明其可用于转移风险评估。此外,miR-548c-5p在肝转移患者中显著低表达,提示其为进展性疾病的潜在预后指标^[37]。进一步研究也表明,miR-21在TNM II期和III期患者中显著表达,且与不良预后相关,对生存率和无进展生存率影响明显^[38]。这些结果说明miR-21等外泌体miRNAs可以作为分期预后的分子标志物,有助于早期识别高风险患者。

Santassusagna等^[39]通过分析CRC患者肠系膜静脉和外周静脉中的miR-200家族成员,发现miR-200c和miR-141低水平表达与较高的生存率相关,为基于靶器官特异性进行的预后评估提供了新的视角。这一发现不仅进一步加强了miR-200家族在CRC中的重要性,也为靶向器官的分子标志物研究奠定了基础。

5 总结

本次综述系统性地探讨了外泌体 miRNAs 在 CRC 中的多重应用,涵盖其在诊断、治疗及预后评估中的广阔前景,展示了其作为非侵入性生物标志物的独特价值。具体而言,通过总结 CRC 患者血清或血浆中特定外泌体 miRNAs 的表达模式,揭示了这些 miRNAs 在 CRC 早期检测、化疗耐药评估及复发风险预测中的潜在应用价值。CRC 相关外泌体 miRNAs 不仅表现出稳定而特异的表达,还与肿瘤微环境、分期、疾病进展及预后密切相关,为癌症管理提供了有效的工具,为外泌体 miRNAs 在个性化 CRC 诊疗方案中的应用奠定了坚实基础,为肿瘤早期诊断、治疗耐药监测及精准预后提供了重要的前沿支持。

参考文献

- Patel SG, Dominitz JA. Screening for colorectal cancer[J]. *Ann Intern Med*, 2024, 177(4): ITC49-ITC64.
- Liu X, Pan B, Sun L, et al. Circulating exosomal miR-27a and miR-130a act as novel diagnostic and prognostic biomarkers of colorectal cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(7): 746-754.
- Hibner G, Kimsa-furdzik M, Francuz T. Relevance of microRNAs as potential diagnostic and prognostic markers in colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 2944.
- Falzone L, Scola L, Zanghi A, et al. Integrated analysis of colorectal cancer microRNA datasets: Identification of microRNAs associated with tumor development[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(5): 1000-1014.
- Gayosso-gomez LV, Ortiz-quintero B. Circulating microRNAs in blood and other body fluids as biomarkers for diagnosis, prognosis, and therapy response in lung cancer[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11(3): 421.
- Isaac R, Reis FCG, Ying W, et al. Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(9): 1744-1762.
- Miao C, Wang X, Zhou W, et al. The emerging roles of exosomes in autoimmune diseases, with special emphasis on microRNAs in exosomes[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105680.
- Lv J, Zhao HP, Dai K, et al. Circulating exosomal miRNAs as potential biomarkers for Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(22): 2889-2901.
- Zhang Y, Luo J, Yang W, et al. CircRNAs in colorectal cancer: Potential biomarkers and therapeutic targets[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(6): 353.
- Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(2): 455-468.
- Fang T, Lv H, Lv G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 191.
- Ogata-kawata H, Izumiya M, Kurioka D, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e92921.
- Zeng Z, Li Y, Pan Y, et al. Cancer-derived exosomal miR-25-3p promotes pre-metastatic niche formation by inducing vascular permeability and angiogenesis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5395.
- Chen M, Xu R, Rai A, et al. Distinct shed microvesicle and exosome microRNA signatures reveal diagnostic markers for colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210003.
- Fu F, Jiang W, Zhou L, et al. Circulating exosomal miR-17-5p and miR-92a-3p predict pathologic stage and grade of colorectal cancer[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(2): 221-232.
- Moshammer MI, Kalipcian M, Bartsch R, et al. Exosomal microRNA transfer varies with specific microRNAs functional in colorectal cancer and cellular differentiation[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2014, 52(1): 87-88.
- Jin G, Liu Y, Zhang J, et al. A panel of serum exosomal microRNAs as predictive markers for chemoresistance in advanced colorectal cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2019, 84(2): 315-325.
- Karimi N, Ali Hosseinpour Feizi M, Safaralizadeh R, et al. Serum overexpression of miR-301a and miR-23a in patients with colorectal cancer[J]. *J Chin Med Assoc*, 2019, 82(3): 215-220.
- Cheng WC, Liao TT, Lin CC, et al. RAB27B-activated secretion of stem-like tumor exosomes delivers the biomarker microRNA-146a-5p, which promotes tumorigenesis and associates with an immunosuppressive tumor microenvironment in colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(8): 2209-2224.
- Zhu M, Huang Z, Zhu D, et al. A panel of microRNA signature in serum for colorectal cancer diagnosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(10): 17081-17091.
- Mohajeri Khorasani A, Mohammadi S, Raghbi A, et al. miR-17-92a-1 cluster host gene: A key regulator in colorectal cancer development and progression[J]. *Clin Exp Med*, 2024, 24(1): 85.

- 22 Liu C, Eng C, Shen J, et al. Serum exosomal miR-4772-3p is a predictor of tumor recurrence in stage II and III colon cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46):76250-76260.
- 23 Lee IH, Kim G, Kwak SG, et al. Predictive value of circulating miRNAs in lymph node metastasis for colon cancer[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(2):176.
- 24 Wang J, Yan F, Zhao Q, et al. Circulating exosomal miR-125a-3p as a novel biomarker for early-stage colon cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4150.
- 25 Ma Y, Yang Y, Wang F, et al. Long non-coding RNA CCAL regulates colorectal cancer progression by activating Wnt/ β -catenin signalling pathway via suppression of activator protein 2 α [J]. *Gut*, 2016, 65(9):1494-1504.
- 26 Ren D, Lin B, Zhang X, et al. Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30):49807-49823.
- 27 Liang G, Zhu Y, Ali DJ, et al. Engineered exosomes for targeted co-delivery of miR-21 inhibitor and chemotherapeutics to reverse drug resistance in colon cancer[J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1):10.
- 28 Tong D, Zou E, Bai L, et al. IRF-1 mediated long non-coding RNA PVT1-214 promotes oxaliplatin resistance of colorectal cancer via miR-128 inhibition[J]. *J Buon*, 2020, 25(5):2205-2214.
- 29 Li Y, Gao Y, Gong C, et al. A33 antibody-functionalized exosomes for targeted delivery of doxorubicin against colorectal cancer[J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(7):1973-1985.
- 30 Takano Y, Masuda T, Iinuma H, et al. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(45):78598-78613.
- 31 Yan S, Han B, Gao S, et al. Exosome-encapsulated microRNAs as circulating biomarkers for colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(36):60149-60158.
- 32 Tang Y, Zhao Y, Song X, et al. Tumor-derived exosomal miRNA-320d as a biomarker for metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(9):e23004.
- 33 Yu B, Du Q, Li H, et al. Diagnostic potential of serum exosomal colorectal neoplasia differentially expressed long non-coding RNA (CRNDE-p) and microRNA-217 expression in colorectal carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48):83745-83753.
- 34 Shao Y, Chen T, Zheng X, et al. Colorectal cancer-derived small extracellular vesicles establish an inflammatory premetastatic niche in liver metastasis[J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(11):1368-1379.
- 35 Yan S, Jiang Y, Liang C, et al. Exosomal miR-6803-5p as potential diagnostic and prognostic marker in colorectal cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(5):4113-4119.
- 36 Yan S, Liu G, Jin C, et al. MicroRNA-6869-5p acts as a tumor suppressor via targeting TLR4/NF- κ B signaling pathway in colorectal cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9):6660-6668.
- 37 Peng ZY, Gu RH, Yan B. Downregulation of exosome-encapsulated miR-548c-5p is associated with poor prognosis in colorectal cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(2):1457-1463.
- 38 Tsukamoto M, Iinuma H, Yagi T, et al. Circulating exosomal microRNA-21 as a biomarker in each tumor stage of colorectal cancer[J]. *Oncology*, 2017, 92(6):360-370.
- 39 Santasusagna S, Moreno I, Navarro A, et al. Prognostic impact of miR-200 family members in plasma and exosomes from tumor-draining versus peripheral veins of colon cancer patients[J]. *Oncology*, 2018, 95(5):309-318.

(收稿日期 2024-07-14)

(本文编辑 高金莲)