

肿瘤源性外泌体在头颈鳞状细胞癌微环境中的免疫调节作用

宋斐^{1,2}, 宋昊^{1,2}, 李玉梅², 牟亚魁², 宋西成²

1. 滨州医学院 第二临床医学院, 山东 烟台 264100

2. 青岛大学附属烟台毓璜顶医院/山东省耳鼻喉疾病临床医学研究中心 耳鼻咽喉头颈外科, 山东 烟台 264099

摘要: 头颈鳞状细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 肿瘤源性外泌体可通过直接与细胞受体相互作用或与质膜发生质膜融合参与免疫细胞调控, 在头颈鳞状细胞癌的调控中发挥作用。肿瘤源性外泌体不仅可以抑制杀伤性免疫细胞对肿瘤的杀伤作用, 还可以负向调节免疫抑制性细胞, 促进肿瘤细胞发生免疫逃逸, 以此调控肿瘤发生、发展以及远处转移。论文综述肿瘤源性外泌体在头颈鳞状细胞癌微环境中调控不同类型免疫细胞的研究进展。通过研究肿瘤源性外泌体在肿瘤微环境中的调控作用, 为实现外泌体递药、肿瘤靶向治疗提供新策略。

关键词: 头颈鳞状细胞癌; 肿瘤源性外泌体; 杀伤性免疫细胞; 免疫抑制性细胞; 肿瘤微环境

中图分类号: R762

文献标志码: A

文章编号: 1673-3770(2024)01-0092-09

引用格式: 宋斐, 宋昊, 李玉梅, 等. 肿瘤源性外泌体在头颈鳞状细胞癌微环境中的免疫调节作用[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(1):92-100. SONG Fei, SONG Hao, LI Yumei, et al. Immunomodulatory roles of tumor-derived exosomes in the microenvironment of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(1):92-100.

Immunomodulatory roles of tumor-derived exosomes in the microenvironment of head and neck squamous cell carcinoma

SONG Fei^{1,2}, SONG Hao^{1,2}, LI Yumei², MOU Yakui², SONG Xicheng²

1. Second Clinical Medicine College, Binzhou Medical University, Yantai 264100, Shandong, China

2. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Yantai Yuhuangding Hospital, Qingdao University/Shandong Provincial Clinical Research Center for Otorhinolaryngologic Diseases, Yantai 264099, Shandong, China

Abstract: Head and neck squamous cell carcinoma is one of the most common malignancies. Tumor-derived exosomes can participate in immune cell regulation through direct interaction with cell receptors or fusion with plasma membrane in immune cells, which plays an important role in the regulation of head and neck squamous cell carcinoma. Tumor-derived exosomes can not only inhibit the effects of killing immune cells on tumors, but also negatively regulate immunosuppressive cell response to promote immune escape of tumor cells, and thus regulate the process of tumorigenesis, development, and distant metastases. This review summarizes the latest research on tumor-derived exosome functions in regulating different types of immune cells in the microenvironment of head and neck squamous cell carcinoma. Through the exploration of tumor-derived exosome regulation of the tumor microenvironment, we aim to realize new strategies of exosome drug delivery and tumor targeted therapy.

Key words: Head and neck squamous cell carcinoma; Tumor-derived exosomes; Killing immune cell; Inhibitory immune cells; Tumor microenvironment

头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)占头颈肿瘤的 90% 以上, 是世界上最常见的癌症类型之一^[1]。尽管诊疗手段、手术技术、放化疗等方面取得了一定进展, HNSCC 患者整体 5 年生存率无明显提高^[2]。肿瘤源性外泌

体(tumor-derived exosomes, TDEs)是由肿瘤细胞分泌, 直径为 30~150 nm 的细胞外囊泡^[3], 可作用于肿瘤微环境中的免疫细胞进行免疫调控, 帮助肿瘤细胞调节肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME), 使 TME 更利于肿瘤发生、发展^[4]。越来越

收稿日期: 2022-12-28

基金课题: 山东省重大创新工程(2022CXPT023)

第一作者: 宋斐、宋昊为共同第一作者

通信作者: 宋西成。E-mail: drxchsong@163.com; 牟亚魁。E-mail: muykmd@126.com

多的证据表明 TDEs 在 TME 中发挥着重要作用, TDEs 可能为干预肿瘤疾病的重要靶点^[5-6]。从血液、尿液以及唾液中检测外泌体较为方便,通过提取 TDEs 与免疫细胞的研究日益增多,为肿瘤诊断、预后监测奠定基础^[7-10]。本文总结 TDEs 在头颈鳞状细胞癌微环境中调控不同类型免疫细胞的研究现状。

1 TDEs 与 TME 免疫细胞

TDEs 可通过介导 TME 内血管生成、上皮间质转化、细胞间信号传递促进肿瘤发展和转移^[6]。TME 包括肿瘤细胞周边的免疫细胞、非免疫细胞、细胞外基质、细胞因子和趋化因子,可为肿瘤提供免疫逃逸和代谢环境,维持肿瘤干细胞表型和细胞可塑性,促进肿瘤细胞增殖和转移^[11]。TME 中免疫细胞主要分为肿瘤杀伤性免疫细胞和免疫抑制性细胞。肿瘤杀伤性免疫细胞主要包括细胞毒性 T 细

胞、中性粒细胞、树突状细胞(dendritic Cell, DC)以及自然杀伤细胞(natural Killer, NK)等,可在固有免疫和适应性免疫中识别肿瘤细胞发挥杀伤效应,直接或间接清除肿瘤细胞。TDEs 具有与肿瘤细胞相似的抗原成分,可引发肿瘤杀伤性免疫细胞抗肿瘤免疫应答,亦可通过分泌免疫抑制因子负性调控肿瘤杀伤性免疫细胞(见图 1)。

免疫抑制性细胞是指在免疫过程中起抑制作用的细胞,主要包括髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)、调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)及肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)。免疫稳态的维持需要杀伤性免疫细胞和免疫抑制性细胞达成动态平衡,杀伤性免疫细胞过度发挥杀伤作用容易造成机体损伤,免疫抑制性细胞发挥作用可避免机体过度免疫^[12]。

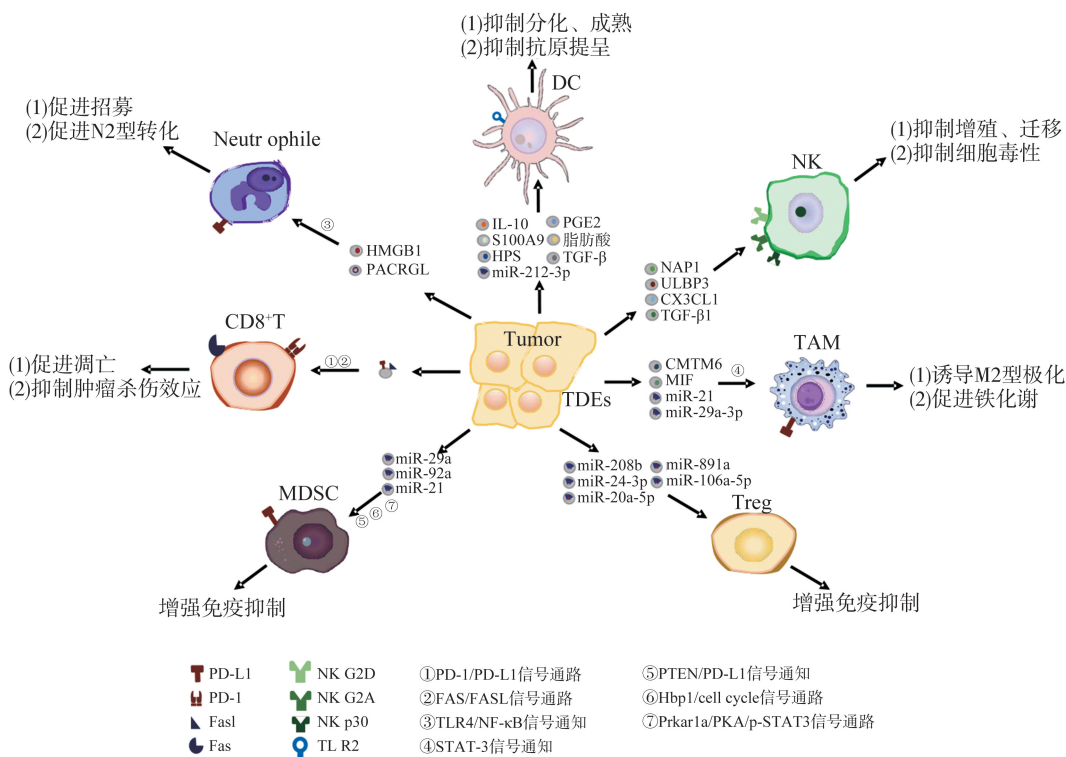


图 1 TDEs 对 TME 的调控示意图

Figure 1 Schematic diagram of TME regulation by TDEs

2 TDEs 作用于杀伤性免疫细胞调控 HNSCC

2.1 TDEs 对 CD8⁺T 细胞凋亡和功能的影响

CD8⁺T 细胞是特异性免疫反应中的杀伤性 T 细胞,经过肿瘤抗原激活后既可以协同其他免疫细胞抗肿瘤,也可以直接发挥免疫杀伤效应。直接诱导 CD8⁺T 细胞凋亡是 TDEs 调节免疫细胞的重要途径之一。HNSCC 来源的外泌体与 CD8⁺T 细胞共

孵化可导致 CD8⁺T 细胞凋亡,CD4⁺T 细胞增殖受到抑制,调节性 T 细胞免疫抑制功能增强^[13]。CD45 是启动 T 细胞受体信号传导的关键,CD45 缺乏可导致 T 淋巴细胞功能障碍^[14],HNSCC 患者中 CD45(-) 外泌体可抑制 CD8⁺T 细胞激活,诱导 CD8⁺T 细胞凋亡^[15]。Razzo 等^[16]证实,小鼠头颈肿瘤细胞系 SCCVII 来源外泌体与人类 TDEs 相似,小鼠 TDEs 携带大量免疫抑制蛋白,包括 FasL、

PD-L1、CD39、CD73 以及 COX-2 等。向小鼠静脉注射单次 TDEs 可加速口腔癌前病变小鼠的肿瘤进展,并减少 CD8⁺T 细胞等免疫细胞在肿瘤组织的浸润数量。TDEs 可通过 Fas/FasL 通路引起 CD8⁺T 细胞中的 caspase-3 活化、细胞色素 C 释放以及线粒体膜电位消失,进而诱导 CD8⁺T 细胞凋亡^[17]。

此外,TDEs 可通过 PD-1/PD-L1 通路抑制 CD8⁺T 细胞功能,促进 HNSCC 发生免疫逃逸,肿瘤细胞表面 PD-L1 与效应 T 细胞表面 PD-1 相结合抑制 T 细胞的活性,从而引发肿瘤细胞免疫逃逸^[18]。与正常组织相比,下咽癌组织中 CD8⁺T 细胞表面 PD-1 表达明显上调^[19],从 HNSCC 患者血浆中分离出高表达 PD-L1 的 TDEs,与 PD-1 活化的 CD8⁺T 细胞共培养后,T 细胞活化标志分子 CD69 表达水平明显下降,表明 CD8⁺T 细胞活化受到抑制^[18]。同时,TDEs 可能是 CD8⁺T 细胞从杀伤性表型转为抑制性表型的关键诱导因素,主要机制可能是通过引起 CD8⁺T 细胞中共刺激信号分子 CD27/CD28 表达缺失,诱导 CD8⁺T 细胞产生抑制表型^[20]。

2.2 TDEs 对中性粒细胞招募和转化的影响

中性粒细胞是外周循环中丰度最高的白细胞,具有内在抗肿瘤活性。中性粒细胞可被招募至 TME,重编程为肿瘤相关中性粒细胞(tumor associated neutrophils, TAN)。TAN 具有表型和功能重塑性,根据接受刺激不同可极化为抗肿瘤(N1 型中性粒细胞)和促肿瘤(N2 型中性粒细胞)两种状态^[21]。

TDEs 可促进中性粒细胞向肿瘤微环境聚集并重编程为 TAN。外周血中性粒细胞占比 50%~70%,外周循环中性粒细胞与淋巴细胞比值过高可导致肿瘤不良预后。有研究表明,中性粒细胞与淋巴细胞比值是口腔鳞状细胞癌患者临床预后不佳的独立风险因素^[22]。黑色素瘤敲除 BAG-6 基因的外泌体可刺激中性粒细胞积累相关转录因子上调,将中性粒细胞招募至肿瘤转移前微环境,提高 N2 型中性粒细胞比例^[23]。此外,高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)对中性粒细胞的激活和招募具有重要作用。TDEs 中的 HMGB1 可激活 STAT3 通路增加中性粒细胞表面 PD-L1,还可诱导外周血中性粒细胞的免疫抑制表型,进而抑制 T 细胞免疫效力^[24],TDEs 还可参与构建中性粒细胞外陷阱支架,促进肿瘤相关血栓形成^[25]。

TDEs 可促进 TAN 转化为 N2 表型,发挥促癌作用。外泌体 HMGB1 可激活 TLR4/NF- κ B 信号通路,将中性粒细胞转化为促肿瘤 N2 表型^[26]。circRNA PACRGL 是 miR-142-3p/miR-506-3p 的海

绵,可促进 TGF- β 1 表达,中性粒细胞吞噬携带 circRNA PACRGL 的 TDEs,通过 miR-142-3p/miR-506-3p-TGF- β 1 轴促进其 N2 表型转化^[27-28]。

2.3 TDEs 对 DC 分化、成熟和功能的影响

DC 由骨髓中的髓系、淋巴系祖细胞或单核细胞分化而来,可参与先天性和适应性免疫反应。DC 具有抗原递呈功能,能够摄取、加工处理和递呈抗原,有效激活 T 细胞,与肿瘤免疫应答密切相关。

TDEs 可有效抑制 DC 分化,MDSCs 的增加是 DC 分化缺陷的标志。头颈部等实体瘤患者外周血中可观察到未成熟 DC 增多^[29],肿瘤细胞可通过 Jak2-STAT3 通路介导 DC 和 MDSCs 分化,STAT3 诱导髓细胞相关蛋白 S100A9 上调,减少髓细胞向 DC 分化,增加 MDSCs 原始积累,塑造免疫抑制环境^[30-31]。TDEs 富含热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)HSP70、HSP72 等免疫调节因子,HSP 与 DC/MDSCs 表面 TLR2/TLR4 相互作用,导致 pSTAT3 表达和 IL-6 产生,进一步抑制抗肿瘤免疫反应^[32]。

TDEs 可抑制 DC 成熟,黑色素瘤分泌外泌体中亦检测到 S100A9 上调,DC 表面成熟标志物 CD83、CD86 表达降低,说明 TDEs 可抑制 DC 成熟^[33]。IL-10 作为一种免疫抑制分子,可通过多种方式促进 STAT3 转录,抑制 DC 成熟,亦可直接抑制 DC 激活相关的 TLR 信号传导^[34],与原发肺癌细胞相比,转移性肺癌细胞分泌外泌体中含有更多 IL-10,表明 TDEs 可能通过抑制 DC 等免疫细胞成熟,塑造利于肿瘤细胞向远处转移的免疫抑制微环境^[35]。此外,TDEs 可通过转移脂质诱导 DC 代谢重编程,过氧化物酶体增殖剂激活受体 α 诱导 TDEs 将脂肪酸过度递送至 DC,增加 DC 脂肪积累,导致代谢转向线粒体氧化磷酸化,最终引起 DC 加工、提呈抗原等免疫功能发生障碍^[36-37]。肿瘤细胞产生的乳酸亦是肿瘤微环境中调节 DC 表型的重要因素,肿瘤糖酵解产生大量乳酸使原始单核细胞转化为缺乏 IL-12 的未成熟 DC,无法有效刺激 T 细胞^[38-39]。TDEs 中含有催化丙酮酸转化为乳酸的乳酸脱氢酶,由此推测 TDEs 可以提高 TME 中乳酸水平,进而抑制 DC 成熟^[40]。

此外,TDEs 还可以干扰 DC 发挥功能。既往研究将前列腺癌细胞内与外泌体分泌相关的基因 Rab27a 敲除,而后与 DC、T 细胞共培养,发现 TDEs 分泌减少,特异性 T 细胞反应降低,提示前列腺癌细胞可通过外泌体调节 DC 的功能,间接抑制 CD8⁺T 细胞的活化^[41]。声门上喉癌患者肿瘤相关成纤维细胞衍生的外泌体 miRNA 表达谱中亦可检测到 miR-212-3p 表达上调,TDEs 可将 miR-212-3p 转运

至未成熟 DC,抑制 RFXAP 产生,减少 MHC II 类分子表达,诱导 DC 免疫耐受^[42]。此外,TDEs 内 TGF- β 抑制分子可增加 CD73 在 DC 上的表达,导致 HNSCC 肿瘤部位的抑制性腺苷水平增加,从而影响 DC 的抗原提呈活性^[43]。

2.4 TDEs 对 NK 细胞增殖、迁移和功能的影响

NK 细胞对非特异性肿瘤细胞杀伤发挥重要作用,可直接分泌穿孔素、IFN- γ ,参与 Fas/FasL 通路发挥细胞毒作用,还可增强其他免疫细胞功能^[44]。TDEs 可以通过不同的机制调节 NK 细胞活性,在 NK 细胞增殖、迁移中起着关键作用。研究发现,小鼠乳腺癌外泌体处理 NK 细胞后可减少 NK 细胞在体内的数量和百分比,进而选择性降低 NK 细胞 IL-2 受体的表达,从而抑制 IL-2 诱导 NK 细胞增殖;此外,TDEs 通过阻断 Jak3 和周期蛋白 D3 的表达抑制穿孔素释放,影响 NK 细胞溶解活性,使 NK 细胞毒性受损^[45]。急性髓性白血病源性外泌体同样可引起 NK 细胞增殖减少^[46]。肿瘤细胞在正常条件和缺氧条件下衍生的外泌体均可被 NK 细胞吸收,当 NK 细胞受到缺氧刺激时,产生 IFN γ 的能力减弱^[47]。作为抗病毒和抗肿瘤的关键趋化因子,CX3CL1 在小鼠黑色素瘤上皮样细胞系(B16F10)、小鼠胰腺腺癌上皮细胞系(LTPA)等细胞系分离的外泌体中高表达,其可以与 NK 等免疫细胞上的 CX3CR1 结合^[48],与 CX3CR1 相互作用介导免疫细胞黏附与迁移。

NK 细胞是免疫监视的重要参与者,一些研究^[49-53]证实 TDEs 在不同时期对 NK 细胞的调控具有不同甚至相反的作用。口腔癌细胞分泌外泌体中含有高丰度 NF- κ B 激活激酶相关蛋白 1,可促进 NK 细胞免疫应答相关转录因子 IRF-3、I 型干扰素基因表达,增加颗粒酶和穿孔素释放,提高 NK 细胞的杀伤活性^[49]。构建转基因 K562 细胞以模拟肿瘤细胞,使其表面表达 IL-15、IL-18 以及 4-1BB 配体,通过转基因 K562 细胞衍生的外泌体模拟 TDEs,结果发现外泌体可在 4 h 内激活 NK 细胞,增强 NK 细胞毒性,延长至 48 h 则表现出对 NK 细胞表面活性受体表达的抑制,从而抑制 NK 细胞的细胞毒性^[50],提示 TDEs 短时间刺激 NK 细胞发挥细胞毒性作用,但长期接触 TDEs 可抑制 NK 细胞功能,导致免疫逃逸。NKG2D 的表达水平与 NK 细胞介导的细胞毒性呈正相关,口腔癌衍生的外泌体向 NK 细胞输送 TGF- β 1,可检测到 NK 细胞表面 NKG2D、NKP30 等 NK 细胞激活受体表达水平明显增加,抑制型受体 NKG2A 表达明显降低^[51],最终导致 NK

细胞功能失调。另一项研究将活动期、静止期的 HNSCC 血浆外泌体分别与 NK 细胞共培养,发现肿瘤活动期外泌体共培养组 NKG2D 受体表达下降,且肿瘤活动期外泌体可抑制 NK 细胞发挥毒性作用^[52]。此外,TDEs 可释放 ULBP3 下调 NKG2D 表达,抑制 NK 细胞肿瘤杀伤活性^[53]。

3 TDEs 作用于免疫抑制性细胞调控 HNSCC

3.1 TDEs 对 MDSCs 的影响

MDSCs 由骨髓中的髓系祖细胞产生,被肿瘤细胞分泌的生长因子招募至肿瘤部位及外周淋巴器官,参与肿瘤形成的初始过程,具有抑制 T 细胞和 NK 细胞活性的强大功能,促进肿瘤细胞浸润、转移和血管生成^[54]。TDEs 通过多种细胞因子作用于 MDSCs,激活多条通路抑制其他免疫细胞功能,促进肿瘤进展。TDEs 表面的 HSP72 可诱导 MDSCs 表面的 STAT3 通路激活,发挥免疫抑制效应,抑制 T 细胞功能^[55]。STAT3 激活可上调精氨酸酶-1 表达和活性,增强 MDSCs 在头颈 TME 发挥免疫抑制作用^[56]。口腔鳞癌细胞在低氧处理下可产生富含 miR-21 的外泌体,导致 MDSCs 表面 PD-L1 表达增加,激活 PTEN/PD-L1 轴,耗竭表达 PD-1 的 γ δ T 淋巴细胞,致使 MDSCs 对 γ δ T 细胞的抑制作用激活,促进肿瘤发生免疫逃逸^[57]。缺氧条件下胶质瘤 TDEs 内 miR-29a 和 miR-92a 分别通过 Hbp1 细胞循环通路和 Prkar1a/PKA/p-STAT3 通路促进 MDSCs 的扩增,增强 MDSCs 免疫抑制功能^[58]。

3.2 TDEs 对 Treg 细胞的影响

Treg 细胞是典型的具有免疫抑制功能的 T 细胞,直接抑制靶细胞活性或分泌抑制性细胞因子抑制其他免疫细胞增殖、活化。据统计,头颈癌、食管癌、肺癌和子宫癌等鳞状细胞癌患者 Treg 细胞占比比较高,其中鳞状细胞癌 Tregs 细胞比例高于腺癌明显高于其他实体肿瘤患者^[59]。TDEs 可促使 Treg 细胞持续生成肌苷,调控 TGF- β 和 IL-10 表达,促进 Treg 细胞增殖,增强其抑制功能^[60-61]。结肠癌 TDEs 分泌的 miR-208b 可靶向程序性细胞死亡因子 4 促进 Treg 细胞增殖,导致肿瘤生长速度增快以及肿瘤耐药^[62]。头颈鳞状细胞癌患者外周血分离得到的外泌体可诱导 Treg 细胞增殖,介导 CD4⁺CD25⁻T 细胞转换为 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Tregs 细胞,促使 Treg 表现出 FasL、IL-10、TGF- β 1、CTLA-4、颗粒酶 B 和穿孔蛋白表达增加,Treg 细胞对凋亡的抵抗能力增强^[63]。此外,研究证明鼻咽癌 TDEs 可将 miRNA (miR-24-3p、miR-891a、miR-106a-5p、

miR-20a-5p) 转移至 T 细胞, 促进 ERK/STAT1/STAT3 磷酸化的下调, 并将 T 细胞转向 Treg 表型, 发挥免疫抑制作用^[64]。

3.3 TDEs 对 TAM 的影响

TAM 广泛参与 TEM 形成, 大多数为 M2 表型, 可分泌 VEGF、PDGF、TGF- β 、IL-10 等抗炎趋化因子, 招募 Th2、Tregs 细胞, 对肿瘤浸润的淋巴细胞具有免疫抑制作用, 促进肿瘤生长、转移和侵袭。临床研究证实, M2 型巨噬细胞浸润数量与口腔鳞状细胞癌患者预后呈负相关, M2 型 TAM 释放趋化因子可促进口腔鳞状细胞癌发生转移^[65]。

TDEs 可通过多种 miRNA 调控 TAM 向促肿瘤 M2 表型极化。口腔癌源性外泌体内高表达 miR-29a-3p, 富含 miR-29a-3p 的 TDEs 被运送至非极化的巨噬细胞, 通过 SOCS1/STAT6 通路将巨噬细胞极化为 M2 表型^[66]。人类头颈鳞状细胞癌细胞系 Fadu 过表达 snail 基因可刺激产生 miR-21 丰富的 TDEs, 导致 TDEs 内 M2 标志因子 MRC1、CD163 和 IL-10 表达增多, 诱导巨噬细胞 M2 型极化、血管生成、肿瘤生长, 说明外泌体 miR-21 是诱导巨噬细胞 M2 型极化的重要靶点^[67]。

TDEs 可通过多种方式上调 TAM 表面 PD-L1 表达, 诱导巨噬细胞极化, 促进肿瘤免疫逃逸。口腔癌细胞内质网应激可促进 TDEs 分泌, 上调巨噬细胞 PD-L1 表达, 促进巨噬细胞极化为 M2 表型^[68]。体外试验表明, 外泌体可通过激活 STAT3 转录途径上调喉癌淋巴结转移细胞系 PD-L1 表达, 诱导巨噬细胞中 IL-10 表达, 增强免疫抑制状态, 驱动免疫抑制环境的形成^[69]。此外, 口腔癌细胞分泌外泌体内 CMTM6 可通过 ERK1/2 信号通路上调 PD-L1, 诱导 M2 样巨噬细胞极化, 促进口腔癌细胞的增殖、侵袭和迁移^[70]。

TDEs 还可通过 MIF 等迁移抑制因子调控 TAM 铁沉着, 促进肿瘤发展、迁移。巨噬细胞是体内最丰富的铁储存细胞^[71], 目前肿瘤细胞铁代谢已有广泛研究, 巨噬细胞铁沉着对肿瘤进展研究相对较少。M1 型巨噬细胞表现出较强的铁吸收、铁储存特性, 与之相反, M2 型巨噬细胞可向肿瘤充分供铁, 在肿瘤转移中发挥重要作用^[72]。鼻咽癌细胞高表达巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF), 与巨噬细胞的迁移有密切关系, 可通过外泌体输送至巨噬细胞, MIF 可促进巨噬细胞向 M2 型极化、抑制巨噬细胞铁沉着, 促进肿瘤转移^[73]。

4 外泌体在 HNSCC 诊断、治疗中的应用

HNSCC 防治和术后监测难度大, 纤维喉镜联合病理活检、CT、MRI 等传统辅助检查方式有创且难以实时监测, 而外周血液、尿液、唾液等体液中外泌体具有无创、易收集、可克服肿瘤时空易质性、实时动态监测等优点, 是肿瘤精准检测的理想标志物。HNSCC 患者唾液中外泌体 miR-486-5p、miR-486-3p 和 miR-10b-5p 水平明显高于健康对照组, 特异性的唾液外泌体 miRNA 可作为标志物进一步补充 HNSCC 诊断方法^[74]。通过机器学习血浆外泌体特征, 在预测诊断肺癌时可达到良好的分类效果 (AUC=0.912)^[75]。高通量测序技术或与人工智能相结合的外泌体液体活检可陆续应用于监测癌症进展和治疗效果。

外泌体可作为递送抗癌药物的载体, 肿瘤细胞提取的外泌体因其具有组织归巢能力更有利于靶向肿瘤细胞, 易于被亲本肿瘤细胞接收, 推动肿瘤精准治疗。合成特定药物增加肿瘤免疫原性标记, 可更好地辅助免疫细胞定位捕捉散在肿瘤细胞^[76-77]。TDEs 装载 CRISPR/Cas9 质粒可成功靶向卵巢癌细胞, 抑制 PARP-1 表达, 诱导卵巢癌细胞凋亡; 此外, CRISPR/Cas9 质粒抑制 PARP-1 表达提高了肿瘤对顺铂的敏感性^[78]。Yong 等^[79]开发了一种基于 TDEs 的多孔硅纳米颗粒 (porous silicon nanoparticles, PSiNPs) 辅助靶向运载化疗药物, PSiNPs 在外泌体周围形成保护膜, 一定程度延长载药外泌体存活时间, 还表现出血管外渗、向肿瘤聚集、肿瘤组织渗透程度增加。然而, 如何将实验室成果转向临床仍是不小的挑战, 最常应用的离心法、磁珠法及沉淀法^[80]提取外泌体收率低、纯度差、杂质多、成本高, 目前尚难实现大批量生产。

5 展望

近年来, TEM 中 TDEs 与免疫细胞之间的相互作用引起广泛的关注, TDEs 因其具有与亲代细胞类似的内容物, 可作为肿瘤抗原刺激杀伤性免疫细胞发生免疫应答, 或作用于免疫抑制性细胞引发免疫逃逸。免疫细胞相关的外泌体疫苗也被广泛研发^[81], 外泌体相关疗法有望成为治愈癌症患者的一道曙光。自体来源的外泌体理论上具有更好的生物相容性和低免疫原性, 在实现高效率靶向药物递送同时, 可解决药物溶解性差、毒性作用广的难题^[5]。外泌体产量低和纯度差是限制其向临床转换的主要障碍, 适当组合外泌体的提取和纯化方法是解决该

问题的有效措施,如何将组合效果达到最佳是未来进一步研究的重要方向。进一步探究外泌体的分泌和融合机制,将为药代动力学、毒理学研究和临床测试奠定基础。

参考文献:

- [1] Johnson DE, Burtneß B, Leemans CR, et al. Head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 92. doi:10.1038/s41572-020-00224-3
- [2] Sun Z, Sun XD, Chen ZW, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: risk factors, molecular alterations, immunology and peptide vaccines[J]. *Int J Pept Res Ther*, 2022, 28(1): 19. doi:10.1007/s10989-021-10334-5
- [3] Yang DB, Zhang WH, Zhang HY, et al. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation—efforts for efficient exosome-based theranostics [J]. *Theranostics*, 2020, 10(8): 3684-3707. doi:10.7150/thno.41580
- [4] Li Y, Gao ST, Hu Q, et al. Functional properties of cancer epithelium and stroma-derived exosomes in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(5): 757. doi:10.3390/life12050757
- [5] Shao JT, Zaro J, Shen YX. Advances in exosome-based drug delivery and tumor targeting: from tissue distribution to intracellular fate[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 9355-9371. doi:10.2147/IJN.S281890
- [6] Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75. doi:10.1186/s12943-019-0991-5
- [7] Dai J, Su YZ, Zhong SY, et al. Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 145. doi:10.1038/s41392-020-00261-0
- [8] Li BW, Cao Y, Sun MJ, et al. Expression, regulation, and function of exosome-derived miRNAs in cancer progression and therapy [J]. *FASEB J*, 2021, 35(10): e21916. doi:10.1096/fj.202100294RR
- [9] Wang HB, Lu ZM, Zhao XX. Tumorigenesis, diagnosis, and therapeutic potential of exosomes in liver cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 133. doi: 10.1186/s13045-019-0806-6
- [10] Jing Z, Chen K, Gong L. The significance of exosomes in pathogenesis, diagnosis, and treatment of esophageal cancer[J]. *Int J Nanomed*, 2021, 16: 6115-6127. doi: 10.2147/IJN.S321555
- [11] Jin MZ, Jin WL. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 166. doi: 10.1038/s41392-020-00280-x
- [12] Khalaf K, Hana D, Chou JT, et al. Aspects of the tumor microenvironment involved in immune resistance and drug resistance[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 656364. doi:10.3389/fimmu.2021.656364
- [13] Wiecekowi EU, Visus C, Szajnik M, et al. Tumor-derived microvesicles promote regulatory T cell expansion and induce apoptosis in tumor-reactive activated CD8⁺ T lymphocytes[J]. *J Immunol*, 2009, 183(6): 3720-3730. doi:10.4049/jimmunol.0900970
- [14] Rheinländer A, Schraven B, Bommhardt U. CD45 in human physiology and clinical medicine[J]. *Immunol Lett*, 2018, 196: 22-32. doi:10.1016/j.imlet.2018.01.009
- [15] Beccard IJ, Hofmann L, Schroeder JC, et al. Immune suppressive effects of plasma-derived exosome populations in head and neck cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7): 1997. doi:10.3390/cancers12071997
- [16] Razzo BM, Ludwig N, Hong CS, et al. Tumor-derived exosomes promote carcinogenesis of murine oral squamous cell carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(5): 625-633. doi:10.1093/carcin/bgz124
- [17] Kim JW, Wiecekowi E, Taylor DD, et al. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(3): 1010-1020
- [18] Theodoraki MN, Yerneni SS, Hoffmann TK, et al. Clinical significance of PD-L1⁺ exosomes in plasma of head and neck cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(4): 896-905. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2664
- [19] Gao Q, Liu HT, Xu YQ, et al. Serum-derived exosomes promote CD8⁺ T cells to overexpress PD-1, affecting the prognosis of hypopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 584. doi: 10.1186/s12935-021-02294-z
- [20] Maybruck BT, Pfannenstiel LW, Diaz-Montero M, et al. Tumor-derived exosomes induce CD8⁺ T cell suppressors [J]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5(1): 65. doi:10.1186/s40425-017-0269-7
- [21] Masucci MT, Minopoli M, Carriero MV. Tumor associated neutrophils. their role in tumorigenesis, metastasis, prognosis and therapy[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1146. doi:10.3389/fonc.2019.01146
- [22] Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer: a meta-analysis[J]. *Head Neck*, 2018, 40(3): 647-655. doi:10.1002/hed.24986
- [23] Schuldner M, Dörsam B, Shatnyeva O, et al. Exosome-dependent immune surveillance at the metastatic niche requires BAG6 and CBP/p300-dependent acetylation of p53[J]. *Theranostics*, 2019, 9(21): 6047-6062. doi:

- 10.7150/thno.36378
- [24] Liu YD, Li CF, Lu YP, et al. Tumor microenvironment-mediated immune tolerance in development and treatment of gastric cancer [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1016817. doi:10.3389/fimmu.2022.1016817
- [25] Leal AC, Mizurini DM, Gomes T, et al. Tumor-derived exosomes induce the formation of neutrophil extracellular traps; implications for the establishment of cancer-associated thrombosis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6438. doi:10.1038/s41598-017-06893-7
- [26] Zhang X, Shi H, Yuan X, et al. Tumor-derived exosomes induce N2 polarization of neutrophils to promote gastric cancer cell migration [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 146. doi:10.1186/s12943-018-0898-6
- [27] Tuo BJ, Chen Z, Dang Q, et al. Roles of exosomal circRNAs in tumour immunity and cancer progression [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(6): 539. doi:10.1038/s41419-022-04949-9
- [28] Shang AQ, Gu CZ, Wang WW, et al. Exosomal circPACRGL promotes progression of colorectal cancer via the miR-142-3p/miR-506-3p-TGF- β 1 axis [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 117. doi:10.1186/s12943-020-01235-0
- [29] Yang M, Shurin GV, Zhu PY, et al. Dendritic cells in the cancer microenvironment [J]. *J Cancer*, 2013, 4(1): 36-44. doi:10.7150/jca.5046
- [30] Cheng PY, Corzo CA, Luetteke N, et al. Inhibition of dendritic cell differentiation and accumulation of myeloid-derived suppressor cells in cancer is regulated by S100A9 protein [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(10): 2235-2249. doi:10.1084/jem.20080132
- [31] Farren MR, Carlson LM, Netherby CS, et al. Tumor-induced STAT3 signaling in myeloid cells impairs dendritic cell generation by decreasing PKC β II abundance [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(313): ra16. doi:10.1126/scisignal.2004656
- [32] Lopatina T, Sarcinella A, Brizzi MF. Tumour derived extracellular vesicles: challenging target to blunt tumour immune evasion [J]. *Cancers*, 2022, 14(16): 4020. doi:10.3390/cancers14164020
- [33] Maus RLG, Jakub JW, Hieken TJ, et al. Identification of novel, immune-mediating extracellular vesicles in human lymphatic effluent draining primary cutaneous melanoma [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(12): e1667742. doi:10.1080/2162402X.2019.1667742
- [34] Mittal SK, Roche PA. Suppression of antigen presentation by IL-10 [J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 34: 22-27. doi:10.1016/j.coi.2014.12.009
- [35] Wang YZ, Yi J, Chen XG, et al. The regulation of cancer cell migration by lung cancer cell-derived exosomes through TGF- β and IL-10 [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2): 1527-1530. doi:10.3892/ol.2015.4044
- [36] Sim WJ, Ahl PJ, Connolly JE. Metabolism is central to tolerogenic dendritic cell function [J]. *Mediators Inflamm*, 2016; 2636701. doi:10.1155/2016/2636701
- [37] Yin XZ, Zeng WF, Wu BW, et al. PPAR α inhibition overcomes tumor-derived exosomal lipid-induced dendritic cell dysfunction [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(3): 108278. doi:10.1016/j.celrep.2020.108278
- [38] Zong JB, Keskinov AA, Shurin GV, et al. Tumor-derived factors modulating dendritic cell function [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(7): 821-833. doi:10.1007/s00262-016-1820-y
- [39] Gottfried E, Kunz-Schughart LA, Ebner S, et al. Tumor-derived lactic acid modulates dendritic cell activation and antigen expression [J]. *Blood*, 2006, 107(5): 2013-2021. doi:10.1182/blood-2005-05-1795
- [40] Hosseini R, Asef-Kabiri L, Yousefi H, et al. The roles of tumor-derived exosomes in altered differentiation, maturation and function of dendritic cells [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 83. doi:10.1186/s12943-021-01376-w
- [41] Salimu J, Webber J, Gurney M, et al. Dominant immunosuppression of dendritic cell function by prostate-cancer-derived exosomes [J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1): 1368823. doi:10.1080/20013078.2017.1368823
- [42] Wu CP, Wang M, Huang Q, et al. Aberrant expression profiles and bioinformatic analysis of CAF-derived exosomal miRNAs from three moderately differentiated supraglottic LSCC patients [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(1): e24108. doi:10.1002/jcla.24108
- [43] Allard B, Longhi MS, Robson SC, et al. The ectonucleotidases CD39 and CD73: novel checkpoint inhibitor targets [J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1): 121-144. doi:10.1111/imr.12528
- [44] Sun YY, Guo MF, Feng YJ, et al. Effect of ginseng polysaccharides on NK cell cytotoxicity in immunosuppressed mice [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 3773-3777. doi:10.3892/etm.2016.3840
- [45] Liu CR, Yu SH, Zinn K, et al. Murine mammary carcinoma exosomes promote tumor growth by suppression of NK cell function [J]. *J Immunol*, 2006, 176(3): 1375-1385. doi:10.4049/jimmunol.176.3.1375
- [46] Hong CS, Sharma P, Yerneni SS, et al. Circulating exosomes carrying an immunosuppressive cargo interfere with cellular immunotherapy in acute myeloid leukemia [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14684. doi:10.1038/s41598-017-14661-w
- [47] Berchem G, Noman MZ, Bosseler M, et al. Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF- β and miR23a

- transfer[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1062968. doi:10.1080/2162402X.2015.1062968
- [48] Park EJ, Myint PK, Appiah MG, et al. Ligand-competent fractalkine receptor is expressed on exosomes[J]. *Biochem Biophys Res*, 2021, 26: 100932. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.100932
- [49] Wang YN, Qin X, Zhu XQ, et al. Oral cancer-derived exosomal NAP1 enhances cytotoxicity of natural killer cells via the IRF-3 pathway[J]. *Oral Oncol*, 2018, 76: 34-41. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.11.024
- [50] Li Q, Huang QP, Huyan T, et al. Bifacial effects of engineering tumour cell-derived exosomes on human natural killer cells[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(2): 141-150. doi:10.1016/j.yexcr.2017.12.005
- [51] Zhu XQ, Qin X, Wang XN, et al. Oral cancer cell-derived exosomes modulate natural killer cell activity by regulating the receptors on these cells[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(6): 2115-2125. doi: 10.3892/ijmm.2020.4736
- [52] Ludwig S, Floros T, Theodoraki MN, et al. Suppression of lymphocyte functions by plasma exosomes correlates with disease activity in patients with head and neck cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(16): 4843-4854. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-2819
- [53] Hosseini R, Sarvnaz H, Arabpour M, et al. Cancer exosomes and natural killer cells dysfunction: biological roles, clinical significance and implications for immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 15. doi:10.1186/s12943-021-01492-7
- [54] Dysthe M, Parihar R. Myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1224: 117-140. doi:10.1007/978-3-030-35723-8_8
- [55] Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, et al. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(2): 457-471. doi:10.1172/JCI40483
- [56] Vasquez-Dunddel D, Pan F, Zeng Q, et al. STAT3 regulates arginase-I in myeloid-derived suppressor cells from cancer patients[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(4): 1580-1589. doi:10.1172/JCI60083
- [57] Shiah SG, Chou ST, Chang JY. microRNAs; their role in metabolism, tumor microenvironment, and therapeutic implications in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Cancers*, 2021, 13(22): 5604. doi:10.3390/cancers13225604
- [58] Guo XF, Qiu W, Wang J, et al. Glioma exosomes mediate the expansion and function of myeloid-derived suppressor cells through microRNA-29a/Hbp1 and microRNA-92a/Prkar1a pathways[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(12): 3111-3126. doi:10.1002/ijc.32052
- [59] Kamigaki T, Ibe H, Okada S, et al. Improvement of impaired immunological status of patients with various types of advanced cancers by autologous immune cell therapy[J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(8): 4535-4543
- [60] Chen WZ, Jiang JX, Xia WJ, et al. Tumor-related exosomes contribute to tumor-promoting microenvironment: an immunological perspective[J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 1073947. doi:10.1155/2017/1073947
- [61] Muller L, Simms P, Hong CS, et al. Human tumor-derived exosomes (TEX) regulate Treg functions via cell surface signaling rather than uptake mechanisms[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(8): e1261243. doi: 10.1080/2162402X.2016.1261243
- [62] Ning T, Li JL, He Y, et al. Exosomal miR-208b related with oxaliplatin resistance promotes Treg expansion in colorectal cancer[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(9): 2723-2736. doi:10.1016/j.ymthe.2021.04.028
- [63] Szajnik M, Czystowska M, Szczepanski MJ, et al. Tumor-derived microvesicles induce, expand and up-regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg)[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11469. doi:10.1371/journal.pone.0011469
- [64] Reale A, Khong T, Spencer A. Extracellular vesicles and their roles in the tumor immune microenvironment[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(23): 6892. doi:10.3390/jcm11236892
- [65] Liu ZX, Rui T, Lin ZY, et al. Tumor-associated macrophages promote metastasis of oral squamous cell carcinoma via CCL13 regulated by stress granule[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(20): 5081. doi: 10.3390/cancers14205081
- [66] Cai JH, Qiao B, Gao N, et al. Oral squamous cell carcinoma-derived exosomes promote M2 subtype macrophage polarization mediated by exosome-enclosed miR-29a-3p[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(5): C731-C740. doi:10.1152/ajpcell.00366.2018
- [67] Hsieh CH, Tai SK, Yang MH. Snail-overexpressing cancer cells promote M2-like polarization of tumor-associated macrophages by delivering miR-21-abundant exosomes[J]. *Neoplasia*, 2018, 20(8): 775-788. doi:10.1016/j.neo.2018.06.004
- [68] Yuan Y, Jiao PF, Wang ZY, et al. Endoplasmic reticulum stress promotes the release of exosomal PD-L1 from head and neck cancer cells and facilitates M2 macrophage polarization[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 12. doi:10.1186/s12964-021-00810-2
- [69] Bellmunt òM, López-Puerto L, Lorente J, et al. Involvement of extracellular vesicles in the macrophage-tumor cell communication in head and neck squamous

- cell carcinoma [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (11): e0224710. doi:10.1371/journal.pone.0224710
- [70] Pang X, Wang SS, Zhang M, et al. OSCC cell-secreted exosomal CMTM6 induced M2-like macrophages polarization via ERK1/2 signaling pathway[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70 (4): 1015-1029. doi: 10.1007/s00262-020-02741-2
- [71] Zhou Y, Que KT, Zhang Z, et al. Iron overloaded polarizes macrophage to proinflammation phenotype through ROS/acetyl-p53 pathway[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(8): 4012-4022. doi:10.1002/cam4.1670
- [72] Soh J, Lim ZX, Lim EH, et al. Ironing out exercise on immuno-oncological outcomes[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(9): e002976. doi:10.1136/jitc-2021-002976
- [73] Chen WH, Zuo F, Zhang KW, et al. Exosomal MIF derived from nasopharyngeal carcinoma promotes metastasis by repressing ferroptosis of macrophages[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 791187. doi: 10.3389/fcell.2021.791187
- [74] 边晓敏, 韩光红. 细胞外囊泡在头颈部肿瘤中的研究进展[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2020, 34(1): 99-104. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2019.370
 BIAN Xiaomin, HAN Guanghong. Recent advances regarding extracellular vesicles in head and neck cancers [J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2020, 34 (1): 99-104. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2019.370
- [75] Yu D, Li Y, Wang M, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy[J]. *Mol Cancer*. 2022, 21 (1): 56. doi: 10.1186/s12943-022-01509-9
- [76] Zhang L, Yu DH. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871 (2): 455-468. doi:10.1016/j.bbcan.2019.04.004
- [77] Pathania AS, Prathipati P, Challagundla KB. New insights into exosome mediated tumor-immune escape: clinical perspectives and therapeutic strategies [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2021, 1876 (2): 188624. doi:10.1016/j.bbcan.2021.188624
- [78] Kim SM, Yang Y, Oh SJ, et al. Cancer-derived exosomes as a delivery platform of CRISPR/Cas9 confer cancer cell tropism-dependent targeting [J]. *J Control Release*, 2017, 266: 8-16. doi:10.1016/j.jconrel.2017.09.013
- [79] Yong TY, Zhang XQ, Bie NN, et al. Tumor exosome-based nanoparticles are efficient drug carriers for chemotherapy[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3838. doi:10.1038/s41467-019-11718-4
- [80] 张旭平, 刘雪霞. 外泌体在变态反应性疾病中的研究进展[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2021, 35(2): 136-140. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.285
 ZHANG Xuping, LIU Xuexia. Current progress of exosome research in allergic diseases[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2021, 35(2): 136-140. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.285
- [81] Hu SC, Ma JH, Su C, et al. Engineered exosome-like nanovesicles suppress tumor growth by reprogramming tumor microenvironment and promoting tumor ferroptosis [J]. *Acta Biomater*, 2021, 135: 567-581. doi:10.1016/j.actbio.2021.09.003

(编辑:曾婕)