

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.032

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.032

树突状相关外泌体在肿瘤中的研究进展

冯奇¹, 郭鹏¹ 综述 王东来¹, 吕健², 冯建刚¹ 审校

(河北医科大学第四医院 1. 骨科; 2. 普外二科, 石家庄 050011)

[摘要] 树突状细胞相关外泌体(DC-derived exosomes, Dex)是由免疫系统的前哨抗原提呈细胞形成的微小囊泡。Dex表面拥有与树突状细胞(dendritic cell, DCs)部分相同的表面分子, 如功能性MHC-抗原肽复合物(MHC/antigenic peptide)、共刺激分子(costimulatory molecules)等, 并参与机体免疫调节。近年来随着对Dex研究的不断深入, Dex在肿瘤免疫中的作用越来越受到重视。基于Dex抗肿瘤治疗的临床试验也显示其潜在的可行性。

[关键词] 树突状相关外泌体; 肿瘤免疫; 免疫治疗

Research progress of DC-derived exosomes in tumors

FENG Qi¹, GUO Peng¹, WANG Donglai¹, LÜ Jian², FENG Jiangan¹

(1. Department of Orthopedics; 2. Second Department of Surgery, Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract DC-derived exosomes (Dex) are micro-membrane vesicles that are secreted by the sentinel antigen-presenting cells of the immune system dendritic cell (DCs). Similar like DCs, the molecular composition of Dex includes surface expression of functional MHC-peptide complexes, costimulatory molecules, etc. Recently, with the deepening research in Dex, more and more attention has been focused on the role of Dex in tumor immunity. Dex-based clinical trials have been conducted in anti-malignancies therapies, showing the potential feasibility of the approach.

Keywords DC-derived exosomes; tumor immunity; immunotherapy

外泌体是由活体细胞分泌的囊状小体, 电镜下显示为脂质双分子层包围的扁平球体, 呈现特征性的杯状外形, 广泛存在于血清、唾液、尿液、乳汁及渗出液等生理及病理性体液中。作为亚细胞结构的一种, 它参与多种生物学功能, 如肿瘤细胞相关外泌体能介导肿瘤免疫逃逸^[1], 肠

道上皮来源外泌体则可参与口服耐受作用^[2], 胎盘绒毛上皮细胞来源外泌体则能介导母胎耐受^[3]等。近年来随着对外泌体广泛深入的研究, 树突状细胞相关外泌体(DC-derived exosomes, Dex)越来越受到重视。研究^[4]发现: Dex在与肿瘤免疫相关的调节作用中起关键性作用。

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-04

通信作者 (Corresponding author): 冯建刚, Email: fengjiangan0311@163.com

基金项目 (Foundation item): 河北省青年科技课题 (20170692)。This work was supported by Hebei Provincial Youth Science and Technology Project, China (20170692).

1 树突状细胞相关外泌体的组成

树突状细胞(dendritic cells, DCs)在相关刺激因子的作用下, 细胞膜向内凹陷以出芽的方式形成含多个小囊泡的多泡内含体(multivesicular body, MVB), MVB与细胞膜融合后, 经胞吐的作用释放出小囊泡, 形成DCs相关外泌体^[5]。外泌体表面包含多种蛋白, 如整联蛋白 α 与 β 链(integrin α and β chains, α M β 2)、免疫球蛋白家族ICAM-1、乳脂球EGF 8 (milk fat globule EGF factor 8, MFG-E8)以及MHC-I和MHC-II类蛋白分子^[6]。

Dex的外表面呈现多种DC相关胞质蛋白, 参与Dex的多种生物学作用, 如Dex膜表面HSP70蛋白家族成员与膜表面的HSP90家族一起形成Dex的免疫原性, 参与肿瘤相关免疫细胞的激活。不仅如此, 外泌体中所包含的小核RNA(small nuclear RNA, snRNA)和miRNA可穿梭于细胞间, 参与DC内信息的转导和DC内蛋白的转录和修饰^[7-8]。Montecalvo等^[9]研究显示Dex参与传递的RNA可抑制目标DC细胞内mRNA的转录、翻译及修饰。

2 Dex 参与 DC 细胞介导肿瘤免疫调节

DCs起源于造血干细胞, 是目前发现功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APCs)之一, DCs具有免疫刺激能力, 是目前能够激活初始T细胞的唯一抗原提呈细胞。DCs不仅能够以抗原特异性提呈的形式激活T细胞, 识别与杀伤肿瘤细胞, 而且可以激发免疫记忆功能, 影响及控制肿瘤细胞的侵袭和转移特性。McDonnell等^[10]研究表明癌细胞所处微环境中的DC(tumor infiltrating dendritic cells, TIDC)即使经过Toll样受体刺激后, 仍有部分DCs无法成熟, 造成肿瘤相关抗原提呈能力下降, 这说明DCs是参与肿瘤细胞免疫调节的重要因素之一。尽管如此, 在肿瘤微环境中DCs细胞也有可能无法有效提呈抗原, 造成肿瘤免疫逃逸^[11-12]。目前认为, 造成这种免疫逃逸的主要的机制有: 1)肿瘤细胞本身抗原性减弱; 2)肿瘤细胞免疫漏逸; 3)肿瘤细胞MHC-I类分子及协同共刺激分子表达下降或缺失; 4)肿瘤细胞直接分泌免疫抑制因子。Dex由DCs产生, 可参与DCs的抗原提呈及T细胞激活作用, 近年来有研究显示^[13]: Dex在介导DCs提呈MHC/抗原肽复合物中起重要作用。其作用包含直接与间接两种方式。

2.1 Dex 激活 T 细胞间的直接作用

Dex膜表面的分子具有DC一样的抗原加工与提呈作用, 如B细胞来源的外泌体, 在其细胞表面可以形成MHC-II/抗原肽复合物, 从而诱发MHC-II类分子特异性的抗原特异性T细胞应答; Dex也富有MHC-I类分子, 同样也可以诱发相应T细胞应答。在肿瘤免疫中, Dex的作用也显得尤为重要^[14], 受肿瘤抗原刺激过的DC产生的Dex可以通过其表面的协同共刺激分子CD86直接诱发肿瘤特异性细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的免疫应答, Katakowski等^[15]研究证实在动物实验中皮下注射Dex可直接延缓肿瘤生长, 甚至完全消灭肿瘤。

2.2 Dex 激活 T 细胞间的间接作用

1)相比于Dex与T细胞直接作用, Dex或其他APC提呈细胞衍生的外泌体通过传递MHC/抗原肽复合物递呈给未接触抗原的DC细胞, 因此能更有效地激活T细胞的免疫应答。Dex膜上的诸多表面分子如整连蛋白和ICAMs促进了DCs与Dex结合和进一步的吞噬作用, 携带有MHC/特殊抗原肽的Dex与DC融合, 从而增加携带特殊抗原肽的DC数量, 进而增强适应性免疫应答。但有研究^[16]认为: 只有在成熟DC高表达CD80, CD86的情况下, Dex才能发挥刺激抗原特异性T细胞分化形成产生IFN- γ 效应T细胞的作用。Wang等^[17]研究证实: LPS和IFN- γ 处理的成熟DCs释放的Dex表面呈现出更多的ICAM-1和MHC及CD86分子, 前者加强了Dex与DCs细胞结合, 后者则促进T细胞的活化。而这种由成熟DCs释放的Dex表现出更强的促T细胞活化的功能。一些Dex与DCs结合后, 没有被完全吞噬入胞内, 仍结合在DC表面, 这一现象取决于DCs的成熟状态。成熟的DCs细胞比不成熟的DCs能使更多的Dex结合于膜表面, 而不是将Dex内化入胞。这些结合在DC表面的Dex仍可与T细胞相互作用。

2) Dex也可与DC的复合物经“换装”作用激活特异性免疫^[18]: 经DC内化后的Dex释放MHC/抗原肽入胞内, 通过胞内途径与DC的MHC交换抗原, 形成新的MHC/抗原肽复合物, 提呈于DC表面。这一过程避免了抗原加工, 借助于DC表达的共刺激分子如CD80和CD86, T细胞可以很快识别MHC提呈的抗原。Thery等^[16]的研究证实了这一观点, 只要CD8 α -DC存在, 即使成熟的DCs缺乏MHC-II分子, 也可以激活T细胞。

3)Dex借助肿瘤细胞提呈抗原, 最近的一项

研究^[19]表明经过Dex处理的乳腺癌较未处理组能更有效地激活细胞免疫，融入Dex的肿瘤细胞具有更强的免疫靶向性，从而更有效地被免疫定位。这一现象也为肿瘤免疫靶向治疗提供了新的方向(图1)。

3 Dex 的免疫治疗

基础实验^[20]显示成熟的DC可产生负载更多共刺激分子和ICAMs的Dex，从而显著激活T细胞，延长无进展生存期。Morse等^[21]和Escudie等^[22]参与的I期临床试验中，9位体内表达黑色素瘤相关抗原肽(melanoma associated antigen peptide, MAGE)的晚期NSCLC患者和15位表达黑色素瘤相关抗原肽3(melanoma associated antigen peptide-3, MAGE3)的晚期恶性黑色素瘤患者，

皮内注射由自体DC衍生的含MAGE抗原肽的Dex疫苗，可延长部分患者的无进展生存期。进一步研究显示患者体内的自然杀伤(nature killer, NK)细胞被活化，但迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH)较轻微甚至未发生。Besse等^[20]进行II期临床试验，观察22位铂类非敏感晚期NSCLC患者，口服CTX治疗后再接受9次成熟的Dex注射，有7位患者病情趋于稳定，也发现体内NK细胞的活化。在上述临床试验中Dex似乎不能很好地激活T细胞应答，但却能明显诱导NK细胞的活化，由此提示：纵使以Dex为辅助的免疫治疗。难以激发肿瘤相关抗原特异性T细胞免疫应答，其引起的NK细胞活化才是延长患者无进展生存期的主要因素，NK细胞活化可能是Dex通过BAG6/NKp30与NKG2D两条信号通路实现的，相关机制还有待进一步研究(表1)。

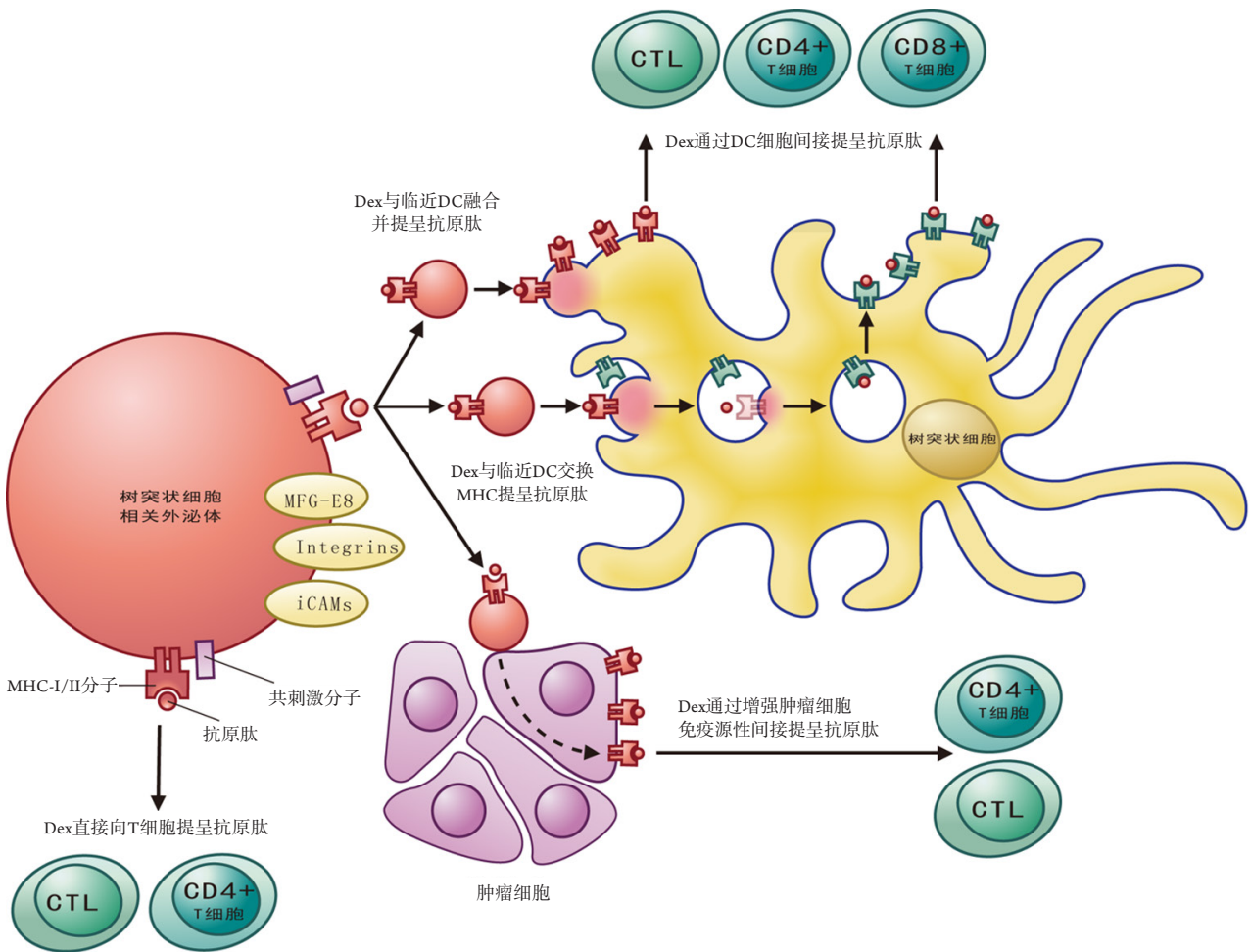


图1 树突状外泌体抗原提呈的直接及间接作用
Figure 1 Direct and indirect effects on antigen response of Dex

表1 Dex相关临床实验

Table 1 Clinical trials of Dex

患者情况	临床实验	Dex及干预措施	相关蛋白/肽	对免疫细胞影响	文献
晚期非小细胞肺癌	II	FN- γ -derived Dex, CTX免疫治疗后持续4周, 1次/周	MAGE-A1, MAGE-A3, NY-ESO, Melan-A/MART1 (MHC-I限制型相关肽); MAGE-A3, EBV (MHC-II限制型相关肽)	限制T细胞活性, 增强NK细胞的相互作用, 延长PFS	[20]
晚期非小细胞肺癌	I	Dex, 4次, 1次/周	MAGE相关肽	限制T细胞激活, DTH在3/9个患者中有反应, 可能增加Treg细胞以及部分NK细胞作用	[21]
转移性恶性黑色素瘤	I	Dex, 4次, 1次/周	MAGE相关肽	无MAGE相关T细胞相互激活, 无DTH相关反应, NK细胞激活	[22]

4 Dex 免疫治疗的局限

Dex治疗晚期肿瘤患者存在一定的局限性, 主要包含以下几个方面原因: 1)晚期肿瘤患者固有免疫应答能力的减低^[1]。2)患者之间存在的异质性^[23], 如某些患者在入组前已接受过其他抗肿瘤治疗。3)有些患者全身或局部的过表达程序性凋亡配体-1(Programmed death ligand-1, PD-L1)等相关免疫调节因子, 最终限制了Dex的疗效^[24]。4)某些晚期肿瘤患者Dex上MHC-I和MHC-II结合的抗原较弱以至于诱导肿瘤抗原特异性T细胞活化能力下降^[18], 相反外泌体经转化后的新表型则能更好地诱导T淋巴细胞的活化^[25-26]。目前人们对Dex在体内具体的作用机制尚不清楚, 认为Dex并非直接到达二级淋巴器官的T细胞区, 而是通过转运信息到巨噬细胞被膜下或淋巴窦的DCs中从而诱导固有免疫应答^[12]。

5 结语

尽管现在对Dex应用于肿瘤免疫治疗的研究尚属初步阶段, 但Dex可以成熟地介导免疫应答, 并且它的免疫刺激性能可以进行人为的设计, 都保证了Dex作为免疫治疗手段的巨大潜力。Dex免疫治疗下一步的临床试验可以将Dex免疫治疗与其他治疗方案联合, 可能是非常有效的疗法之一, 如CTX方案与Dex疫苗联合能显著增强肿瘤抗原肽诱导CD8⁺T细胞的再次应答, 协同激发足够的T细胞应答, CTX化疗还可下调调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)细胞的免疫抑制功能, 从而重调肿瘤

诱导的免疫耐受, 并使之具有肿瘤免疫原性^[27]。Besse等^[20]的II期临床试验显示: Dex与CTX联合优于Dex单独应用, 其次基于Dex与NK细胞的联合疗法, 可以对抗如胃肠间质瘤、神经母细胞瘤、白血病和肾癌NK细胞依赖的恶性肿瘤^[28], 此外在多项临床试验中观察到Dex介导NK细胞的活化, 使得研究Dex在T细胞免疫不足的患者身上的作用显得尤为必要。研究^[29]显示: 联合Dex与PD-1/PD-L1抑制剂可以抑制肿瘤浸润淋巴结(tumor infiltrating lymph nodes, TIL), 并增强Dex激发T细胞以更好地增强其抗肿瘤能力。基于上述的问题, 加之对DC细胞结构和功能的许多未知, 如mRNAs, miRs, 转运细胞因子和脂质介质的产生以及这些因子与受体免疫细胞的作用机制, 都将激励我们对Dex进行深入的研究。

参考文献

1. Liu Y, Gu Y, Cao X. The exosomes in tumor immunity[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(9): e1027472.
2. Xu AT, Lu JT, Ran ZH, et al. Exosome in intestinal mucosal immunity[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 31(10): 1694-1699.
3. Record M. Intercellular communication by exosomes in placenta: a possible role in cell fusion?[J]. *Placenta*, 2014, 35(5): 297-302.
4. Pitt JM, André F, Amigorena S, et al. Dendritic cell-derived exosomes for cancer therapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4): 1224-1232.
5. Alenquer M, Amorim MJ. Exosome biogenesis, regulation, and function in viral infection[J]. *Viruses*, 2015, 7(9): S066-S083.
6. Atienzar-Aroca S, Flores-Bellver M, Serrano-Heras G, et al. Oxidative

- stress in retinal pigment epithelium cells increases exosome secretion and promotes angiogenesis in endothelial cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(8): 1457-1466.
7. Macias S, Cordiner RA, Gautier P, et al. DGCR8 acts as an adaptor for the exosome complex to degrade double-stranded structured RNAs[J]. *Mol Cell*, 2015, 60(6): 873-885.
 8. Zhou Y, Zhou G, Tian C, et al. Exosome-mediated small RNA delivery for gene therapy[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2016, 7(6): 758-771.
 9. Gehrman U, Näslund TI, Hiltbrunner S, et al. Harnessing the exosome-induced immune response for cancer immunotherapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 28: 58-67.
 10. McDonnell AM, Lesterhuis WJ, Khong A, et al. Tumor-infiltrating dendritic cells exhibit defective cross-presentation of tumor antigens, but is reversed by chemotherapy[J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(1): 49-59.
 11. Chang WT, Lai TH, Chyan YJ, et al. Specific medicinal plant polysaccharides effectively enhance the potency of a DC-based vaccine against mouse mammary tumor metastasis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122374.
 12. 薛晓荣, 汤华. 肿瘤细胞免疫治疗进展[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2006, 33(1): 32-34.
XUE Xiaorong, TANG Hua. Advances in tumor cell immunotherapy[J]. *Journal of International Oncology*, 2006, 33(1): 32-34.
 13. Del Cacho E, Gallego M, Lee SH, et al. Induction of protective immunity against *Eimeria tenella* infection using antigen-loaded dendritic cells (DC) and DC-derived exosomes[J]. *Vaccine*, 2011, 29(21): 3818-3825.
 14. Bu N, Wu H, Zhang G, et al. Exosomes from dendritic cells loaded with chaperone-rich cell lysates elicit a potent T cell immune response against intracranial glioma in mice[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(3): 631-643.
 15. Katakowski M, Chopp M. Exosomes as tools to suppress primary brain tumor[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(3): 343-352.
 16. Théry C, Duban L, Segura E, et al. Indirect activation of naïve CD4+ T cells by dendritic cell-derived exosomes[J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(12): 1156-1162.
 17. 王姿, 丁丽, 郑晓丽, 等. 树突状细胞外泌体诱导间充质干细胞向成骨细胞分化[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(3): 600-604.
WANG Zi, DING Li, ZHENG Xiaoli, et al. DC-derived exosomes induce osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2014, 22(3): 600-604.
 18. Guan S, Li Q, Liu P, et al. Umbilical cord blood-derived dendritic cells loaded with BGC823 tumor antigens and DC-derived exosomes stimulate efficient cytotoxic T-lymphocyte responses and antitumor immunity in vitro and in vivo[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2014, 39(2): 142-151.
 19. Romagnoli GG, Zelante BB, Toniolo PA, et al. Dendritic cell-derived exosomes may be a tool for cancer immunotherapy by converting tumor cells into immunogenic targets[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 692.
 20. Besse B, Charrier M, Lapiere V, et al. Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1071008.
 21. Morse MA, Garst J, Osada T, et al. A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. *J Transl Med*, 2005, 3(1): 9.
 22. Escudier B, Dorval T, Chaput N, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial[J]. *J Transl Med*, 2005, 3(1): 10.
 23. Soldevilla B, Rodriguez M, San MC, et al. Tumor-derived exosomes are enriched in DeltaNp73, which promotes oncogenic potential in acceptor cells and correlates with patient survival[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(2): 467-478.
 24. Ruffner MA, Kim SH, Bianco NR, et al. B7-1/2, but not PD-L1/2 molecules, are required on IL-10-treated tolerogenic DC and DC-derived exosomes for in vivo function[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(11): 3084-3090.
 25. Sacco JJ, Al-Akhrass H, Wilson CM. Challenges and strategies in precision medicine for non-small cell lung cancer[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(28): 4374-4385.
 26. Aqil F, Kausar H, Agrawal AK, et al. Exosomal formulation enhances therapeutic response of celestrol against lung cancer[J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 101(1): 12-21.
 27. Wen M, Xu W, Ren L, et al. Effector cells derived from naive T cells used in tumor immunotherapy of mice bearing B16 melanoma[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(7): 1328-1333.
 28. Damo M, Wilson DS, Simeoni E, et al. TLR-3 stimulation improves anti-tumor immunity elicited by dendritic cell exosome-based vaccines in a murine model of melanoma[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17622.
 29. Tucci M, Passarelli A, Mannavola F, et al. Serum exosomes as predictors of clinical response to ipilimumab in metastatic melanoma[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7(2): e1387706.

本文引用: 冯奇, 郭鹏, 王东来, 吕健, 冯建刚. 树突状相关外泌体在肿瘤中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(3): 654-658. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.032

Cite this article as: FENG Qi, GUO Peng, WANG Donglai, LÜ Jian, FENG Jiangang. Research progress of DC-derived exosomes in tumors[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(3): 654-658. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.032