

综述

恶性肿瘤细胞来源的外泌体调控自然杀伤细胞活性的相关机制

鲁婷玮, 张建军, 陈万涛

上海交通大学医学院附属第九人民医院·口腔医学院口腔颌面-头颈肿瘤科, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 上海市口腔医学重点实验室, 上海市口腔医学研究所, 上海 200011

[摘要] 外泌体是一种细胞分泌的胞外小囊泡, 在细胞之间发挥着传递信息的作用, 通过物质的转运来调节各种细胞的生理和病理功能。有研究表明, 外泌体直接或通过中间细胞作用于恶性肿瘤细胞, 进而在恶性肿瘤的发生、发展中发挥着重要作用。近年来, 自然杀伤(natural killer, NK)细胞与肿瘤细胞源性外泌体(tumor-derived exosomes, TDEXs)的相互作用和调控机制成为研究热点。在肿瘤微环境中, TDEXs可以作用于NK细胞, 改变NK细胞与其他免疫细胞和免疫因子的相互作用, 最终导致NK细胞对恶性肿瘤细胞的免疫防御减弱和免疫耐受产生。该文综述了不同恶性肿瘤组织中TDEXs对NK细胞活性的影响和可能的机制。

[关键词] 恶性肿瘤; 肿瘤细胞源性外泌体; 自然杀伤细胞; 活性

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.05.017 **[中图分类号]** R392.1 **[文献标志码]** A

Mechanisms related to regulation of natural killer cell activity by exosomes derived from malignant tumor cells

LU Ting-wei, ZHANG Jian-jun, CHEN Wan-tao

Department of Oral and Maxillofacial-Head & Neck Oncology, Shanghai Ninth People's Hospital, College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; National Clinical Research Center for Oral Diseases; Shanghai Key Laboratory of Stomatology & Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China

[Abstract] Exosomes are a kind of extracellular vesicles that play the role of transmitting information among cells. Through transporting of substances to regulate the physiological and pathological functions of various cells, it can affect the progress of malignant tumors. Natural killer (NK) cell is an indispensable part of the human immune system, and is important in the development of cancers. In the tumor microenvironment, tumor-derived exosomes (TDEXs) can act on NK cells, adjusting their functions, and modifying the interaction between NK cells and other immune cells, resulting in the change of the immune response. In recent years, the research on the relationship between NK cells and tumor exosomes has become a hot topic. The effects of TDEXs from different cancers on the activities of NK cells are summarized in this paper.

[Key words] malignant tumor; tumor-derived exosome; natural killer cell; activity

1987年, Johnstone等^[1]将在体外培养的绵羊红细胞上清液中发现的一种有膜结构的小囊泡命名为外泌体(exosomes)。最初, 外泌体被认为是一种细胞的废弃物而被忽视。直到后来研究发现, B细胞分泌的外泌体中携带了主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)类分子, 激活T细胞并在机体的免疫应答中发挥重要的作用, 这才使外泌体进入了人们的视线。近年来, 随着精准医疗概念的提出, 外泌体与恶性肿瘤免疫成为了生命科学和医学领域研究的热点。

外泌体是一种直径在30~100 nm的纳米级脂质包裹体

结构, 表面具有特定的分子标志如CD9、CD63、CD81和ALIX等^[2]。早期外泌体的形成起源于膜的向内收缩, 形成初级内体; 在转运所需的内体分选复合体(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)等的协助下, 初级内体随后发生膜内陷形成多泡体; 在动力蛋白, 又称为分子马达(molecular motor)的驱动下, 多泡体沿着胞质内的微管或微丝高速移动, 高效、精确地将内容物定向运输到细胞膜结构处; 通过与细胞膜的融合将其中包含的囊泡——外泌体释放到胞外环境中^[3]。外泌体几乎存在于人体所有体液中, 包括

[基金项目] 国家自然科学基金(81874126, 81772933); 上海市科学技术委员会科研计划项目(18JC1413700); 上海交通大学医学院高水平地方高校创新团队(SSMU-ZLCX20180502)。

[作者简介] 鲁婷玮(1996—), 女, 硕士生; 电子信箱: 541197081@qq.com。

[通信作者] 陈万涛, 电子信箱: chenwantao196323@sjtu.edu.cn。

[Funding Information] National Natural Science Foundation of China (81874126, 81772933); Project of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (18JC1413700); Innovation Research Team of High-Level Local Universities in Shanghai (SSMU-ZLCX20180502)。

[Corresponding Author] CHEN Wan-tao, E-mail: chenwantao196323@sjtu.edu.cn。

[网络首发] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2045.R.20210429.1818.017.html> (2021-04-30 10:17:43)。

血液、脑脊液、尿液、唾液等,并可以通过自分泌或旁分泌的途径对细胞进行功能调控^[4]。其携带的生物活性分子如蛋白质、核酸(RNA、DNA、lncRNA和miRNA)及脂质等,可影响细胞的微环境,传递基因相关的信息,并促进恶性肿瘤的进展和侵袭^[5]。

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)在恶性肿瘤发生、发展中至关重要^[6],由基质细胞形成,包括血管、髓源性抑制细胞、抗原提呈细胞、淋巴细胞、嗜中性粒细胞、肿瘤相关巨噬细胞和成纤维细胞,以及细胞外基质、可溶性因子(如细胞因子和生长因子)等,并与恶性肿瘤的发生、生长、转移及耐药性等密切相关^[7]。TME中富含MHC I、II类分子,共刺激分子,生长因子受体和多种肿瘤相关抗原^[8]。大多数细胞都能够分泌外泌体,如免疫细胞、间充质干细胞、内皮细胞、神经细胞和恶性肿瘤细胞等^[9]。其中,肿瘤细胞源性外泌体(tumor-derived exosomes, TDEXs)可调节免疫细胞的表型和功能,在恶性肿瘤进展中发挥着重要的调控作用^[10-11]。

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是人体免疫系统固有免疫的重要组成部分,是淋巴细胞的一个主要亚群,能够分泌穿孔素、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)以及巨噬细胞炎症蛋白1(macrophage inflammatory protein-1, MIP-1)以提升免疫应答时的细胞毒性^[12]。NK细胞释放的穿孔素和颗粒酶通过Fas/FasL途径、TNF- α 途径和抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)等途径杀伤靶细胞^[13]。NK细胞不仅与抗恶性肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关,而且在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生,能识别靶细胞,还能活化和促进杀伤介质的杀伤作用。生理情况下, NK细胞功能的正常发挥受到激活信号和抑制信号的双重调控和制约;然而,一些肿瘤细胞可以通过不同的调控机制引起NK细胞功能发生变化,使其无法行使其正常的免疫监视功能,导致肿瘤细胞逃避免疫监视^[14]。

TDEXs可以被NK细胞主动吸收和内化,外泌体中携带的一些特异性物质则将活化或抑制信号传递至NK细胞,增强或减弱NK细胞的免疫活性。本文参考相关文献并结合本课题组的研究成果,总结TDEXs对NK细胞免疫活性的调节作用及其在恶性肿瘤免疫诊断与治疗方面的潜在应用价值。

1 TDEXs

除了外泌体的一般特征外, TDEXs还具有其来源宿主的部分特性,在恶性肿瘤的生长、转移,以及免疫防御和免疫耐受过程中发挥一定作用。不同恶性肿瘤来源的TDEXs中携带的物质、传递的信息也不尽相同。Sakaue等^[15]发现与其他癌症细胞分泌的外泌体相比,晚期胰腺癌细胞来源的外泌体中CD133呈特异性高表达,提示TDEXs中CD133是一种潜在的预测晚期胰腺癌进展和治疗效果的候选靶标。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝细胞癌患者的血清外泌体中miR-1290特异性升高,有望成为诊断HBV相关肝细胞癌的血清学候选标志物^[16]。此外,卵巢癌细胞外泌体中富含miR-222-3p,可促进巨噬细胞的极化,加速疾病进展^[17]。口腔鳞癌细胞外泌体中上调的miR-21与顺铂耐药密切相关,可作为预测顺铂治疗口腔鳞癌预后的候选标志物^[18]。

在机体应对恶性肿瘤细胞的免疫应答过程中, TDEXs是不可或缺的组成部分。一方面因为TDEXs含有恶性肿瘤细胞的特异性组分,可作为抗原成分引发抗肿瘤免疫;更重要的是, TDEXs含有多种免疫抑制分子,在恶性肿瘤免疫逃逸过程中发挥重要作用。TDEXs抑制T细胞的功能,癌细胞表面的程序性死亡配体1(programmed death ligand 1, PD-L1)与效应T细胞上的程序性死亡受体1(programmed death receptor 1, PD-1)相结合,抑制T细胞的活性,从而引发癌细胞免疫逃逸^[19]。TDEXs也会影响树突状细胞的免疫应答,如胰腺癌细胞来源的外泌体中miR-212-3p表达上调,抑制了调节因子X相关蛋白(regulatory factor X-associated protein, RFXAP)的表达,导致MHC II类分子表达减少,引起树突状细胞的免疫耐受^[20]。巨噬细胞根据其表型和功能,分为M1型和M2型,前者有助于恶性肿瘤的清除,而后者可促进恶性肿瘤的生长。乳腺癌外泌体中的棕榈酰化蛋白可与巨噬细胞表面Toll样受体2(Toll-like receptor 2, TLR2)结合,激活NF- κ B信号通路,引起巨噬细胞向M2型极化,促进恶性肿瘤的增殖和转移^[21]。

上述研究结果表明,不同恶性肿瘤来源的外泌体对NK细胞既有正向的激活作用,也有负向的抑制作用。进一步探讨发生这2种相反调节作用的可能机制,对临床上以肿瘤外泌体和NK细胞作为干预靶点的研究具有重要的意义。

2 TDEXs 对NK细胞的作用

2.1 TDEXs 降低NK细胞的杀伤活性

NK细胞活化型受体(natural killer group 2 member D, NKG2D)是固有免疫系统中一个重要的激活性受体,通过识别靶细胞表面的NKG2D配体(NKG2D ligand, NKG2DL)传递活化信号并激活免疫系统,从而对靶细胞发挥杀伤作用^[22]。NKG2D可以表达在所有的NK细胞表面,并可以识别应激诱导的配体家族成员,包括MHC-I类分子相关蛋白A(MHC class I molecular associated protein A, MICA)、MHC-I类分子相关蛋白B(MHC class I molecular associated protein B, MICB)和UL16结合蛋白1(UL16 binding protein 1, ULBP1-6)^[23]。NKG2D/NKG2DL为免疫细胞识别癌细胞提供了一个相对特异的系统。Gerra等^[24]的研究结果表明,在NKG2D介导的肿瘤识别中,恶性肿瘤免疫逃逸的一个重要机制是NKG2DL的丢失或表达减少。恶性肿瘤细胞分泌的外泌体可通过影响NKG2D/NKG2DL的表达,逃避免疫系统监视。

前列腺癌细胞来源的外泌体高表达NKG2DL,同时TDEXs可选择性地使NK细胞中NKG2D下调,从而促进免疫抑制和肿瘤逃逸^[20]。由头颈癌、上皮性卵巢癌和肺癌等癌细胞分泌的外泌体,也可通过这种机制逃避免疫细胞的免疫杀伤^[25-27]。还有研究^[28]表明,这些癌细胞分泌的外泌体中含有的MICA是NKG2D的一种抑制性配体,通过与NK细胞表面的NKG2D结合,下调NKG2D的表达,进而抑制NK细胞的杀伤活性;其中,MICA*008是TDEXs中占比最多的MICA的等位基因。Ashiru等^[29]通过对HeLa细胞系的研究,发现MICA*008不仅能引起NK细胞表面NKG2D的下调,还能引起NK细胞活性显著降低,而这一现象与靶细胞表达NKG2D配体无关。

除了通过分泌特异性NKG2DL下调NK细胞表面的NKG2D外,在数多的实体癌中都会产生缺氧的微环境。在缺氧条件下,癌细胞可分泌多种免疫抑制因子。转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)是最常见的因子之一,对NK细胞的生长、分化和免疫功能都有重要的调节作用。TGF- β 有3种亚型,即TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3^[30]。恶性肿瘤细胞分泌的TDEXs中多数含有富集的TGF- β 1,是介导NK细胞功能缺陷的重要活性物质^[31]。Sharma等^[32]对黑色素瘤的研究表明,TDEXs中富集的TGF- β 可以显著降低NK细胞中NKG2D的表达。急性髓性白血病来源的外泌体也可将TGF- β 1传

递至NK细胞,诱导NK细胞中SMAD蛋白磷酸化,降低NKG2D基因表达,从而抑制NK细胞的免疫功能^[33]。肾透明细胞癌来源的外泌体通过TGF- β /SMAD途径诱导NK细胞功能紊乱,逃避天然免疫监视^[34]。另外,缺氧性癌细胞来源的外泌体中miR-23a和miR-210高表达。Berchem等^[35]发现,miR-23a可通过靶向调控CD107a,影响NK细胞的免疫活性和功能。

除了上述作用机制外,Alipoor等^[27]对肺癌的研究表明,TDEXs还可以通过其他机制减弱NK细胞的免疫活性,包括抑制白介素2(interleukin-2, IL-2)诱导的信号通路^[36],抑制穿孔素或细胞周期素D3的产生和Jak3/Stat5的激活,从而导致NK介导的细胞免疫作用产生障碍^[37]。Liu等^[38]研究发现,小鼠乳腺肿瘤来源的外泌体通过选择性降低穿孔素的表达,而抑制NK细胞对靶细胞的溶解活性,还可通过阻断Jak3和Cyclin D3的表达,阻止NK细胞进入细胞周期。LncRNA *NKILA*在多种恶性肿瘤细胞中高表达,并与TME中炎症相关信号的激活有关;而TDEXs可将NKILA转运到TME中的NK细胞等免疫细胞中,竞争性抑制免疫细胞中NF- κ B信号通路的激活,进而抑制免疫杀伤相关分子的表达^[38]。

2.2 TDEXs 增强NK细胞的杀伤活性

部分恶性肿瘤来源的外泌体可以增强NK细胞的杀伤活性,热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)等在这个方面发挥了关键作用。HSP是一类当细胞处于应激状态时胞内异常表达增多的蛋白,其在结肠癌、卵巢癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中高表达,与肿瘤细胞的增殖和分化有关^[39]。其中,HSP70是HSPs家族中最重要且最保守的一族。正常情况下,HSP70在细胞内表达水平较低;而在各种有害应激状态下,HSP70的合成速度显著增加,一般在数分钟内即可达到最高水平。TDEXs中的HSP70可引发针对癌细胞本身的适应性免疫,诱导和增强NK细胞对癌细胞的杀伤作用。黑色素瘤来源的外泌体中HSP70水平升高,增强了NK细胞的细胞毒作用,结果抑制了癌细胞的生长^[40]。此外,HSP70还可通过与其他物质的相互作用,增强NK细胞的功能。作为HSP70的协同伴侣分子,B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)等相关致癌基因家族的成员能与HSP70相互作用;其中,BAG-4不仅在细胞质中与HSP70相互作用,其相互作用也可发生在细胞膜表面。Gastpar等^[41]发现,从胰腺癌和结肠癌中提取的HSP70/BAG-4阳性外泌体,可以选择性地激活NK细胞,并促进颗粒酶B的释放。NK细胞分泌的IFN- γ 具有抗病毒、免疫调节及抗恶性肿瘤的

特性; Vulpis 等^[42]研究发现, 多发性骨髓瘤来源的外泌体表面可高表达 HSP70, 触发 TLR2 后, 通过激活 TLR2 下游的 NF- κ B 信号通路, 刺激 NK 细胞大量产生 IFN- γ 。Han 等^[14]提出, 肝癌来源的 TDEXs 可促进 NK 细胞颗粒酶 B 的释放, 增强了 NK 细胞的细胞毒性。尽管 TDEXs 会造成 NK 细胞表面的活化受体 CD69、NKG2D 和 NKp44 下调, 抑制受体 CD94 上调, 但由于颗粒酶 B 的大量释放, NK 细胞的细胞毒性仍然得到了增强。

核小体组装蛋白 1 (nucleosome assembly protein 1, NAP1) 是一种 IKK 相关激酶的激活剂, NAK-NAP1 复合物可通过促进 NF- κ B 信号通路的激活来保护细胞免受 TNF- α 诱导的凋亡^[43]。NAP1 与 IKK ϵ 和 TBK1 形成复合物后激活干扰素调节因子-3 (interferon regulatory factor-3, IRF-3), 而 IRF-3 是参与免疫应答的关键转录因子。口腔癌细胞源性的外泌体富含 NAP1, 并可被 NK 细胞内化, 促进 NK 细胞中 IRF-3 的活化, 进而激活其下游分子 IFN- γ 、趋化因子和共刺激分子的表达, 诱导 NK 细胞的活化, 增加颗粒酶和穿孔素的释放, 显著提高 NK 细胞的杀伤活性^[44]。维甲酸诱导基因蛋白 I (retinoic acid induced gene protein I, RIG-I) 是一种识别病毒 RNA 的免疫受体, 在有核细胞, 包括恶性肿瘤细胞中表达^[45]; BAG6 是一种表达于细胞表面的配体, 可与 NK 细胞上活化的受体 NKp30 结合, 激活 NK 细胞功能^[46]; Daßler-Plenker 等^[47]研究表明, 在 RIG-I 的诱导下, 黑色素瘤细胞大量释放外泌体, 激活 NK 细胞功能, 并且发现外泌体表面 NKp30 配体 BAG6、AT3 表达增加, 通过激活 NK 细胞的受体 NKp30, 激发 NK 细胞的溶解作用。

2.3 TDEXs 对 NK 细胞的活性调控存在“双面性”

TDEXs 可通过下调 NK 细胞表面的 NKG2D 受体等途径, 抑制 NK 细胞的免疫应答能力, 有助于癌细胞逃避免疫监视, 进而有利于癌细胞的增殖、侵袭和转移。另一方面, TDEXs 可通过表达 HSP70 等分子, 增强 NK 细胞的免疫活性, 提高杀伤癌细胞能力。需要特别注意的是, TDEXs 对 NK 细胞的激活或抑制作用可能是同时存在的, 即 TDEXs 对 NK 细胞的调控具有“双面性”。

IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21 和 IFN 等细胞因子是 NK 细胞成熟、激活的关键因子^[48-49]。Li 等^[50]制备了转基因 K562 细胞 (GMK), 其分泌的外泌体中携带 IL-15、IL-18 和 4-1BBL。GMK 细胞被用来刺激体外人原代 NK 细胞的扩增。研究结果表明, GMK 来源的外泌体在短时间内的确可通过携带的细胞因子以及 4-1BBL 蛋白类似物, 促进 NK 细胞的活化与增殖, 增强其敏感性与抗

肿瘤效力; 然而, 48 h 后 GMK 对 NK 细胞活性的正向调节发生了反转, 此时, TDEXs 携带的物质引起了 NKG2D 的下调, 继而抑制了 NK 细胞的杀伤活性。NKG2D 是对 NK 细胞活性调节最重要的受体, 其表达受多种物质的影响^[51]; IL-2、IL-15 等细胞因子可通过增加 NKG2D 在 NK 细胞表面的表达, 而增强 NK 细胞的功能。然而, 其他分子则可通过各种机制下调 NKG2D 表达, 抵消先前细胞因子对 NKG2D 的上调作用, 并产生逆转, 致使 NKG2D 的表达显著减少, 进而对 NK 细胞的功能产生负向调节作用。

因此, TDEXs 对 NK 细胞的免疫应答存在双向调控作用, 促进与抑制作用同时存在。最终对 NK 细胞活性的调控作用, 则取决于 TDEXs 中发挥促进与抑制作用的物质。由此可见, TDEXs 对 NK 细胞活性的促进或抑制作用, 也是可以相互转化的, 使其功能转化的相关方法和机制还需深入研究。

3 TDEXs 对 NK 细胞活性的调控在恶性肿瘤治疗中的可能路径和潜力

外泌体具有独特的双层脂质结构, 是细胞间信息传递的重要载体^[52]。目前许多研究聚焦在利用外泌体协助恶性肿瘤的诊断和靶向治疗。外泌体广泛地存在于人的体液中, 标本易于获得, 且含有多种生物活性分子, 其表达情况能反映细胞的生理或病理状况, 可以作为一种潜在的诊断标准。针对明确的致癌分子或突变基因, 靶向治疗可以在细胞分子水平, 直接作用于癌细胞的特定靶点, 使癌靶向细胞特异性死亡, 而不会波及癌周围的正常组织细胞。这不仅能提高效率, 也使治疗的安全性得到提高。外泌体作为细胞间信息传递的工具, 在运输靶向治疗药物或分子方面能发挥独特的作用。

能够促使外泌体膜表面富集 HSP70 的药物, 可能会成为一种更有效的体外诱导抗恶性肿瘤的免疫途径。Xie 等^[53]通过基因编辑, 使癌细胞分泌的外泌体中带有高表达的 HSP70, 致使 NK 细胞的细胞毒性反应更明显, 从而产生更有效的抗癌免疫。Yang 等^[54]发现, 卡铂、盐酸伊立替康等抗恶性肿瘤药物, 能够诱导肿瘤产生较多携带 HSP70 的外泌体, 进而上调 NK 细胞活化受体 CD69、NKG2D 和 NKp44 的表达, 下调抑制受体 CD94 的表达, 增加颗粒酶 B 的产生和释放, 激活和增强 NK 细胞的细胞毒作用。IL-15、IL-18 等细胞因子在 NK 细胞活化过程中有着重要的作用, 不仅可以促进 NK 细胞增殖, 还可以诱导其活化、分泌 IFN- γ , 进而提高抗炎和抗癌能力。因

此,提高TME中相关细胞因子的表达水平,也是抗癌治疗的有效途径之一。Borrelli等^[55]发现,低剂量的化疗药物可通过诱导癌细胞凋亡,促使凋亡相关分泌因子的表达,促进IL-15诱导、激活NK细胞增殖的功能,加强NK细胞对癌细胞的免疫监测作用。

肿瘤来源的外泌体可被免疫细胞识别,并可直接或通过树突状细胞的抗原提呈,激活细胞的自身免疫监视作用。因此,外泌体除了用于药物输送外,还可能作为无细胞疫苗激活免疫细胞,增强机体对癌细胞免疫逃逸的干预效果。除了TDEXs携带的抗原外,还可以通过外泌体增加新的抗原参与免疫应答^[50]。Koyama等^[56]用编码致病菌抗原的质粒转染癌细胞,获得同时携带肿瘤相关抗原和致病菌抗原的外泌体,从而显著地激活了对癌细胞的免疫反应。

Xie等^[57]将外泌体在治疗肿瘤上的临床应用分为四大类:①通过直接抑制恶性肿瘤相关外泌体的合成和分泌发挥作用。②基于外泌体的免疫疫苗,是指从肿瘤中分离和自身免疫细胞产生的外泌体,修饰后再回输机体内激活免疫应答。③将外泌体作为靶向药物的载体。④基于外泌体的再生治疗。在各种抗癌药物的临床应用过程中,肿瘤耐药性是一大阻碍。尽管,靶向治疗为抗癌治疗提出了新的思路,但是调控肿瘤发生、发展的因素多而复杂,单一的靶向治疗药物很难达到理想的抗癌效果,且很容易发生药物的脱靶效应,这些也给恶性肿瘤的治疗带来巨大的挑战。如何通过外泌体提高TME中NK细胞的免疫监视和杀伤活性,进而提高机体对肿瘤

的免疫应答,最终应用于临床治疗,还需要进一步研究。

4 总结与展望

外泌体是由细胞分泌的囊泡状结构,可以通过分子物质的传递介导细胞间的信息交流。外泌体不仅能在恶性肿瘤的诊断中发挥作用,还因其较低的免疫原性及较高的稳定性,可作为靶向药物的载体参与临床治疗。目前,国内外已有相关药物进入临床试验^[58]。由于外泌体可以直接作用或通过中间细胞,如NK细胞和调节性T细胞(regulatory cells, Tregs)等,影响恶性肿瘤的发生、发展、转移和耐药性等恶性特征,对其确切作用和调控机制的阐明会对恶性肿瘤诊治新技术的发展产生重要影响。恶性肿瘤细胞分泌的外泌体在调控NK细胞的免疫活性方面起着举足轻重的作用。以TDEXs/NK作为治疗靶标,具备开发新的治疗策略和技术的潜能。TDEXs既可以提高NK细胞杀伤癌细胞的能力,同时也存在抑制NK细胞的杀伤活性、帮助癌细胞逃避免疫监视等不利于恶性肿瘤治疗的一面。TDEXs对NK细胞调控的这种“双面性”特征,无疑是临床转化和应用的一大障碍。这需要对TDEXs/NK进行更加深入的研究,最大限度地趋利避害。除了上述提到的一些可能作用机制和影响因素外,笔者认为TDEXs中带有特异性lncRNA和miRNA等分子,也会对NK细胞的功能产生正向或负向的调节作用,有关这方面的作用和机制也是值得进一步深入探索的领域。

参·考·文·献

- [1] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412-9420.
- [2] Melo SA, Luecke LB, Kahler C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, 523(7559): 177-182.
- [3] Niu Y, Zhang C, Sun Z, et al. PtdIns(4)P regulates retromer-motor interaction to facilitate dynein-cargo dissociation at the trans-Golgi network[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(4): 417-429.
- [4] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends[J]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4): 373-383.
- [5] Xiao C, Song F, Zheng YL, et al. Exosomes in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 894.
- [6] Schulz M, Salameiro-Boix A, Niesel K, et al. Microenvironmental regulation of tumor progression and therapeutic response in brain metastasis[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1713.
- [7] Liu YF, Gu Y, Cao XT. The exosomes in tumor immunity[J]. *Oncotarget*, 2015, 4(9): e1027472.
- [8] Banik D, Moufarrij S, Villagra A. Immunoepigenetics combination therapies: an overview of the role of HDACs in cancer immunotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2241.
- [9] Zorrilla SR, García AG, Carrión AB, et al. Exosomes in head and neck cancer. Updating and revisiting[J]. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2019, 34(1): 1641-1651.
- [10] Matsumoto A, Takahashi Y, Nishikawa M, et al. Accelerated growth of B16BL6 tumor in mice through efficient uptake of their own exosomes by B16BL6 cells[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(9): 1803-1810.
- [11] Ye LS, Zhang Q, Cheng YS, et al. Tumor-derived exosomal HMGB1 fosters hepatocellular carcinoma immune evasion by promoting TIM-1⁺ regulatory B cell expansion[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 1-15.
- [12] Yang C, Shen CY, Feng T, et al. Noncoding RNA in NK cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(1): 63-71.
- [13] 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.
- [14] Han QJ, Zhao HJ, Jiang Y, et al. HCC-derived exosomes: critical player and target for cancer immune escape[J]. *Cells*, 2019, 8(6): 558.
- [15] Sakaue T, Koga H, Iwamoto H, et al. Glycosylation of ascites-derived exosomal CD133: a potential prognostic biomarker in patients with advanced pancreatic cancer[J]. *Med Mol Morphol*, 2019, 52(4): 198-208.
- [16] 高斌,熊莹晖,黄泽炳,等. 乙肝相关性肝细胞癌患者血清外泌体 miR-1290 水平的变化及其诊断价值[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(1): 31-38.
- [17] Shi R, Wang PY, Li XY, et al. Exosomal levels of miRNA-21 from cerebrospinal fluids associated with poor prognosis and tumor recurrence of glioma patients[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 26971-26981.

- [18] Ying X, Wu QF, Wu XL, et al. Epithelial ovarian cancer-secreted exosomal miR-222-3p induces polarization of tumor-associated macrophages[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28): 43076-43087.
- [19] Chen G, Huang AC, Zhang W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 382-386.
- [20] Lundholm M, Schröder M, Nagaeva O, et al. Prostate tumor-derived exosomes down-regulate NKG2D expression on natural killer cells and CD8⁺ T cells: mechanism of immune evasion[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108925.
- [21] Chow A, Zhou WY, Liu L, et al. Macrophage immunomodulation by breast cancer-derived exosomes requires Toll-like receptor 2-mediated activation of NF- κ B[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5750.
- [22] Zhang T, Lemoi BA, Sentman CL. Chimeric NK-receptor-bearing T cells mediate antitumor immunotherapy[J]. *Blood*, 2005, 106(5): 1544-1551.
- [23] Schmiedel D, Tai J, Yamin R, et al. The RNA binding protein IMP3 facilitates tumor immune escape by downregulating the stress-induced ligands ULBP2 and MICB[J]. *Elife*, 2016, 16(5). DOI: 10.7554/eLife.13426.
- [24] Guerra N, Tan YX, Joncker NT, et al. NKG2D-deficient mice are defective in tumor surveillance in models of spontaneous malignancy[J]. *Immunity*, 2008, 28(4): 571-580.
- [25] 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.
- [26] Labani-Motlagh A, Israelsson P, Ottander U, et al. Differential expression of ligands for NKG2D and DNAM-1 receptors by epithelial ovarian cancer-derived exosomes and its influence on NK cell cytotoxicity[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(4): 5455-5466.
- [27] Alipoor SD, Mortaz E, Varahram M, et al. The potential biomarkers and immunological effects of tumor-derived exosomes in lung cancer[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 819.
- [28] Zhang Y, Lazaro AM, Lavingia B, et al. Typing for all known *MICA* alleles by group-specific PCR and SSOP[J]. *Hum Immunol*, 2001, 62(6): 620-631.
- [29] Ashiru O, Boutet P, Fernández-Messina L, et al. Natural killer cell cytotoxicity is suppressed by exposure to the human NKG2D ligand MICA*008 that is shed by tumor cells in exosomes[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 481-489.
- [30] Lafontaine L, Chaudhry P, Lafleur MJ, et al. Transforming growth factor β regulates proliferation and invasion of rat placental cell lines[J]. *Biol Reprod*, 2011, 84(3): 553-559.
- [31] Chandran PA, Keller A, Weinmann L, et al. The TGF- β -inducible miR-23a cluster attenuates IFN- γ levels and antigen-specific cytotoxicity in human CD8⁺ T cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 96(4): 633-645.
- [32] Sharma P, Ludwig S, Muller L, et al. Immunoaffinity-based isolation of melanoma cell-derived exosomes from plasma of patients with melanoma[J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1435138.
- [33] Szczepanski MJ, Szajnik M, Welsh A, et al. Blast-derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function *via* membrane-associated transforming growth factor- β 1[J]. *Haematologica*, 2011, 96(9): 1302-1309.
- [34] Yamada N, Tsujimura N, Kumazaki M, et al. Colorectal cancer cell-derived microvesicles containing microRNA-1246 promote angiogenesis by activating Smad 1/5/8 signaling elicited by PML down-regulation in endothelial cells[J]. *Biochim et Biophys Acta*, 2014, 1839(11): 1256-1272.
- [35] 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]. *Oncol Immunology*, 2016, 5(4): e1062968.
- [36] Filipazzi P, Bürdek M, Villa A, et al. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression[J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(4): 342-349.
- [37] Whiteside TL. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour-derived exosomes) [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 245-251.
- [38] Liu BD, Sun LJ, Liu Q, et al. A cytoplasmic NF- κ B interacting long noncoding RNA blocks I κ B phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(3): 370-381.
- [39] Chatterjee S, Burns TF. Targeting heat shock proteins in cancer: a promising therapeutic approach[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9): 1978.
- [40] Elsner L, Muppala V, Gehrmann M, et al. The heat shock protein HSP70 promotes mouse NK cell activity against tumors that express inducible NKG2D ligands[J]. *J Immunol*, 2007, 179(8): 5523-5533.
- [41] Gastpar R, Gehrmann M, Bausero MA, et al. Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(12): 5238-5247.
- [42] Vulpis E, Cecere F, Molfetta R, et al. Genotoxic stress modulates the release of exosomes from multiple myeloma cells capable of activating NK cell cytokine production: role of HSP70/TLR2/NF- κ B axis[J]. *Oncol Immunology*, 2017, 6(3): e1279372.
- [43] Fujita F, Taniguchi Y, Kato T, et al. Identification of NAP1, a regulatory subunit of I κ B kinase-related kinases that potentiates NF- κ B signaling[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7780-7793.
- [44] 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.
- [45] Kandasamy M, Suryawanshi A, Tundup S, et al. RIG-I signaling is critical for efficient polyfunctional T cell responses during influenza virus infection [J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(7): e1005754.
- [46] 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.
- [47] Daßler-Plenker J, Reiners KS, van den Boorn JG, et al. RIG-I activation induces the release of extracellular vesicles with antitumor activity[J]. *Oncol Immunology*, 2016, 5(10): e1219827.
- [48] Zwirner NW, Domaica CI. Cytokine regulation of natural killer cell effector functions[J]. *Biofactors*, 2010, 36(4): 274-288.
- [49] Imai C, Iwamoto S, Campana D. Genetic modification of primary natural killer cells overcomes inhibitory signals and induces specific killing of leukemic cells[J]. *Blood*, 2005, 106(1): 376-383.
- [50] Li Q, Huang QP, Huan 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.
- [51] van Audenaerde JRM, de Waele J, Marcq E, et al. Interleukin-15 stimulates natural killer cell-mediated killing of both human pancreatic cancer and stellate cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 56968-56979.
- [52] Ohno SI, Takanashi M, Sudo K, et al. Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(1): 185-191.
- [53] Xie YF, Bai O, Zhang HF, et al. Membrane-bound HSP70-engineered myeloma cell-derived exosomes stimulate more efficient CD8⁺ CTL- and NK-mediated antitumour immunity than exosomes released from heat-shocked tumour cells expressing cytoplasmic HSP70[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(11): 2655-2666.
- [54] Yang NB, Li SS, Li GX, et al. The role of extracellular vesicles in mediating progression, metastasis and potential treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2): 3683-3695.
- [55] Borrelli C, Ricci B, Vulpis E, et al. Drug-induced senescent multiple myeloma cells elicit NK cell proliferation by direct or exosome-mediated IL15 trans-presentation[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(7): 860-869.
- [56] Koyama Y, Ito T, Hasegawa A, et al. Exosomes derived from tumor cells genetically modified to express *Mycobacterium tuberculosis* antigen: a novel vaccine for cancer therapy[J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(11): 1857-1866.
- [57] Xie CQ, Ji N, Tang ZG, et al. The role of extracellular vesicles from different origin in the microenvironment of head and neck cancers[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 1-15.
- [58] Ma T, Chen YQ, Chen YH, et al. MicroRNA-132, delivered by mesenchymal stem cell-derived exosomes, promote angiogenesis in myocardial infarction[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 3290372.

[收稿日期] 2020-07-04

[本文编辑] 吴 洋

