

文章编号 1006-8147(2023)01-0094-04

综述

树突状细胞外泌体与肺癌免疫治疗

李洋¹ 综述, 郭锋杰², 孟旭英³, 陈军¹ 审校

(1.天津市肺癌转移与肿瘤微环境重点实验室, 天津市肺癌研究所, 天津医科大学总医院病理科, 天津 300052; 2.华南理工大学医学院, 广州 510006; 3.天津医科大学第二医院内分泌科, 天津 200211)

摘要 树突状细胞(DC)是目前所发现的体内功能最强的抗原递呈细胞。DC可将抗原信息传递给T细胞,诱导高效而特异的抗肿瘤免疫应答。外泌体是直径为30~100 nm的纳米级囊泡,可携带源细胞的多种功能分子,并可在细胞间进行信息传递。DC来源的外泌体(DEXs)由于携带亲代DC主要组织相容性复合体(MHC)-I、MHC-II、CD80、CD86和细胞间黏附分子(ICAM)等特征蛋白,被认为可以用来代替DC,从而激活免疫应答。

关键词 树突状细胞;树突状细胞外泌体;肺癌;免疫治疗

中图分类号 R734.2

文献标志码 A

恶性肿瘤严重危害人类健康,是人类的主要死亡原因之一。目前,手术治疗及放、化疗仍是其主要的治疗方法,尽管近年来上述治疗手段不断的改进和发展,但肿瘤患者的总体生存率仍无明显改善。因此不断探索新的治疗手段是肿瘤研究的热点。肿瘤的发生、发展与机体的免疫功能密切相关,因此如何处理免疫耐受、激活机体自身免疫功能杀灭肿瘤是当前免疫治疗研究的主要方向。

树突状细胞(DC)是目前发现的功能最强的抗原递呈细胞(APC)。DC疫苗在抗肿瘤免疫治疗中的重要作用逐渐吸引了各国研究者的关注。但由于制备方案昂贵且繁琐,并且依赖于患者来源的DC保质期较短等因素的限制,导致DC疫苗的临床应用受到一定的局限。DC来源的外泌体(DEXs)携带亲代细胞的大量特征蛋白^[1]。有研究报道,DEXs是一种可以用来代替DC而激活免疫应答的生物纳米疫苗^[2]。本文总结了DEXs在肿瘤免疫治疗中的最新研究成果,探讨DEXs的当前研究现状及潜在的未来发展方向。

1 DC与肿瘤免疫治疗

DC对摄取的抗原进行处理,并将处理后的抗原多肽片段与主要组织相容性复合体(MHC)以复合物的形式提呈到细胞表面,再将抗原提呈给初始T淋巴细胞,有效激活T细胞免疫应答,具有诱导初始免疫应答及免疫记忆应答的能力。目前可通过不同方式致敏DC,使其携带肿瘤细胞来源的抗原,

经体内注射后诱导特异性抗肿瘤免疫应答。

致敏DC的肿瘤抗原来源主要包括:(1)肿瘤细胞裂解物:这种多抗原体系在一定程度上具有有效的杀伤效果,然而存在产生自身免疫的风险^[3]。(2)肿瘤抗原肽:这在一定程度上避免了自身免疫应答的出现^[4],然而由于是单一抗原,容易产生脱靶效应,且很难找到在大多数非小细胞肺癌患者均表达的肿瘤抗原,因此在杀伤效果方面不太理想^[5-6]。(3)肿瘤细胞外泌体(TEX):Yao等^[7]研究发现,来源于EG7的TEX刺激DC后,促进CD8⁺T细胞增殖,以及分化成效应T淋巴细胞,抑制肿瘤的生长和转移。此外Wolfers等^[8]研究发现,TEX含有肿瘤细胞共同抗原,可以介导多种肿瘤的杀伤,而全细胞蛋白抗原则不具备这种效果,可见TEX是致敏DC的最佳选择。

在一项DC疫苗与260例非小细胞肺癌患者生存周期的临床多中心研究中,发现接受DC治疗的非小细胞肺癌患者总的生存周期延长,且与肺癌组织分型相关,在肺腺癌患者中生存周期更长^[9]。以上研究表明,以DC为基础的免疫治疗是一种很有前途的免疫治疗方案。

2 DEXs及其生物学特征

2.1 DEXs的生物学特征 外泌体是直径为30~100 nm的一种纳米级囊泡结构。因其携带源细胞的多种功能分子,并可在细胞间进行自由穿梭,传递信息,所以被称为细胞间的信使。基于这一特性,外泌体被广泛应用于疾病的诊断及治疗^[10-12]。DEXs被证明携带有亲代细胞的大量特征蛋白,尤其是与免疫激活相关的MHC-I、MHC-II和协同刺激因子CD80、CD86、细胞间黏附分子(ICAM)等。由于

基金项目 国家自然科学基金(82070214);天津市医学重点学科(专科)
作者简介 李洋(1981-),女,主治医师,博士,研究方向:病理学;通信作者:孟旭英,E-mail:xuxuhehuihui@163.com;陈军,E-mail:hunter-cj2004@yahoo.com。

具备这些特点,DEXs可参与抗原递呈,并诱发抗原特异性CD4⁺和CD8⁺T细胞应答,在肿瘤的免疫治疗中起关键性作用。此外研究发现,DEXs表面也表达自然杀伤(NK)细胞的受体,可诱导NK细胞活化^[13]。DEXs还可通过其携带的miRNA发挥免疫调节功能^[14-16]。有研究报道,肿瘤相关抗原(TAAs)刺激DEXs,可在体内引发肿瘤特异性CD8⁺T细胞应答,与注射DCs相比,单次皮内注射DEXs具有更好的抗肿瘤功效^[17]。

2.2 DEXs疫苗的优势 与DC疫苗相比,DEXs具有以下几方面优势:(1)DEXs比DC拥有更长的半衰期,在体外可以长时间的存储和冻融。(2)由于特定的分选和加载机制,DEXs比DC具有更可控的分子组成。(3)DEXs便于基因修饰,可以更有效地到达淋巴结等次级淋巴器官的适当位置,以便实现靶向运输^[2]。(4)DC易受肿瘤介导的免疫抑制影响,而DEXs作为惰性囊泡则不具有抗性。(5)DEXs在激活T细胞和NK细胞方面比DC更有效,因为DEXs表面存在的pMHC复合物比DC多10~100倍,并且富含NK细胞的激活配体^[13,18]。据报道在临床前模型中,与使用DC疫苗相比,载有肿瘤抗原的DEXs在根除小鼠肿瘤方面取得了更好的功效^[17]。

3 DEXs与肿瘤免疫治疗

3.1 DEXs与肿瘤免疫治疗的基础研究 DEXs能够通过直接和间接的方式克服肿瘤诱导的免疫抑制。有研究报道,将Rab27基因转染肺癌A549细胞,收集细胞外泌体后与DC共孵育,发现DC表面MHC-II、CD80和CD86表达上调,DC被激活,并可体显著促进T细胞增殖;该研究还通过体内实验将这些外泌体注射到BALB/c小鼠体内,发现肿瘤生长被显著抑制^[19]。另一项研究发现,来自CD40配体基因修饰的3LL Lewis肺癌细胞的外泌体具有更强的免疫原性,CD40L外泌体诱导DC成熟并刺激肿瘤抗原特异性T细胞增殖,触发体内强大的保护性抗肿瘤免疫^[20]。Pitt等^[21]证明,来自肿瘤抗原肽脉冲DC来源的外泌体可以在肥大细胞瘤和乳腺癌小鼠中引发强烈的免疫应答和肿瘤抑制作用。Zuo等^[21]发现,Alarmin修饰的DEXs能够激活肿瘤微环境中T细胞的特异性免疫杀伤作用,对原发性肝细胞癌起显著抑制作用。Lu等^[22]证实,在不同肝癌小鼠模型中,负载肝癌特异性抗原甲胎蛋白(AFP)的DEXs均能介导CD8⁺T细胞的免疫杀伤,抑制肿瘤生长。而且NK细胞也参与DEXs对肿瘤杀伤过程。

3.2 DEXs与肿瘤免疫治疗的临床研究 迄今为

止,已有3项应用DEXs治疗恶性黑色素瘤和非小细胞肺癌的临床试验报道^[23-25]。在I期临床试验中,采用自体未成熟的单核细胞衍生DC(MoDC)获得的DEXs作为癌症疫苗来源,每周间隔给予4剂DEXs治疗,在接种疫苗两周后进行疫苗功效评估。在9例接受DEXs治疗的晚期(Ⅲb和Ⅳ)非小细胞肺癌患者中,仅观察到1~2级毒性且未观察到自身免疫应答,表明外泌体疫苗是安全且耐受性良好的。此外在受试者中,有3例患者出现特异性T细胞免疫应答。T细胞活化率低归因于调节性T细胞(Tregs, CD4⁺CD25⁺T细胞)。在接受检查的3例患者中,有两例在接种DEXs疫苗后,总CD4⁺T细胞中Tregs的百分比增加。部分接受DEXs疫苗的患者外周血中出现了NK细胞活性增强;在14例接受DEXs治疗的恶性黑色素瘤患者中,1例患者痣周围出现一圈脱色光晕,新生血管消失,肿瘤体积显著缩小,经过4个月的DEXs治疗后,该患者病情得到稳定控制。此外在其他接受DEXs治疗的患者中,也观察到疾病稳定控制长达24个月。与非小细胞肺癌I期临床试验类似,在DEXs治疗患者的外周血中NK活性增强,表明DEXs体内可增强NK细胞活性,发挥抗肿瘤作用。

研究表明,来自成熟DCs的DEXs具有更强的诱导T细胞免疫应答的能力^[26]。因此针对DEXs疫苗I期临床试验中出现的特异性T细胞应答不明显的问题,在DEXs疫苗的II期临床试验中^[25],使用干扰素 γ 刺激人源MoDC,促进DC成熟,进而增强DEXs激活肿瘤特异性T细胞应答。通过DEXs疫苗的II期临床试验,研究DEXs是否延长晚期NSCLC患者铂类化疗后的无进展生存期。选取22例经4轮铂类一线化疗后具有免疫应答,且HLA-A2⁺的晚期NSCLC患者接受DEXs治疗。该22例患者首先口服3周低剂量环磷酰胺,降低Treg细胞功能^[27-28]。7例(32%)患者在接受9次DEXs疫苗接种后病情稳定,但不幸的是,该试验的主要终点生存周期(PFS)未达到50%。然而,有1例患者表现出长期肿瘤稳定控制,符合手术切除肿瘤条件并接受后期的局部辅助放疗。

总体而言,DEXs的I期和II期临床试验表明,DEXs疫苗具有良好的耐受性和安全性,并且可以在临床环境中大规模生产。虽然参加DEXs疫苗临床试验的患者较少,仅观察到部分或轻微的治疗效果,但仍在一些患者中实现了疾病的稳定控制。

临床试验中DEXs疫苗在晚期癌症患者中治疗

效果有限,主要归因于这些患者中适应性免疫应答特别是T细胞应答较弱。可能与以下几个因素相关:(1)患者的异质性和数量有限。(2)这些患者在入组前曾接受过先前的治疗。(3)这些晚期患者常存在全身和局部免疫抑制。(4)DEXs不够成熟。(5)自体MoDCs可能不是实现最佳抗肿瘤T细胞应答的最佳DC来源。(6)这些临床试验中使用的T细胞抗原可能不足以诱导产生肿瘤抗原特异性T细胞应答。

4 未来发展与展望

通过临床实验证实了DEXs疫苗安全、耐受性好、低细胞毒性、便于储存运输等优势,同时也发现了DEXs疫苗不足以诱导充足的肿瘤抗原特异性T细胞应答的缺陷。因此有必要制定一定的策略来增强DEXs对T细胞的激活。

4.1 促进DEXs的成熟 由于DEXs诱导的抗肿瘤免疫应答直接取决于DEXs的成熟程度,因此可以用TLR配体作为激动剂,促进DEXs成熟。有研究报道,在恶性黑色素瘤体内模型中,TLR配体poly(I:C)处理DCs后获得的DEXs,能够诱导淋巴结、脾脏和肿瘤组织中的黑色素瘤特异性的CD8⁺T细胞的激活,并将NK细胞和T细胞募集到肿瘤部位,从而显著抑制肿瘤生长并增加荷瘤小鼠的存活率^[29]。TLR3配体poly(I:C)可作为DC成熟的有利激动剂,显著增强了DEXs诱导抗肿瘤免疫的潜力,可用作临床试验中DEXs成熟的佐剂。此外,可以通过TEXs及肿瘤细胞裂解物脉冲的方式将多种肿瘤抗原传递给DEXs,促进DEXs的成熟。Wang等^[30]证明,来自非小细胞肺癌的TEXs或细胞裂解物脉冲DC后,能够促进DC的成熟,促进T细胞的活化、增殖、分化以及活化T细胞的杀伤功能。同时发现非小细胞肺癌TEXs能够引发比细胞裂解物更强的肿瘤特异性细胞毒性T淋巴细胞(CTL)免疫应答。更重要的是,TEXs能够降低DC中PD-L1的表达,从而导致体外调节的Treg细胞数量下降。Lu等^[22]通过流式细胞实验发现,DEXs负载肝癌特异性抗原AFP后,DEXs表面MHC-I、MHC-II、CD80、CD86和ICAM等表达水平显著上调。可见通过DEXs负载肿瘤细胞抗原方式也可促进DEXs的成熟。

4.2 DEXs的人工修饰 对DEXs进行人工修饰,可以提高它们的免疫刺激能力和迁移能力。DEXs可以被修饰以表达肿瘤坏死因子、FasL和肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL),从而直接靶向肿瘤细胞并诱导肿瘤细胞凋亡。此外,可使DEXs过

表达miRNA、细胞因子、趋化因子,以及编码肿瘤细胞抗原或调节蛋白的mRNA,以调节靶向免疫细胞或肿瘤细胞的功能^[14,31-33]。

4.3 永生化DC细胞系 应用永生化DC细胞系取代晚期癌症患者自体MoDCs,避免自体MoDCs数量不足或免疫抑制等问题,如GeniusVac-Mel4临床试验中使用的人类pDC细胞系。

4.4 DEXs与放化疗、靶向治疗及免疫检查点阻滞剂等联合用药 免疫应答是一个复杂且多步骤的过程。要获得阳性结果,至少免疫应答的4个组成部分是必要的:适当的APC的存在、诱导的CD4⁺T辅助细胞的质量、Tregs的控制和免疫抑制性肿瘤微环境的破坏。因此,疫苗的最终治疗作用也取决于与其他疗法结合的治疗方案。例如,在II期临床试验中,DEXs疫苗与环磷酰胺治疗相结合。这已在临床前和临床研究中显示可降低Tregs功能并刺激产生双重干扰素- γ /白细胞介素-17的T细胞。但在II期非小细胞肺癌临床试验中也没有观察到客观反应,这可能是由于非小细胞肺癌患者处于肿瘤的晚期。此外,包括免疫检查点阻断在内的其他免疫疗法联合治疗也在临床前研究阶段。目前需要做更多的研究专注于开发更有效的DEXs疫苗联合治疗方案,从而提高治疗效果。

综上所述,免疫治疗是一个快速发展的领域,DEXs在肿瘤免疫治疗中的重要作用受到越来越多的关注。通过临床实验观察到DEXs疫苗安全、耐受性好、低细胞毒性、便于储存运输等优势,同时也注意到了DEXs疫苗诱导肿瘤抗原特异性T细胞应答较弱的不足之处,因此急需制定一定的联合治疗策略来增强DEXs对T细胞的激活作用,提高肿瘤患者的免疫治疗效果。

参考文献:

- [1] YAO Y, FU C, ZHOU L, et al. DC-derived exosomes for cancer immunotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(15):3667.
- [2] PITT J M, ANDRÉ F, AMIGORENA S, et al. Dendritic cell-derived exosomes for cancer therapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1224-1232.
- [3] LEE W C, WANG H C, JENG L B, et al. Effective treatment of small murine hepatocellular carcinoma by dendritic cells[J]. *Hepatology*, 2001, 34(5):896-905.
- [4] HE Q, JIANG X, ZHOU X, et al. Targeting cancers through TCR-peptide/MHC interactions[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):139.
- [5] DUFFY M J, O'BYRNE K. Tissue and blood biomarkers in lung cancer: a review[J]. *Adv Clin Chem*, 2018, 86:1-21.
- [6] PROTO C, FERRARA R, SIGNORELLI D, et al. Choosing wisely first line immunotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC):

- what to add and what to leave out[J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 75: 39–51.
- [7] YAO Y, CHEN L, WEI W, et al. Tumor cell–derived exosome–targeted dendritic cells stimulate stronger CD8⁺ CTL responses and antitumor immunities[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 436(1): 60–65.
- [8] WOLFERS J, LOZIER A, RAPOSO G, et al. Tumor–derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross–priming[J]. *Nat Med*, 2001, 7(3): 297–303.
- [9] TAKAHASHI H, SHIMODAIRA S, OGASAWARA M, et al. Lung adenocarcinoma may be a more susceptible subtype to a dendritic cell–based cancer vaccine than other subtypes of non–small cell lung cancers: a multicenter retrospective analysis[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(9): 1099–1111.
- [10] AHEGET H, MAZINI L, MARTIN F, et al. Exosomes: their role in pathogenesis, diagnosis and treatment of diseases[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 13(1): 84.
- [11] XU K, ZHANG C, DU T, et al. Progress of exosomes in the diagnosis and treatment of lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134: 111111.
- [12] GURUNATHAN S, KANG M H, JEYARAJ M, et al. Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes[J]. *Cells*, 2019, 8(4): 307.
- [13] VIAUD S, TERME M, FLAMENT C, et al. Dendritic cell–derived exosomes promote natural killer cell activation and proliferation: a role for NKG2D ligands and IL–15 α [J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4942.
- [14] MONTECALVO A, LARREGINA A T, SHUFESKY W J, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes[J]. *Blood*, 2012, 119(3): 756–766.
- [15] MUNICH S, SOBO–VUJANOVIC A, BUCHSER W J, et al. Dendritic cell exosomes directly kill tumor cells and activate natural killer cells via TNF superfamily ligands[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(7): 1074–1083.
- [16] ALEXANDER M, HU R, RUNTSCH M C, et al. Exosome–delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7321.
- [17] ZITVOGEL L, REGNAULT A, LOZIER A, et al. Eradication of established murine tumors using a novel cell–free vaccine: dendritic cell–derived exosomes[J]. *Nat Med*, 1998, 4(5): 594–600.
- [18] ANDRE F, ESCUDIER B, ANGEVIN E, et al. Exosomes for cancer immunotherapy[J]. *Ann Oncol*, 2004, 15(Suppl 4): iv141–iv144.
- [19] LI W, MU D, TIAN F, et al. Exosomes derived from Rab27a overexpressing tumor cells elicit efficient induction of antitumor immunity[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(6): 1876–1882.
- [20] WANG J, WANG L, LIN Z, et al. More efficient induction of antitumor T cell immunity by exosomes from CD40L gene–modified lung tumor cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(1): 125–131.
- [21] ZUO B, QI H, LU Z, et al. Alarmin–painted exosomes elicit persistent antitumor immunity in large established tumors in mice[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1790.
- [22] LU Z, ZUO B, JING R, et al. Dendritic cell–derived exosomes elicit tumor regression in autochthonous hepatocellular carcinoma mouse models[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(4): 739–748.
- [23] MORSE M A, GARST J, OSADA T, et al. A phase I study of dexamethasone immunotherapy in patients with advanced non–small cell lung cancer[J]. *J Transl Med*, 2005, 3(1): 9.
- [24] 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.
- [25] BESSE B, CHARRIER M, LAPIERRE V, et al. Dendritic cell–derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1071008.
- [26] SEGURA E, NICCO C, LOMBARD B, et al. ICAM–1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T–cell priming[J]. *Blood*, 2005, 106(1): 216–223.
- [27] VIAUD S, FLAMENT C, ZOUBIR M, et al. Cyclophosphamide induces differentiation of Th17 cells in cancer patients[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3): 661–665.
- [28] VIAUD S, SACCHERI F, MIGNOT G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide[J]. *Science*, 2013, 342(6161): 971–976.
- [29] DAMO M, WILSON D S, 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.
- [30] WANG C, HUANG X, WU Y, et al. Tumor cell–associated exosomes robustly elicit anti–tumor immune responses through modulating dendritic cell vaccines in lung tumor[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(4): 633–643.
- [31] LIU J, REN L, LI S, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(9): 2783–2797.
- [32] HUANG L, RONG Y, TANG X, et al. Engineered exosomes as an in situ DC–primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 45.
- [33] XI Y, UPHAM J W. Plasmacytoid dendritic cells and asthma: a review of current knowledge[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2020, 14(11): 1095–1106.

(2022–04–22 收稿)