

· 综述 ·

## 外泌体 miRNA 在妇产科疾病中的研究进展

叶宁珍,赵绍杰,王高莹,姚婷婷,张 婷\*

南京医科大学附属无锡妇幼保健院产科,江苏 无锡 214002

**[摘要]** 外泌体是人体内由多种细胞分泌的囊泡,可被分泌至人体多种体液中,包括血清、尿液、唾液以及卵泡液等。体液中的外泌体在细胞分化、增殖/生长、凋亡、血管生成和炎症等多种生物学和病理生理过程中起着重要的调节作用。微小RNA(miRNA)作为外泌体囊泡中的一种物质,是一种17~24个核苷酸的小非编码RNA,通过与信使核糖核酸(mRNA)上的互补序列结合从而促进mRNA降解或翻译抑制,参与介导转录后调控。外泌体miRNA与多囊卵巢综合征、流产、子宫内膜异位症、卵巢癌等多种妇产科疾病的发生发展密切相关。因此在疾病的监测及治疗方面,外泌体具有广泛的临床应用潜能。

**[关键词]** 外泌体miRNA;多囊卵巢综合征;流产;子宫内膜异位症;卵巢癌

**[中图分类号]** R711

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2021)06-932-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20210625

### Research of exosomal miRNA in the obstetrics and gynecology diseases

YE Ningzhen, ZHAO Shaojie, WANG Gaoying, YAO Tingting, ZHANG Ting\*

Department of Obstetrics, Wuxi Municipal Maternal and Child Health Care Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214002, China

**[Abstract]** **Objective:** Exosomes as vesicles are secreted by a variety of cells in the human body, they exist in serum, urine, saliva and follicular fluid. These molecules play important regulatory roles in many biological and pathological processes, such as cell differentiation, proliferation/growth, apoptosis, angiogenesis and inflammation. The microRNA (miRNA) is a small noncoding RNA, about 17-24 nt, it mediates posttranscriptional regulation by binding to complementary sequences on messenger ribonucleic acid (mRNA) and promoting mRNA degradation or translation inhibition. miRNA is closely related to the occurrence and development of polycystic ovary syndrome, abortion, endometriosis and ovarian cancer. Therefore, exosomal miRNA has a wide range of clinical application potential in the monitor and treatment of disease.

**[Key words]** exosomal miRNA; polycystic ovary syndrome; abortion; endometriosis; ovarian cancer

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(06):932-936]

外泌体是一种大小为40~100 nm的由细胞向外分泌的囊泡。最早由Johnstone于1983年发现。他们认为,在绵羊网织红细胞成熟过程中,转铁蛋白受体释放到细胞外空间的过程与这种小囊泡有关<sup>[1]</sup>。1989年,约翰斯顿将这种功能性囊泡定义为外泌体。起初认为其只是细胞分泌的废物,而近几年对

于外泌体的研究发现,其在细胞间通讯交流方面发挥着重要作用,参与着人体多种病理生理过程。因此对于外泌体的机制研究受到越来越多学者的关注。外泌体内含多种mRNA、miRNA、其他非编码RNA(ncRNA)以及蛋白质。而不同来源的外泌体囊泡内所包含的物质有所差别,特别是循环中的miRNA表达水平在不同生理条件下会发生变化。并且疾病患者和健康人体内外泌体miRNA的数量和组成也存在差异。研究表明miRNA可稳定存在于体液中,包括唾液、尿液、卵泡液和血液<sup>[2]</sup>。因此,外泌体miRNA显示了其作为非侵入性生物标志物预示疾

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81671489, 81401222);江苏省科技发展重点研发计划(BE2017628)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhangting040715@163.com

病状态的潜力。本文主要对外泌体miRNA在部分妇产科疾病方面的诊治研究进展做一综述。

## 1 外泌体

### 1.1 概述

外泌体的形成过程,首先是细胞膜向内吞形成多囊泡体(multivesicular body, MVB),其中部分MVB与溶酶体融合而被溶酶体降解;还有部分MVB则通过肌动蛋白以及细胞骨架传递至细胞膜,并与质膜融合后向外分泌形成外泌体<sup>[3]</sup>。外泌体可以分泌至多种体液中并由磷脂双分子层保护,外泌体内含有的核酸、蛋白质不易被降解。因此体液检测的外泌体可以在一定程度上与母细胞分泌的含量等同。外泌体可以由人体多种细胞分泌,如T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞等<sup>[4]</sup>。并且不同细胞产生的外泌体有特定的核酸及蛋白质,这就表明细胞内的物质是被分选入外泌体中,而不是随机进入的。一项实验研究显示,KRAS突变可以导致磷脂酸酶的表达受到抑制,从而使得特定的miRNA在细胞内积聚<sup>[5]</sup>。不同细胞的分泌物质具有特异性,这就为通过检测液中外泌体的变化而监测某种疾病的发生发展提供了可能。外泌体除了辅助检测某种疾病外还在疾病治疗方面有一定潜力。外泌体作为一种囊泡物质,在细胞通讯方面有着重要作用,参与组织再生、免疫调控、肿瘤的形成以及耐药。由于外泌体是由人体自身细胞所分泌的一种天然物质,因此人体对于其触发的免疫应答反应也较弱。外泌体可以靶向作用于细胞,并且由于磷脂双分子层的运输,使得其能与靶细胞进行良好的融合,从而在细胞内发挥作用<sup>[6]</sup>。正是由于这些优势,外泌体可能有治疗妇产科疾病的潜力。

### 1.2 miRNA

miRNA是一类大小为17~24个核苷酸、内源性非编码单链小RNA。其通过与靶mRNA的3'端非翻译区(UTR)或开放阅读框(ORF)区域结合来抑制蛋白质的合成从而介导转录后基因沉默<sup>[7]</sup>。循环中的miRNA可来源于多种途径:①活细胞的主动分泌。包括外泌体、微泡、AGO蛋白2(argonaute protein 2)核糖蛋白结合形成的复合体等形式。研究认为这3种形式中,以外泌体居多<sup>[8]</sup>。②坏死及凋亡细胞形成的凋亡小体。细胞凋亡后胞质内的物质就会释放至体液内<sup>[9]</sup>。循环中的miRNA已经被证实参与多种生物学活动,包括细胞增殖、细胞分化、细胞迁移<sup>[10]</sup>。几乎所有细胞都可以分泌miRNA,但

研究表明,不同疾病,细胞来源的miRNA具有明显的差异性表达<sup>[11]</sup>。如Yin等<sup>[12]</sup>研究发现在肝细胞肝癌患者中,肝癌细胞外泌体miR-146a-5p的分泌明显上调,提出可能是由于转录因子Sal样蛋白-4上调肝癌细胞外泌体miR-146a-5p的分泌,造成肿瘤微环境的改变导致肝癌发生。Liu等<sup>[13]</sup>在对胃癌患者的研究中发现,miRNA451在胃癌组织中的表达明显减少,而在癌旁组织浸润的T细胞以及外泌体中表达明显增加,表明胃癌患者中胃癌细胞来源的外泌体miRNA451明显增加。上述研究均表明miRNA的差异性表达在非侵袭性疾病诊断中的潜在价值。

## 2 外泌体与妇产科疾病的研究

### 2.1 多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)

PCOS是一种最常见的妇科内分泌疾病之一。在临床上以雄激素过高的临床或者生化表现,持续无排卵、卵巢多囊改变为特征,常伴有胰岛素抵抗和肥胖。其病因至今尚未阐明,目前研究认为,某些遗传基因与环境因素相互作用可能造成此病的发生。卵巢不排卵是PCOS最显著的病理特征。在卵泡细胞成熟过程中,卵泡液微环境起着至关重要的作用。卵泡液内的外泌体miRNA参与卵泡细胞之间的信息传递,参与优势卵泡的生成。Hu等<sup>[14]</sup>研究发现PCOS患者与对照组相比,miR-6087、miR-199a-5p、miR-143-3p、miR-483-5p有明显上调,miR-23b-3p和miR-200a-3p则存在着明显下调。通路分析发现,这些miRNA参与氨基酸的生物合成、糖胺聚糖生物合成、碳代谢等多种人体生理过程。miRNA的微量变化导致卵泡细胞的微环境发生变化,可能使得优势卵泡生成障碍而导致PCOS的发生。因此其中部分miRNA具有成为PCOS疾病诊断以及治疗生物标志物的潜能。此外,卵泡成熟还与卵巢颗粒细胞的作用密切相关。卵巢颗粒细胞上存在有卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)以及黄体生成素(luteinizing hormone, LH)受体,因此一定数量的颗粒细胞有助于卵泡的发育成熟。近些年有学者通过研究间充质干细胞来源的外泌体发现,miR-332-3p通过作用于靶基因PDCD4可以促进PCOS患者卵巢颗粒细胞的增生,抑制其凋亡<sup>[15]</sup>。因此增加患者体内miR-332-3p的含量,有助于患者颗粒细胞的增生,从而促进卵泡细胞的成熟以及卵巢排卵。这一研究的发现为PCOS患者提供了一种新的靶向治疗策略,并显示了外泌体miRNA不仅

可以作为标志物还可以作为靶向药物来缓解PCOS患者的症状。

## 2.2 复发性流产

复发性流产是指与同一性伴侣发生3次及3次以上的自然流产。病因及发病机制复杂,且近年来发病率不断上升,使其成为重要的产科问题。受精卵着床主要经过3个步骤:定位、黏附以及侵入。其中受精卵的侵入主要是滋养细胞穿透侵入子宫内膜、子宫肌层及血管的一个过程。滋养细胞具有增殖、分化、迁移、侵袭并且参与子宫螺旋动脉重塑的能力。而复发性流产发生的重要病理生理机制包括胎盘早期着床过浅、滋养细胞迁移与侵袭能力受损、胎盘微血管形成障碍等。近年外泌体研究发现,外泌体miRNA在胚胎植入时扮演了重要角色,对胚胎的发育、子宫内膜上皮细胞的分泌、基质细胞的分化均存在着调控作用。其中间充质干细胞来源的外泌体与滋养细胞迁徙及侵袭能力密切相关。间充质干细胞可分泌外泌体作用于滋养细胞,促使其分泌基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP),而MMP分泌增加可以增加滋养细胞的侵袭性<sup>[16]</sup>。因此当miRNA表达异常时可能导致滋养细胞侵袭不足,从而导致复发性流产的发生。Qin等<sup>[17]</sup>研究证实,与对照组相比,复发性流产患者体内的miR-146b-5p明显上调,而miR-146b-5p可通过作用于MMP-6从而降低滋养细胞的侵袭性,导致复发性流产的发生。凌钟慧等<sup>[18]</sup>进行血浆外泌体测序中发现,与正常妊娠人群相比,复发性流产患者血浆外泌体中的miRNA表达谱有明显改变,其中复发性流产患者血浆中存在着13个miRNA表达上调以及11个miRNA表达下调。而这些miRNA通过参与滋养细胞侵袭能力的调控、细胞周期蛋白依赖性激酶的表达以及脂代谢、蛋白质合成等多种生理过程,影响着妊娠早期的胚胎着床<sup>[19]</sup>。

## 2.3 子宫内膜异位症

子宫内膜异位症是指正常覆盖在子宫腔表面的内膜在宫腔以外的部位种植生长,是一种激素依赖性疾病。异位的子宫内膜来源至今尚未阐明。子宫内膜异位症的发生与细胞增殖、运动、迁移、组织血管生成以及炎症反应密切相关。近期研究发现子宫内膜异位症的发生与患者自身免疫紊乱密切相关,通过改变免疫细胞的功能,增加子宫内膜异位症患者腹膜腔、子宫内膜以及血液中的炎症因子水平,抑制凋亡通路从而促进子宫内膜异位症的细胞增殖。Chen等<sup>[20]</sup>在对子宫内膜癌患者的腹水

进行研究时发现重症子宫内膜异位症患者腹水中存在多种免疫细胞、趋化因子以及外泌体miRNA的改变。而其中介导参与炎症反应发生以及T细胞免疫应答的外泌体miR-451a被证明明显上调<sup>[21]</sup>。腹腔液中免疫相关细胞及因子的明显改变显示了子宫内膜异位症可能与腹腔微环境的免疫抑制过度激活有关。子宫内膜异位症患者的组织病理中证实存在细胞增殖。而外泌体miR-22-3p、miR-320a可以通过PI3K/Akt通路参与调节细胞的增殖。这就显示了外泌体miRNA可能通过促进组织细胞增殖这一途径从而参与子宫内膜异位症的病理改变<sup>[22]</sup>。子宫内膜异位症的诊断金标准是腹腔镜,但是子宫内膜异位症的症状大多是非特异性的,一些有相关盆腔痛或者不孕症状的非子宫内膜异位症患者也被进行腹腔镜探查。因此迫切需要寻找血液或者尿液中含量稳定的物质,作为非侵袭性的诊断标志物。外泌体作为一种在体液中含量相对稳定的物质,可能成为此种疾病的诊断标志物。子宫内膜异位症患者血浆的外泌体研究证实外泌体miR-22-3p、miR-320a在患者血浆中明显上调,并且两者可以作为高效诊断子宫内膜异位症的生物标志物。子宫内膜异位症患者盆腔疼痛、不孕等临床症状与组织纤维化有着密切关系<sup>[23]</sup>。Wu等<sup>[24]</sup>研究显示外泌体miR-214可以通过影响结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达从而参与子宫内膜异位症患者组织纤维化的改变,增加患者体内miR-214含量从而减少CTGF的表达以缓解患者的临床症状,这为子宫内膜异位症的治疗提供了一种新方法。

## 2.4 卵巢癌

卵巢肿瘤是常见的妇科肿瘤,可发生于任何年龄。其中恶性肿瘤早期病变不易被发现,晚期病例又缺乏有效的治疗手段,导致其病死率居妇科恶性肿瘤首位。如今卵巢癌的主要诊断方法有血清CA125诊断和影像学诊断,但是其特异性和敏感性都较低。因此寻找早期诊断的方法至关重要,有助于提高疾病预后。Pan等<sup>[25]</sup>研究发现,在卵巢上皮性恶性肿瘤患者中,血浆外泌体miR-200b的表达水平是正常人的5倍,因此miR-200b可以与CA125联合,提高卵巢癌的诊断敏感性和特异性。而Kim等<sup>[26]</sup>在对浆液性卵巢癌患者的血浆进行外泌体检测时认为miR-200b的表达过低而不利于作为诊断标志物。他们在患者血浆中找到另一种外泌体miR145,发现其在血浆中过表达,对诊断卵巢癌有

着极高的敏感性,因此 miR145 有希望作为一个潜在的卵巢癌生物标志物。外泌体不仅可以作为生物标志物,还通过参与改变免疫微环境从而导致肿瘤的发生。Zhou 等<sup>[27]</sup>研究发现,肿瘤相关巨噬细胞分泌 miR-29a-3p 以及 miR-21-5p 作用于 T 淋巴细胞,使得卵巢癌组织中调节性 T 淋巴细胞(Treg)/辅助性 T 淋巴细胞(Th17)比例明显升高,导致 T 细胞失衡,从而造成了微环境的免疫抑制,最终促进卵巢上皮性恶性肿瘤的发生。因此通过抑制 miR-29a-3p 以及 miR-21-5p 的分泌,阻断肿瘤相关巨噬细胞以及 T 淋巴细胞之间的相互作用也许可以为治疗卵巢上皮性肿瘤提供一条新思路。

### 3 小结

近些年,因 miRNA 在体液中的状态较为稳定以及检测技术较为成熟,使得外泌体 miRNA 逐渐成为医学研究的热点。miRNA 参与疾病的发生与发展,并且患者与正常人的浓度有明显差异。因此越来越多的研究探索其作为疾病诊断标志物以及治疗靶标的可能性,然而由于多种人体细胞都可以分泌外泌体,因此尚未有较好的方法去区别体液中的外泌体是来自哪种细胞,这也就可能存在多种疾病都可以导致某一特定的外泌体升高,干扰疾病的诊断。因此体液中外泌体的具体来源以及对疾病发生的作用机制有待于更进一步研究。

#### [参考文献]

[1] PAN B T, JOHNSTONE R M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor[J]. *Cell*, 1983, 33(3):967-978

[2] XU R, GREENING D W, ZHU H J, et al. Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1152-1162

[3] HESSVIK N P, LLORENTE A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(2):193-208

[4] HAN Q, ZHAO H, JIANG Y, et al. HCC-derived exosomes: critical player and target for cancer immune escape[J]. *Cells*, 2019, 8(6):558

[5] MCKENZIE A J, HOSHINO D, HONG N H, et al. KRAS-MEK signaling controls AGO2 sorting into exosomes[J]. *Cell Rep*, 2016, 15(5):978-987

[6] 张 玮, 彭 澎, 沈 铿. 外泌体来源 RNA 在细胞通讯中的作用[J]. *中国医学科学院学报*, 2016, 38(4):480-483

[7] BARTEL D P. MicroRNAs[J]. *Cell*, 2004, 116(2):281-297

[8] GALLO A, TANDON M, ALEVIZOS I, et al. The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e30679

[9] SCHWARZENBACH H, HOON D S, PANTEL K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6):426-437

[10] BAGNOLI M, CANEVARI S, CALIFANO D, et al. Development and validation of a microRNA-based signature (MiROvaR) to predict early relapse or progression of epithelial ovarian cancer: a cohort study[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(8):1137-1146

[11] HUR K, TOIYAMA Y, OKUGAWA Y, et al. Circulating microRNA-203 predicts prognosis and metastasis in human colorectal cancer[J]. *Gut*, 2017, 66(4):654-665

[12] YIN C, HAN Q, XU D, et al. SALL4-mediated upregulation of exosomal miR-146a-5p drives T-cell exhaustion by M2 tumor-associated macrophages in HCC[J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7):1601479

[13] LIU F, BU Z, ZHAO F, et al. Increased T-helper 17 cell differentiation mediated by exosome-mediated microRNA-451 redistribution in gastric cancer infiltrated T cells[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(1):65-73

[14] HU J, TANG T, ZENG Z, et al. The expression of small RNAs in exosomes of follicular fluid altered in human polycystic ovarian syndrome[J]. *PeerJ*, 2020, 8:e8640

[15] ZHAO Y, TAO M, WEI M, et al. Mesenchymal stem cells derived exosomal miR-323-3p promotes proliferation and inhibits apoptosis of cumulus cells in polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1):3804-3813

[16] ISAKA K, USUDA S, ITO H, et al. Expression and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in human trophoblasts[J]. *Placenta*, 2003, 24(1):53-64

[17] QIN W, TANG Y, YANG N, et al. Potential role of circulating microRNAs as a biomarker for unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(5):1247-1254

[18] 凌钟慧, 沈 嵘. 血浆外泌体源性 miRNA 在复发性流产患者中的表达初探[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(12):1769-1773

[19] ZHAO X B, HE Q Z, WU Z P, et al. Down-regulated miR-149-5p contributes to preeclampsia via modulating endoglin expression[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2019, 15:201-208

[20] CHEN Y, WANG K, XU Y, et al. Alteration of myeloid-derived suppressor cells, chronic inflammatory cytokines, and exosomal miRNA contribute to the peritoneal immune

disorder of patients with endometriosis [J]. *Reprod Sci*, 2019, 26(8):1130-1138

[21] ZENG Z, WANG K, LI Y, et al. Down-regulation of microRNA-451a facilitates the activation and proliferation of CD4(+)T cells by targeting Myc in patients with dilated cardiomyopathy [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(14):6004-6013

[22] ZHANG L, LI H, YUAN M, et al. Serum exosomal MicroRNAs as potential circulating biomarkers for endometriosis [J]. *Dis Markers*, 2020, 2020:2456340

[23] GIUDICE L C, KAO L C. Endometriosis [J]. *Lancet*, 2004, 364(9447):1789-1799

[24] WU D, LU P, MI X, et al. Exosomal miR-214 from endometrial stromal cells inhibits endometriosis fibrosis [J]. *Mol Hum Reprod*, 2018, 24(7):357-365

[25] PAN C, STEVIC I, MÜLLER V, et al. Exosomal microRNAs as tumor markers in epithelial ovarian cancer [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(11):1935-1948

[26] KIM S, CHOI M C, JY J, et al. Serum exosomal miRNA-145 and miRNA-200c as promising biomarkers for preoperative diagnosis of ovarian carcinomas [J]. *J Cancer*, 2019, 10(9):1958-1967

[27] ZHOU J R, LI X D, WU X L, et al. Exosomes released from Tumor - Associated macrophages transfer miRNAs that induce a Treg/Th17 cell imbalance in epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(12):1578-1592

[收稿日期] 2020-09-10

(上接第926页)

sults of the KEYNOTE-028 study [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(36):4050-4056

[30] MA B, LIM W T, GOH B C, et al. Antitumor activity of nivolumab in recurrent and metastatic nasopharyngeal carcinoma: an international, multicenter study of the Mayo clinic phase 2 consortium (NCI-9742) [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(14):1412-1418

[31] LV J W, JY L, LUO L N, et al. Comparative safety and efficacy of anti-PD-1 monotherapy, chemotherapy alone, and their combination therapy in advanced nasopharyngeal carcinoma: findings from recent advances in landmark trials [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1):159

[32] 王剑祁, 韩日, 李湘平, 等. 复发NPC挽救性手术有效性与安全性的Meta分析 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 54(9):676-684

[33] YANG J, SONG X, SUN X, et al. Outcomes of recurrent nasopharyngeal carcinoma patients treated with endoscopic nasopharyngectomy: a meta-analysis [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2020, 10(8):1001-1011

[34] WONG E, LIEW Y T, LOONG S P, et al. Five-year survival data on the role of endoscopic endonasal nasopharyngectomy in advanced recurrent rT3 and rT4 nasopharyngeal carcinoma [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2020, 129(3):287-293

[35] LIU Y P, LV X, ZOU X, et al. Minimally invasive surgery alone compared with intensity-modulated radiotherapy for primary stage I nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Commun(Lond)*, 2019, 39(1):75

[36] WENG J J, JZ W, LI M, et al. Effects of surgery combined with chemoradiotherapy on short- and long-term outcomes of early-stage nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12(202012):7813-7826

[收稿日期] 2020-12-02