

外泌体 PD-L1 在肿瘤免疫逃逸中的作用及应用研究进展

王 一, 龚虹云, 何海花, 宋启斌

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘要: 肿瘤细胞表面的 PD-L1 主要通过与其在 T 细胞上表达的受体 PD-1 结合来抑制 T 细胞的抗肿瘤活性, 在肿瘤免疫逃逸中起着关键作用。PD-1/PD-L1 抑制剂已成为抗肿瘤治疗的一大突破性进展, 然而, 免疫疗法的有效率仍然有限。因此仍需进一步探索 PD-L1 介导的免疫逃逸机制。PD-L1 除了表达于肿瘤细胞表面外, 还可存在于肿瘤细胞分泌的外泌体表面 (exosomal PD-L1, ExoPD-L1), 其与肿瘤细胞表面的 PD-L1 具有相同的膜拓扑结构, 在抗肿瘤免疫应答中发挥着重要的调节作用。全文综述 ExoPD-L1 对局部和系统免疫反应的影响及促肿瘤生长等方面的研究成果, 并讨论 ExoPD-L1 作为诊断和免疫治疗疗效、预后等预测因子的潜在意义, 以及在临床上应用特异性外泌体合成抑制剂联合免疫治疗的新型治疗策略。

关键词: 外泌体 PD-L1; 肿瘤免疫逃逸; 免疫治疗

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)03-0178-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.03.B004

Research Progress on the Role of Exosomal PD-L1 in Immune Evasion of Cancer Cells and Its Application

WANG Yi, GONG Hong-yun, HE Hai-hua, SONG Qi-bin

(Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: PD-L1 on the surface of tumor cells inhibits anti-cancer activity of T cell through binding its receptor PD-1 expressed on T cells, which plays a key role in cancer immune evasion. PD-1/PD-L1 inhibitors have become a major breakthrough in anti-tumor therapy. However, its efficacy is still limited for some tumors. Therefore, it is still necessary to further explore the mechanism of PD-L1-mediated immune escape. PD-L1 is also expressed on the surface of exosomes secreted by tumor cells (exosomal PD-L1, ExoPD-L1), which has the similar topology of extracellular domain as its counterpart on cell surface and plays an important role in anti-tumor immune evasion. In this article, we review the latest findings of the effects of ExoPD-L1 on local and systemic immune response, and its roles in promoting tumor growth, we also discuss the potential application of ExoPD-L1 in cancer diagnosis, evaluation of immunotherapy efficacy and prognosis, as well as a new therapeutic strategy of tumors that combines the inhibition of exosomal biogenesis and PD-L1 blockade.

Subject words: exosomal PD-L1; tumor immune escape; immunotherapy

程序性死亡配体-1 (programmed death-1 ligand 1, PD-L1) 是一种 I 型跨膜蛋白, 广泛表达于各种类型的细胞, 是一种负性共刺激分子。PD-L1 与在 T 细胞上表达的程序性死亡受体-1 (programmed death-1 receptor, PD-1) 相互作用可以抑制 T 细胞增殖、分化^[1], 在一定程度上抑制机体的细胞免疫反应, 避免免疫反应的过度激活。而肿瘤细胞高度表达 PD-L1, 它与 PD-1 结合后导致 T 细胞功能减弱甚至凋亡, 导致免

疫逃逸^[2]。免疫检查点抑制剂 (immuno-checkpoint inhibitors, ICIs) 可以通过阻断 PD-1/PD-L1 的结合, 使 T 细胞恢复活力, 在多种恶性肿瘤中发挥抗肿瘤作用。ICIs 因其疗效持久且极大地改善肿瘤患者的总生存时间, 成为了抗肿瘤治疗的一大突破性进展。肿瘤细胞表面 PD-L1 的表达水平被认为是当前预测免疫检查点 PD-1/PD-L1 抑制剂疗效的最佳指标; 然而, PD-L1 阴性的患者也可以从免疫治疗中受益。此外, 免疫治疗的有效率仍然有限 (10%~30%)^[3], 在前列腺癌等癌种中更是收效甚微^[4-5]。因此, 肿瘤细

通信作者: 宋启斌, E-mail: qibinsong@whu.edu.cn

收稿日期: 2021-08-01; 修回日期: 2021-12-09

胞表面 PD-L1 的表达水平不足以解释肿瘤免疫逃逸的机制或准确地预测免疫治疗的疗效。为了提高对肿瘤免疫逃逸的认知并开发更加便捷的新型免疫治疗标志物,肿瘤细胞分泌的表面携带 PD-L1 的外泌体已成为近年来研究的热点。

PD-L1 除了表达在肿瘤细胞表面,也存在细胞外间质形式,如外泌体(exosomes,EXOs)。外泌体是组织细胞分泌的直径 40~160 nm 纳米级脂质双膜层结构的细胞外囊泡,它的形成始于细胞膜的内吞作用,内吞后形成早期内体(early-sorting endosome,ESE),ESE 成熟形成晚期分选内体(late-sorting endosomes,LSEs),LSEs 内陷形成含有腔内囊泡(intraluminal vesicles,ILVs)的细胞内多囊泡体(multivesicular bodies,MVBs),MVBs 与细胞膜融合通过胞吐作用释放外泌体^[6]。外泌体是介导细胞间通讯的信号载体,可携带许多生物活性物质(如核酸、脂质和蛋白质等^[7])由细胞分泌到胞外,通过多种机制进入靶细胞内产生生物效应,改变受体细胞的生理病理状态。已有大量文献报道,肿瘤细胞可以分泌表面携带 PD-L1 的外泌体(exosomal PD-L1,ExoPD-L1)(Figure 1),近期研究发现其在免疫抑制和肿瘤进展中起着关键作用。本文综述 ExoPD-L1 对局部和系统免疫反应的影响以及肿瘤生长等方面的最新研究成果,并讨论 ExoPD-L1 作为诊断和疗效预测因子的潜在意义以及在临床上应用特异性外泌体合

成抑制剂作为新型抗肿瘤治疗策略的应用前景。

1 外泌体 PD-L1 的免疫抑制作用

1.1 外泌体 PD-L1 直接与 T 细胞表面的 PD-1 结合

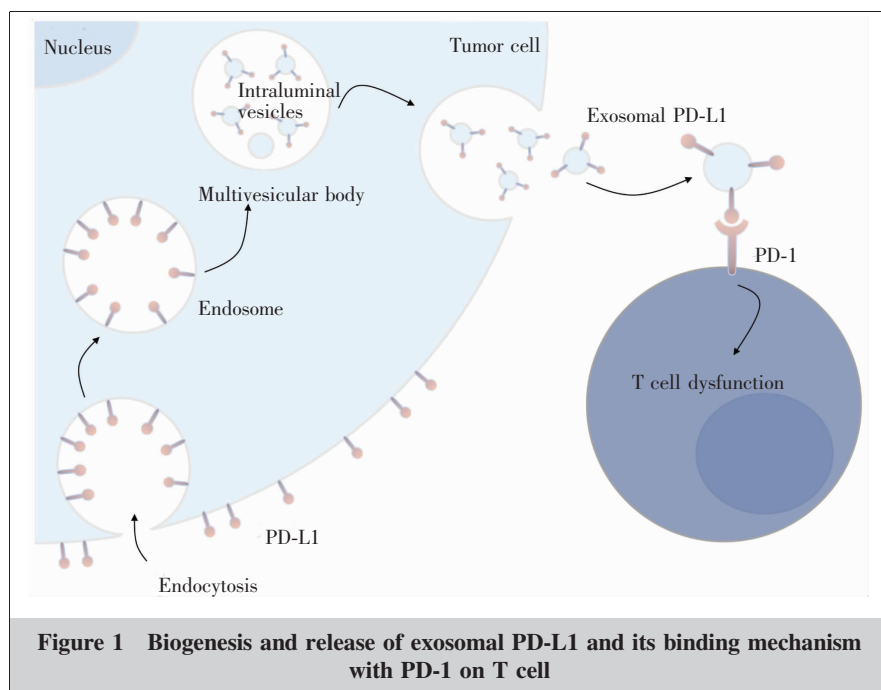
Chen 等^[8]的研究发现,恶性黑色素瘤来源的 ExoPD-L1 与肿瘤细胞表面的 PD-L1 具有相同的膜拓扑结构,并且 ExoPD-L1 能够以浓度依赖的方式与 PD-1 结合,当 CD8⁺T 细胞上的 PD-1 或 ExoPD-L1 的水平上调时,外泌体与 CD8⁺T 细胞的结合增加,这种相互作用可以被 PD-L1 抗体所阻断。Ricklefs 等^[9]在对胶质母细胞瘤来源的外泌体进行分析后也得出了相似的结论。此外,在小鼠胶质母细胞瘤组织中,ExoPD-L1 与肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes,TILs)的体内共定位被可视化。在人体和小鼠乳腺癌细胞中,流式细胞仪分析结果也表明 ExoPD-L1 能够与 PD-1 结合^[10]。Yang 等^[10]的研究发现,肿瘤来源的外泌体可以将 PD-L1 从 PD-L1 阳性的肿瘤细胞转运到 PD-L1 阴性的肿瘤细胞。在与乳腺癌细胞来源的 ExoPD-L1 共同培养 24 h 后,在 PD-L1 基因敲除或低 PD-L1 表达的乳腺癌细胞中能够检测到高水平的 PD-L1。在注射 ExoPD-L1 5 d 后,在小鼠瘤体中可以检测到 ExoPD-L1 向 PD-L1 阴性肿瘤细胞和免疫细胞的迁移。更重要的是,

沉积在 PD-L1 阴性肿瘤细胞表面的 ExoPD-L1 也能够与 PD-1 结合。

既往研究表明 ExoPD-L1 可以与 T 细胞上的 PD-1 结合(Figure 1),这是膜结合型 PD-L1 与其受体 PD-1 相互作用的另一种途径;而且,ExoPD-L1 可以迁移至 PD-L1 阴性的肿瘤细胞表面,并保留其与 PD-1 结合的功能。

1.2 外泌体 PD-L1 体外免疫抑制作用

研究发现肿瘤细胞分泌的 ExoPD-L1 可以通过与 T 细胞表面 PD-1 相互作用而有效地诱导其功能障碍。Yang 等^[10]发现,T 细胞中的激活信号通路因暴露



于来自乳腺癌细胞的 ExoPD-L1 而受到剂量依赖的抑制。恶性黑色素瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌和前列腺癌的 ExoPD-L1 会导致 CD8⁺T 细胞产生的 IFN- γ 、IL-2 和 TNF- α 减少^[8, 10-13]。采用抗 PD-1 抗体或敲除 PD-L1 预处理减弱 ExoPD-L1 介导的 T 细胞激活的抑制^[8-11, 14-15]。人胶质母细胞瘤培养物中的外泌体可以阻止 CD8⁺和 CD4⁺T 细胞的增殖^[9]。非小细胞肺癌和头颈部鳞癌细胞的 ExoPD-L1 能够诱导 CD8⁺T 细胞凋亡,使 CD8⁺T 细胞的数量以剂量依赖的方式减少^[11, 14]。肿瘤来源的外泌体(如恶性黑色素瘤和乳腺癌)预处理可抑制细胞毒性 T 细胞介导的肿瘤杀伤,这种作用可被抗 PD-L1 抗体所抵消^[8, 10-11]。因此,肿瘤细胞分泌的 ExoPD-L1 在体外能够通过影响 T 细胞的增殖、存活及其效应功能来介导免疫抑制。

1.3 外泌体 PD-L1 在小鼠肿瘤模型中免疫抑制作用

在注射含有 PD-L1 的外泌体后,非小细胞肺癌及恶性黑色素瘤小鼠模型肿瘤区域的 CD8⁺TIL 数量显著性减少^[8]。此外,ExoPD-L1 被证实能够降低肿瘤微环境中的细胞毒性 T 细胞活性^[10],表明 ExoPD-L1 在诱导肿瘤微环境中的免疫逃逸中起着关键作用。

Poggio 等^[12]在正常分泌 ExoPD-L1 的野生型前列腺癌小鼠模型中观察到,引流淋巴结中 T 细胞数量减少,并且其效应功能也受到抑制,通过基因敲除阻断外泌体的生物发生或 PD-L1 表达后,通过促进 T 细胞的激活、增殖并恢复其杀伤能力来逆转这一免疫抑制现象。向基因敲除的突变型小鼠注射外源性 ExoPD-L1 后,这种效应再次被逆转,免疫功能再次受到抑制,小鼠的脾脏大小减少近 50%。Chen 等^[8]在恶性黑色素瘤小鼠模型中也观察到 ExoPD-L1 能够使脾脏和淋巴结中 Ki67⁺PD-1⁺CD8⁺T 细胞比例降低,这一现象可被抗 PD-L1 抗体所抵消,说明肿瘤细胞分泌的 ExoPD-L1 能够进入引流淋巴结及血液循环,介导淋巴结及脾脏中的 T 细胞抑制。

ExoPD-L1 能够以免疫依赖的方式促进不同肿瘤类型的肿瘤生长。研究表明,PD-L1 基因敲除会导致小鼠体内肿瘤消退,甚至无法生长,包括乳腺癌、前列腺癌、结直肠癌、恶性黑色素瘤和非小细胞肺癌,然而,这种情况可以通过局部或静脉注射肿瘤细胞的外源性 ExoPD-L1 逆转,表明 ExoPD-L1 可以促进小鼠体内的肿瘤生长^[8, 10-12]。体外研究表明,外泌体生物发生的关键基因(*Rab27a* 或 *nSMase2*)缺失

并不能改变前列腺癌、结直肠癌或乳腺癌的细胞增殖,表明阻断外泌体生物发生本身并不会导致肿瘤生长的抑制^[10, 12]。然而,*Rab27a* 或 *nSMase2* 缺失显著性抑制小鼠的肿瘤生长,说明 ExoPD-L1 促进肿瘤生长依赖于抑制抗肿瘤免疫反应。以上研究表明,ExoPD-L1 在小鼠模型中可以介导免疫逃逸,包括在局部肿瘤免疫微环境以及引流淋巴结和脾脏中的系统免疫抑制,还能以免疫依赖的方式促进不同肿瘤类型的肿瘤生长。

1.4 外泌体 PD-L1 在肿瘤患者中的免疫抑制作用

Theodoraki 等^[14]已观察到循环 ExoPD-L1 水平与头颈部鳞癌患者抑制 CD8⁺T 细胞活化的能力呈正相关。在胃癌患者中,血浆 ExoPD-L1 水平与 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞水平以及 T 细胞的细胞毒作用呈负相关^[15]。研究表明,ExoPD-L1 通过诱导 T 细胞功能障碍而导致免疫抑制,表明 ExoPD-L1 可能促进肿瘤患者的疾病进展。总的来说,肿瘤 ExoPD-L1 在介导肿瘤患者的局部和全身免疫抑制中起着关键作用。

2 循环外泌体 PD-L1 潜在临床意义

肿瘤免疫疗法需要生物标志物来进行潜在获益人群筛选,预测疗效、疾病进展及预后。肿瘤细胞 PD-L1 水平被认为是临床免疫治疗疗效的预测因子^[16-17]。然而,使用细胞 PD-L1 不可避免地存在一些缺陷,如有创检查、PD-L1 检测技术的不同(抗体、检测平台、阳性阈值设置的不同)、肿瘤内 PD-L1 表达的异质性、患者肿瘤来源(如细胞学标本、归档标本、新鲜标本、原发部位和转移部位)、无法进行动态观察以及灵敏度有限等^[18-23]。循环 ExoPD-L1 因其具有取材方便、微创、低成本、低风险,并能实时监测肿瘤动态等优势,有成为新型生物标志物的巨大潜在价值^[13, 24-26]。

2.1 循环外泌体 PD-L1 检测方法

由于外泌体体积较小且具有异质性,循环 ExoPD-L1 的检测仍缺乏公认有效的方法,最广泛使用的传统方法为流式分析法和酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)。然而,基于 ELISA 等传统的 ExoPD-L1 检测法费时费力,而且不能将 ExoPD-L1 低表达的患者(<200 pg/mL)与健康

康人区分开来^[8],效率低和灵敏度低是临床上经典的 ExoPD-L1 检测的两个瓶颈^[27-28]。随着对外泌体研究的进一步深入,一些新的循环 ExoPD-L1 检测方法正在逐步发展。Huang 等^[25]开发了一种新的 ExoPD-L1 定量方法(HOLMES-ExoPD-L1),该方法设计了一种可高效结合 PD-L1 的新型适配体 MJ5C,受抗原糖基化的干扰较小,具有快速的结合动力学。与现有的基于 ELISA 方法相比,HOLMES-ExoPD-L1 更加高效、灵敏、易于操作,检测限度为 17.6 pg/mL,且所需样本量少、检测时间短。此外,有研究报道一种基于 Fe₃O₄@TiO₂ 分离和表面增强拉曼散射(surface-enhanced raman scattering, SERS)免疫检测相结合的方法^[26],此法在 5 分钟内对外泌体的捕获效率为 96.5%,可以在 40 分钟内实现 1 个 PD-L1+外泌体/μL 的检测极限,且仅需使用 4 μL 血清样品即可精确定量 ExoPD-L1,实现了快速、准确地直接从临床样本中检测 ExoPD-L1。Wang 等^[29]也提出了一种利用金-银(Au@Ag)核-壳纳米双锥体和金纳米棒的纳米等离子体外泌体免疫测定法,与目标外泌体形成夹心免疫复合物,能够快速、高灵敏度地准确识别 PD-L1+外泌体亚型。随着技术的进步,未来必将有更多高效、可靠的方法用于循环 ExoPD-L1 检测。

2.2 外泌体 PD-L1 作为肿瘤诊断、预后的生物标志物

与健康人相比,乳腺癌患者血液中外泌体的数量和蛋白质含量更高,且外泌体数量的增加与肿瘤生长呈正相关^[30]。在转移性恶性黑色素瘤患者中,循环外泌体的数量或外泌体上的总蛋白水平与健康受试者虽然没有或仅有微小差异,但循环 ExoPD-L1 水平显著性升高($P<0.001$)。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线显示,在所有被测试的参数中,循环 ExoPD-L1 水平诊断恶性黑色素瘤的 ROC 曲线下面积为 0.9132,当截断值为 0.297 ng/mL 时,诊断的灵敏度、特异度分别为 86.36%和 90.91%^[8]。此外,在最近的几项研究中发现,非小细胞肺癌患者的循环 ExoPD-L1 水平也较健康对照组高^[24-26,31];用不同的方法检测循环 ExoPD-L1 水平并分析其诊断非小细胞肺癌的 ROC 曲线下面积分别为 0.999、0.970^[25-26]。因此,循环 ExoPD-L1 可能是一个潜在的肿瘤诊断标志物。

循环 ExoPD-L1 的高分泌水平与恶性黑色素瘤、头颈部鳞癌的不良预后相关,循环 ExoPD-L1 可

能是肿瘤预后不良的潜在生物标志物^[13,25]。一项关于胰腺癌患者的研究显示,ExoPD-L1 阴性的胰腺癌患者术后中位生存期明显长于 ExoPD-L1 阳性患者(17.2 个月 vs 7.8 个月, $P=0.043$)^[32]。此外, Fan 等^[15]发现,在胃癌患者中血浆中循环 ExoPD-L1 较高组患者总生存期明显短于低 ExoPD-L1 组 ($P=0.004$),且血浆中 ExoPD-L1 水平是胃癌患者不良预后的独立危险因素($P=0.026$)。在一项纳入了 44 例不同类型晚期肿瘤患者(包括肺癌、食管癌、结直肠癌、肝癌和鼻咽癌等)的研究中^[33],对免疫治疗无应答的患者治疗前 ExoPD-L1 显著性高于应答组($P=0.010$)。在非小细胞肺癌患者($n=25$)中,治疗前 ExoPD-L1 水平较低者中位无进展生存期更长(2 个月 vs 8 个月, $P=0.010$)。治疗有效后,ExoPD-L1 水平和肿瘤负荷均下降($P<0.005$)。ExoPD-L1 水平还与头颈部鳞癌和非小细胞肺癌患者的疾病状态相关,包括肿瘤大小、淋巴结转移和远处转移^[31,34]。除 PD-L1 本身外,PD-L1 DNA 也被发现存在于胶质母细胞瘤患者的循环外泌体中,尽管其功能尚不清楚,但其数量与肿瘤体积相关^[9,35]。总之,血液 ExoPD-L1 蛋白和 DNA 都可能成为肿瘤诊断和疾病预后的新型生物标志物。

2.3 外泌体 PD-L1 作为抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效的生物标志物

研究表明,与治疗有效者相比,对抗 PD-1 治疗疗效较差的恶性黑色素瘤患者在治疗前循环 ExoPD-L1 水平更高。恶性黑色素瘤患者在早期治疗期间循环 ExoPD-L1 的增加幅度可以区分治疗有效和无效^[8]。另一项关于恶性黑色素瘤的前瞻性研究也发现,治疗前后 ExoPD-L1 的变化水平与疗效相关,监测循环 ExoPD-L1 的水平可能有助于预测治疗效果和临床结局^[13]。此外, Theodoraki 等^[14,36]对 18 例头颈部鳞癌患者免疫治疗前后的肿瘤细胞来源的 ExoPD-L1(CD3⁻ExoPD-L1)及 T 细胞来源的 ExoPD-L1(CD3⁺ExoPD-L1)进行了连续监测,结果表明,与复发患者相比,2 年内未复发的患者在治疗前有更高的基线肿瘤细胞来源 ExoPD-L1 水平,并在治疗 5 周后显著性下降。相反,在复发患者中,在治疗的第 5 周肿瘤细胞来源的 ExoPD-L1 水平升高,而 T 细胞来源的 ExoPD-L1 水平降低^[36]。还有研究发现,ExoPD-L1 mRNA 也存在于恶性黑色素瘤和非小细胞肺癌患者

循环外泌体中,并与抗 PD-1 治疗的疗效相关^[37-38]。综上所述,ExoPD-L1,包括 PD-L1 蛋白、DNA 和 mRNA,都有可能成为肿瘤诊断、预后和免疫治疗疗效预测的可靠的生物标志物,可以识别可能受益于免疫治疗的患者并动态监测治疗反应,这是对肿瘤组织 PD-L1 的有效补充。

3 以外泌体 PD-L1 为靶点抗肿瘤治疗的潜在策略

大量研究均证实,无论是在体内还是体外,ExoPD-L1 均具有免疫抑制作用,并以免疫依赖的方式不同程度地促进肿瘤生长,影响免疫治疗疗效。阻断外泌体的生物发生有望成为克服免疫逃逸的新型治疗手段。

3.1 阻断外泌体生物发生是克服免疫逃逸的有效途径

外泌体分泌遵循保守且相对固定的途径,目前参与调控 ExoPD-L1 分泌的元件主要有内吞体分选转运复合体(endosomal sorting complex required for transport complex,ESCRT)的肝细胞生长因子调节酪氨酸激酶底物(hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate,Hrs)和凋亡连接蛋白 X (apoptosis-linked gene 2-interacting protein X, Alix)^[39-43],负责内体膜内陷的中性鞘磷脂酶 nS-Mase2 和负责胞内囊泡运输的小分子 GTP 结合蛋白 Rab27a^[44]。Hrs 是 ESCRT-0 的一个亚基,敲除 Hrs 后,ExoPD-L1 水平降低,但是对细胞表面 PD-L1 水平和肿瘤生长的影响尚不清楚^[8]。Alix 基因被敲除导致 PD-L1 在细胞表面和外泌体之间重新分布,ExoPD-L1 分泌减少,而细胞表面 PD-L1 增加,但 Alix 基因敲除在乳腺癌中会促进肿瘤生长^[42]。nS-Mase2 的缺失降低了细胞 PD-L1 和 ExoPD-L1 水平。与 nS-Mase2 缺失相比,Rab27a 缺失对外泌体分泌的抑制作用更大,而 nS-Mase2 缺失对 PD-L1+外泌体合成的抑制作用比 Rab27a 缺失更大,阻断 Rab27a 或 nS-Mase2 均可抑制肿瘤生长^[42]。Rab27a 缺失和 nS-Mase2 抑制剂(GW4869)都能显著性抑制小鼠乳腺癌耐药模型中肿瘤的生长^[45],并且抑制作用优于抗 PD-L1 抗体^[10]。此外,阻断 Rab27a 或 nS-Mase2 可显著性增强抗 PD-L1 抗体抑制乳腺癌生长的治疗

效果^[10]。在抗 PD-L1 治疗后达到部分缓解的小鼠结肠癌模型中,Rab27a 基因敲除能进一步抑制肿瘤生长并延长生存期^[12,46]。因此,联合抑制外泌体生物发生和抗 PD-L1 抗体可能更有效地抑制肿瘤生长,成为一种具有潜在应用前景的新型治疗策略。

3.2 阻断 ExoPD-L1 的远隔效应和免疫记忆

在小鼠前列腺癌模型中,缺乏 Rab27a、nS-Mase2 或 PD-L1 的突变癌细胞完全无法生长^[8,10,12]。Poggio 等^[12]将上述突变细胞注射到小鼠体内时,不仅注射局部肿瘤组织无法生长,还能阻断同时或 92 d 后从远处注射的野生型肿瘤细胞生长。此外,与单纯注射野生型癌细胞相比,联合注射 ExoPD-L1 缺失突变细胞的小鼠肿瘤组织中 TILs 的数量和活性显著性增加,说明 ExoPD-L1 基因阻断能够诱导持久的全身性免疫反应。

但是,开发 ExoPD-L1 抑制剂用于抗肿瘤治疗也应该谨慎进行,因为外泌体在人体很多生理活动中起到了重要作用,干扰其分泌可能会有潜在的不良影响^[47]。此外,与免疫检查点抑制剂类似,ExoPD-L1 阻断介导的 T 细胞活化的恢复是非特异性的,也可能导致免疫相关的不良反应。总体而言,需要开发高度选择性靶向癌细胞的外泌体抑制剂,最大限度地激活抗肿瘤免疫反应,并将阻断 ExoPD-L1 释放可能产生的副作用降至最低^[48-49]。

肿瘤来源的 ExoPD-L1 可以通过结合 T 细胞上的 PD-1 而局部或系统地抑制抗肿瘤免疫,从而促进免疫逃逸和肿瘤进展。此外,循环 ExoPD-L1 有望成为一种新型液体活检生物标志物,用于诊断、预后、免疫治疗潜在获益人群筛选,并实时监测临床疗效。此外,靶向抑制 PD-L1+外泌体生物发生联合免疫治疗是一种具有潜在应用前景的新型抗肿瘤治疗策略。

参考文献:

- [1] Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2[J]. J Exp Med, 2012, 209(6): 1201-1217.
- [2] Hui E, Cheung J, Zhu J, et al. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition [J]. Science, 2017, 355(6332): 1428-1433.

- [3] Page DB, Postow MA, Callahan MK, et al. Immune modulation in cancer with antibodies[J]. *Annu Rev Med*, 2014, 65: 185–202.
- [4] Goswami S, Aparicio A, Subudhi SK. Immune checkpoint therapies in prostate cancer[J]. *Cancer J*, 2016, 22(2): 117–120.
- [5] Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, et al. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 707–723.
- [6] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [7] Yáñez-Mó M, Siljander PRM, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions[J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4(2015): 1–60.
- [8] 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.
- [9] Ricklefs FL, Alayo Q, Krenzlin H, et al. Immune evasion mediated by PD-L1 on glioblastoma-derived extracellular vesicles[J]. *Sci Adv*, 2018, 4(3): 1–14.
- [10] Yang Y, Li CW, Chan LC, et al. Exosomal PD-L1 harbors active defense function to suppress T cell killing of breast cancer cells and promote tumor growth[J]. *Cell Res*, 2018, 28(8): 862–864.
- [11] Kim DH, Kim HR, Choi YJ, et al. Exosomal PD-L1 promotes tumor growth through immune escape in non-small cell lung cancer[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(8): 1–13.
- [12] Poggio M, Hu T, Pai CC, et al. Suppression of exosomal PD-L1 induces systemic anti-tumor immunity and memory[J]. *Cell*, 2019, 177(2): 414–427, e13.
- [13] Cordonnier M, Nardin C, Chanteloup G, et al. Tracking the evolution of circulating exosomal-PD-L1 to monitor melanoma patients[J]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9(1): 1–11.
- [14] Theodoraki MN, Hoffmann TK, Whiteside TL. Separation of plasma-derived exosomes into CD3(+) and CD3(–) fractions allows for association of immune cell and tumour cell markers with disease activity in HNSCC patients[J]. *Clin Exp Immunol*, 2018, 192(3): 271–283.
- [15] Fan Y, Che X, Qu J, et al. Exosomal PD-L1 retains immunosuppressive activity and is associated with gastric cancer prognosis[J]. *Ann Surg Oncol*, 2019, 26(11): 3745–3755.
- [16] Aguiar PN, De Mello RA, Hall P, et al. PD-L1 expression as a predictive biomarker in advanced non-small-cell lung cancer: updated survival data[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(6): 499–506.
- [17] Li H, Xu Y, Wan B, et al. The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression assessed by immunohistochemistry in lung cancer: a meta-analysis of 50 studies with 11383 patients[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2019, 8(4): 429–449.
- [18] Bassanelli M, Sioletic S, Martini M, et al. Heterogeneity of PD-L1 expression and relationship with biology of NSCLC[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(7): 3789–3796.
- [19] Kaunitz GJ, Cottrell TR, Lilo M, et al. Melanoma subtypes demonstrate distinct PD-L1 expression profiles[J]. *Lab Invest*, 2017, 97(9): 1063–1071.
- [20] Teixidó C, Vilarinho N, Reyes R, et al. PD-L1 expression testing in non-small cell lung cancer[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2018, 10: 1758835918763493.
- [21] Davis AA, Patel VG. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker: an analysis of all US food and drug administration(FDA) approvals of immune checkpoint inhibitors[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 1–8.
- [22] Stovgaard ES, Dyhl-Polk A, Roslind A, et al. PD-L1 expression in breast cancer: expression in subtypes and prognostic significance: a systematic review[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 174(3): 571–584.
- [23] Xu G, Sun L, Li Y, et al. The clinicopathological and prognostic value of PD-L1 expression in cholangiocarcinoma: a meta-analysis[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 897.
- [24] Liu C, Zeng X, An Z, et al. Sensitive detection of exosomal proteins via a compact surface plasmon resonance biosensor for cancer diagnosis[J]. *ACS sensors*, 2018, 3(8): 1471–1479.
- [25] Huang M, Yang J, Wang T, et al. Homogeneous, low-volume, efficient, and sensitive quantitation of circulating exosomal PD-L1 for cancer diagnosis and immunotherapy response prediction[J]. *Angew Chemie-Int Ed*, 2020, 59(12): 4800–4805.
- [26] Pang Y, Shi J, Yang X, et al. Personalized detection of circling exosomal PD-L1 based on Fe₃O₄@TiO₂ isolation and SERS immunoassay[J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 148: 111800.
- [27] Yang F, Liao X, Tian Y, et al. Exosome separation using microfluidic systems: size-based, immunoaffinity-based and dynamic methodologies[J]. *Biotechnol J*, 2017, 12(4): 1600699.
- [28] Liu F, Vermesh O, Mani V, et al. The exosome total isolation chip[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 10712–10723.
- [29] Wang C, Huang CH, Gao Z, et al. Nanoplasmonic sandwich immunoassay for tumor-derived exosome detection and exosomal PD-L1 profiling [J]. *ACS Sens*, 2021, 6(9): 3308–3319.
- [30] Hesari AR, Golrokh Moghadam SA, Siasi AS, et al. Tumor-derived exosomes: potential biomarker or therapeutic tar-

- get in breast cancer? [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119 (6): 4236–4240.
- [31] Li C, Li C, Zhi C, et al. Clinical significance of PD-L1 expression in serum-derived exosomes in NSCLC patients[J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 1–10.
- [32] Lux A, Kahlert C, Grützmann R, et al. c-Met and PD-L1 on circulating exosomes as diagnostic and prognostic markers for pancreatic cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (13): 1–12.
- [33] Zhang C, Fan Y, Che X, et al. Anti-PD-1 therapy response predicted by the combination of exosomal PD-L1 and CD28[J]. *Front Oncol*, 2020, 10(60): 1–16.
- [34] 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.
- [35] Lázaro-Ibáñez E, Lässer C, Shelke GV, et al. DNA analysis of low- and high-density fractions defines heterogeneous subpopulations of small extracellular vesicles based on their DNA cargo and topology[J]. *J Extracell Vesicles*, 2019, 8(1): 1656993.
- [36] Theodoraki MN, Yerneni S, Gooding WE, et al. Circulating exosomes measure responses to therapy in head and neck cancer patients treated with cetuximab, ipilimumab, and IMRT[J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7): 1–9.
- [37] Zhao Z, Fan J, Hsu Y-MS, et al. Extracellular vesicles as cancer liquid biopsies: from discovery, validation, to clinical application[J]. *Lab Chip*, 2019, 19(7): 1114–1140.
- [38] Del Re M, Marconcini R, Pasquini G, et al. PD-L1 mRNA expression in plasma-derived exosomes is associated with response to anti-PD-1 antibodies in melanoma and NSCLC [J]. *Br J Cancer*, 2018, 118(6): 820–824.
- [39] Matusek T, Wendler F, Polès S, et al. The ESCRT machinery regulates the secretion and long-range activity of Hedgehog[J]. *Nature*, 2014, 516(729): 99–103.
- [40] Schmidt O, Teis D. The ESCRT machinery[J]. *Curr Biol*, 2012, 22(4): R116–R120.
- [41] Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, et al. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 677–685.
- [42] Monypenny J, Milewicz H, Flores-Borja F, et al. ALIX regulates tumor-mediated immunosuppression by controlling EGFR activity and PD-L1 presentation[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(3): 630–641.
- [43] Szymanska E, Budick-Harmelin N, Miaczynska M. Endosomal “sort” of signaling control: the role of ESCRT machinery in regulation of receptor-mediated signaling pathways[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 74: 11–20.
- [44] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(2): 193–208.
- [45] Lasso P, Llano Murcia M, Sandoval TA, et al. Breast tumor cells highly resistant to drugs are controlled only by the immune response induced in an immunocompetent mouse model[J]. *Integr Cancer Ther*, 2019, 18(43): 1534735419848047.
- [46] Deng L, Liang H, Burnette B, et al. Irradiation and anti-PD-L1 treatment synergistically promote antitumor immunity in mice[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(2): 687–695.
- [47] Dinkins MB, Dasgupta S, Wang G, et al. Plaque load in the 5XFAD mouse model of Alzheimer’s disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(8): 1792–1800.
- [48] Nagai H, Muto M. Optimal management of immune-related adverse events resulting from treatment with immune checkpoint inhibitors: a review and update[J]. *Int J Clin Oncol*, 2018, 23(3): 410–420.
- [49] Weinmann SC, Pisetsky DS. Mechanisms of immune-related adverse events during the treatment of cancer with immune checkpoint inhibitors[J]. *Rheumatology*, 2019, 58: vii59–vii67.