

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.08.002

· 指南 · 共识 ·

“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”临床应用专家共识

中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗专业委员会, 中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会

[摘要] 随着精准医疗的快速发展,细胞外囊泡在肿瘤等疾病的诊断和转化应用中展现出巨大潜力。“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”是中国原创的新型肿瘤免疫治疗技术,其以肿瘤细胞来源的微囊泡作为载体,包裹或负载临床常用小分子化疗药物,通过药物靶向递送、趋化和激活中性粒细胞、逆转巨噬细胞极化表型及促进肿瘤抗原提呈等多重作用机制实现对肿瘤细胞的有效杀伤。历经十余年的抗肿瘤机制探究、临床前评估及临床试验,该技术已成功完成临床转化,获批临床应用。为进一步推动“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”在临床的规范和科学应用,中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗专业委员会和中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会联合组织细胞外囊泡及肿瘤免疫治疗领域的技术和临床专家,经过多次商讨与修订,最终撰写了《“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”临床应用专家共识》。本共识就“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”在肿瘤治疗领域的研究和应用进行了介绍,并对该技术面临的挑战及未来发展方向进行了展望,旨在为其临床合理使用提供建议及参考。

[关键词] 细胞外囊泡;肿瘤细胞来源的载药囊泡;肿瘤免疫治疗;恶性胸腹水;专家共识

[中图分类号] R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)08-0752-07

Expert consensus on clinical application of Drug-Loaded Microparticles Immunotherapy

Committee for Tumor Immunology & Biotherapy of Chinese Society for Immunology, the Society of Cancer Biotherapy of China Anti-Cancer Association

[Abstract] With the rapid development of precision medicine, extracellular vesicles (EVs) have shown tremendous potential in the diagnosis and therapeutic applications of diseases such as tumors. Drug-Loaded Microparticles Immunotherapy is an innovative cancer immunotherapy technology originating in China. It utilizes tumor-derived microparticles as carriers, encapsulating or loading commonly used clinical small molecule chemotherapeutic drugs. This approach achieves effective tumor destruction through mechanisms such as targeted drug delivery, activation of neutrophils, reversal of macrophages polarization, and enhancement of tumor antigen presentation. Over more than a decade of research into anti-tumor mechanisms, preclinical assessments, and clinical trials, this technology has successfully transitioned to clinical application and received clinical approval. To further advance the standardized and scientific application of Drug-Loaded Microparticles Immunotherapy, Committee for Tumor Immunology & Biotherapy of Chinese Society for Immunology and the Society of Cancer Biotherapy of China Anti-Cancer Association jointly organized technical and clinical experts in the fields of extracellular vesicles and tumor immunotherapy. After multiple rounds of discussions and revisions, they collaboratively drafted the “Expert Consensus on Clinical Application of Drug-Loaded Microparticles Immunotherapy”. This consensus introduces the research and practical application of the therapy in cancer treatment, addresses existing challenges, and outlines future development directions. Its primary goal is to offer guidance and insights for the optimal clinical use of this innovative therapeutic approach.

[Key words] extracellular vesicle (EV); tumor cell-derived drug-loaded microparticle; tumor immunotherapy; malignant pleural and abdominal effusion; expert consensus

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(8): 752-758. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.08.002]

细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)是一群由细胞释放到细胞外的异质性小泡。它们通常是由磷脂双分子层包裹的密封的球形或椭圆形结构,含有其来源细胞产生的多种生物活性物质,如蛋白质、核酸、脂类分子及各类代谢物等。在正常生理条件下和病理过程中,细胞都会释放EV,是细胞间信息传递的重要信号分子,其可以反映不同生理病理条件下的机体代谢状态和亲代细胞的功能,广泛参与机体

的炎症调节、细胞再生修复、心血管疾病、肿瘤细胞

[基金项目] 国家重点研发计划(No. 2022YFA1206000);国家重点研发计划“政府间国际科技创新合作”项目(No. 2022YFE0141000)

[执笔人] 刘艳粉 郑州大学第一附属医院生物免疫治疗病区
秦国慧 郑州大学第一附属医院生物免疫治疗病区
王丹 郑州大学第一附属医院生物免疫治疗病区

[通信作者] 黄波, E-mail: tjhuangbo@hotmail.com
张毅, E-mail: yizhang@zzu.edu.cn

增殖与转移等生物学过程^[1-6]。EV可以通过多种方式向受体细胞传递信息,如通过细胞的直接膜融合、内吞作用、吞噬作用和受体-配体相互作用等^[7]。受体细胞对EV负载的分子和基因表达作出反应,随之发生功能改变。EV可作为一种天然的治疗成分或药物载体,应用于癌症、神经退行性疾病和再生医学等各种难治性疾病的治疗^[8]。随着对EV研究的进一步深入,其在肿瘤诊断、药物载体及生物治疗等方向的研究和应用已逐步发展起来,具有广泛的临床转化前景。采用肿瘤细胞来源的微囊泡荷载化疗药物,创建出一种新型的集生物化疗和免疫治疗为一体的肿瘤治疗技术。该技术经过十余年的基础研究、技术攻关和临床转化,于2023年9月底,以医疗技术的形式入选国家卫生健康委、国家中医药局与国家疾控局联合印发的《全国医疗服务项目技术规范(2023年版)》,名称为“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”,代码KZX3M201。为确保该技术临床应用更加规范,保障临床使用安全,进一步提高临床治疗效果,中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗专业委员会和中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会联合组织EV及肿瘤免疫治疗领域的技术和临床专家,撰写了本共识,旨在推动技术相关标准与规范的建立,引导技术良性转化,进而促进国内EV研究和转化领域健康、快速发展。

1 EV的定义和分类

根据粒径大小和生物发生途径,EV主要分为三种类型,即外泌体(exosome, Exo)、微颗粒或微囊泡(microparticle or microvesicle, MP or MV)和凋亡小体(apoptotic body)^[9]。Exo是相对较小的细胞外囊泡,直径约30~150 nm^[10-11],它们通过内吞途径形成,细胞膜内陷形成早期内体,随后逐渐成熟融合形成晚期内体,进一步内体膜多处内陷出芽形成含有腔内小泡(intraluminal vesicle, ILV)的多泡体(multivesicular body, MVB)^[12-13]。MP是细胞在活化或凋亡过程中,由细胞膜包裹细胞内容物以“出芽”方式释放到细胞外的囊泡状结构,其直径在100~1 000 nm之间^[14-15]。凋亡小体是EV中最大的一类,粒径为1~5 μm ^[16-17],它们是细胞程序性死亡过程中,细胞膜鼓泡突起而形成的一种泡状结构。不同细胞外囊泡因其来源和内容物的不同,其发挥的生物学功能也不尽相同。

2 EV的分离纯化和鉴定

目前报道比较多的EV提取/纯化方法有:差速超速离心法、密度梯度超速离心法、尺寸排阻层析、超滤法、沉淀法、磁珠免疫分离法、微流控技术等。超

速离心法被认为是EV分离的金标准方法,是利用不同的离心力根据颗粒成分的密度、大小和形状沉淀颗粒成分的过程。随着离心力逐渐增加,在2 000~3 000 $\times g$ 的低离心力下去除死细胞和细胞碎片;在5 000~10 000 $\times g$ 下获得凋亡小体;在10 000~20 000 $\times g$ 下获得MP;最后,在100 000~200 000 $\times g$ 的超高速离心力下沉淀Exo^[18-21]。没有单一的提取方法适合所有EV的研究目的,因此更推荐采用组合法提取/纯化EV。也建议通过EV-TRACK系统提供各实验室EV的分离纯化具体参数和特征,以方便不同实验室结果的比较和促进EV研究的标准化^[22]。目前的分离纯化方法还主要停留在基础研究和临床检测诊断的层面,而EV要实现临床应用转化则必须从细胞培养、EV提取和EV纯化等生产工艺方面进行思考和研究,其全流程的质控和鉴定方法是关键性的考量指标。根据国际细胞外囊泡学会(international society for extracellular vesicle, ISEV)的指导建议,EV特征鉴定需要至少通过透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)分析形态、纳米颗粒示踪分析仪(NTA)测粒径分布和粒子浓度、蛋白免疫印迹实验鉴定表面标志蛋白这三项来验证^[23]。

3 肿瘤细胞来源载药囊泡抗肿瘤机制研究

EV携带的亲本有效成分和其载体递送的特性因具有良好的生物相容性和安全性被用于开发各种新型抗肿瘤疗法,主要研究方向集中在药物递送系统和抗肿瘤免疫疗法的开发。EV作为内源性细胞产生的天然载体,具有良好的生物相容性,低免疫原性,长效循环性及特定靶向性等特点,且可负载药物类型多样化,包括核酸药物(如miRNA、siRNA等)^[24-25]、蛋白质药物(如各类酶等)^[26]、小分子药物[如甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)、多柔比星、紫杉醇、二甲双胍等]等^[27-29]。各类肿瘤细胞和免疫细胞来源的EV则通过增强肿瘤相关免疫细胞的抗肿瘤活性,诱导特异性抗肿瘤免疫应答等路径达到肿瘤治疗的目的。EV相关抗肿瘤疗法已成为癌症治疗领域的一个新方向。

“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”(下简称载药囊泡技术)采用直径100~1 000 nm的肿瘤细胞来源的微颗粒(tumor-derived microparticle, TMP)作为载体,包裹或负载临床常用小分子化疗药物如MTX、多柔比星等,通过药物靶向递送、趋化和激活中性粒细胞、逆转巨噬细胞表型及促进抗原提呈等多重作用机制实现对肿瘤细胞的杀伤。载药囊泡技术集生物化疗和免疫治疗为一体,从肿瘤杀伤和免疫激活双重维度多靶点发挥抗肿瘤作用^[30]。

3.1 载药囊泡靶向杀伤肿瘤干细胞并逆转其耐药性

通过软三维纤维蛋白凝胶培养系统可以筛选和培养出肿瘤再生细胞(tumor-repopulating cell, TRC), 这是一类与肿瘤干细胞样细胞(cancer stem cell-like cell, CSC)具有类似的生物学特性的肿瘤细胞亚群, 表现为高度耐药和强致瘤性^[31]。研究^[32]证实, TRC相较于分化的肿瘤细胞更为柔软、更易变形, 可以更有效地摄取载药囊泡, 其摄取量为分化肿瘤细胞的2~3倍。被摄取的载药囊泡进入TRC的溶酶体引发pH值升高, 碱性化的溶酶体再通过募集马达蛋白dynein驱动溶酶体沿微管向细胞核移动, 进而将药物分子递送至细胞核内诱导TRC的死亡。此外, 该研究还证明了载药囊泡通过降低P-糖蛋白(p-glycoprotein, P-gp)的表达, 抑制药物外排, 逆转TRC的耐药性。

3.2 载药囊泡招募中性粒细胞杀伤肿瘤

中性粒细胞是人体内最丰富的白细胞类型, 约占白细胞的40%~70%, 是机体抵抗病原体入侵的第一道防线。研究^[33]发现, 肿瘤细胞来源的载药囊泡是一种高效安全的动员中性粒细胞杀伤肿瘤细胞的天然免疫激活策略。在恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)中, 甲氨蝶呤囊泡(methotrexate-microparticle, MTX-MP)可以通过诱导巨噬细胞释放CXCL1和CXCL2来介导中性粒细胞的趋化。中性粒细胞被MTX-MP激活并释放活性氧(ROS)和中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET), 高效杀伤胸膜腔内的肿瘤细胞。NET是由中性粒细胞释放的DNA和组蛋白形成的黏性网状结构, 除了能直接杀伤肿瘤细胞外, 还能贴附于受损毛细血管壁, 封闭受损的血管内皮, 促进血管内皮修复, 有效降低血管渗漏, 促进胸腔积液消退。另有报道^[34], 通过经皮肝穿刺胆道引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)灌注MTX-MP可以趋化中性粒细胞并诱导其释放水解酶, 从而快速破坏梗阻部位胆管癌的基质屏障, 进而暴露出更多的胆管癌细胞, 有利于MTX-MP发挥杀伤作用。综上, 装载了化疗药物的TMP可作为一种有效的免疫治疗方法, 通过动员和激活中性粒细胞来调控肿瘤微环境, 抑制肿瘤生长。

3.3 载药囊泡诱导M2型肿瘤相关巨噬细胞向M1型极化

研究发现, 载药囊泡能将MPE中促肿瘤的M2型肿瘤相关巨噬细胞(TAM)逆转为抗肿瘤M1型, 促进其分泌IL-1、IL-6、IL-8、IL-12和TNF- α 等促炎细胞因子, 并合成高水平的诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)。机制上, 载药囊泡被巨噬细胞摄取后进入溶酶体, 激活溶酶体内P450单加

氧酶系统, 产生大量超氧阴离子, 后者进一步激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶2(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2, NOX2), 诱导ROS的产生, 导致溶酶体pH升高。升高的pH触发溶酶体内Ca²⁺释放, 促进转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)入核, 上调M1型相关炎症基因的表达, 实现向抗肿瘤M1型极化^[35]。

3.4 载药囊泡活化DC的抗原提呈功能

载药肿瘤囊泡除触发抗肿瘤天然免疫之外, 其含有的肿瘤抗原谱以及共刺激信号, 还赋予它们成为肿瘤疫苗的潜力。TMP能够被DC高效摄取, 诱导DC产生I型干扰素, 促进DC活化及成熟^[36]。进一步研究其机制发现, DC将TMP内吞到溶酶体中, 促进了MHC I类分子-肿瘤抗原肽复合物的形成, 同时促进CD80和CD86基因表达^[37]。在巨噬细胞极化的研究^[35]中还发现, 载药囊泡通过溶酶体将药物分子递送至细胞核内以激活核DNA感受器hnRNPA2B1, 从而激发巨噬细胞生成IFN- β 。作为T细胞招募和激活的重要调控因子, IFN- β 可诱导强烈的CD8⁺T细胞应答, 也随之上调CD8⁺T细胞PD-1的表达, 采用载药囊泡与PD-1抗体联合治疗后, 小鼠癌性腹水得到更显著的抑制。由此可见, TMP通过其携带的肿瘤抗原和一系列激活信号有效诱导DC的活化成熟, 促进更高效的T细胞依赖的抗肿瘤免疫应答, 且与PD-1单抗等免疫检查点抑制剂的联合可能成为肿瘤免疫治疗的更优的组合方案。

4 “载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”在恶性肿瘤中的临床应用

4.1 临床研究及临床转化进展

4.1.1 恶性胸腹水的治疗

恶性胸腹水是指原发或转移的恶性肿瘤累及胸、腹膜所引起的积液, 一旦出现表明肿瘤播散或已进展至晚期, 通常预后不良。患者从发生胸腹水开始计算, 生存时间往往不足12个月, 生存时间主要与原发性肿瘤类型和分期相关^[38-40]。恶性胸腹水不仅会促进肿瘤的快速进展, 而且中、大量的胸腹水往往对脏器产生压迫, 导致其功能受损, 还可引起电解质紊乱、低蛋白血症和继发感染等。目前, 临床上对于恶性胸腹水的常规治疗主要是利尿、穿刺抽液或置管引流以及胸腔腔灌注化疗药物等。可用于胸腔腔内灌注的药物种类较多, 常用的为化疗药物, 如顺铂、卡铂、博来霉素等; 生物制剂, 如IL-2、TNF- α 等, 以及血管生成靶向药贝伐珠单抗和重组人血管内皮抑制素等。但这些药物的疗效和安全性均不尽如人意。因此, 寻找高效、安全、特异性高的药物和治疗策略, 使患者获得较高的生存受益具有

科学意义及重要的实用价值。

基于载药囊泡在抗肿瘤及免疫调控方面的作用机制,其作为一种新型抗肿瘤免疫治疗手段具有极大的临床转化价值。通过对载药囊泡的生产、质控及动物安全性研究的深度开发,载药囊泡已逐步完成临床转化研究,并证实其在恶性胸腹水的治疗上安全有效,特别是针对复发难治性恶性胸腹水,其临床表现突出。

GUO等^[41]采用自体TMP包裹MTX(TMP-MTX)用于人体胸腔灌注治疗,以评估晚期肺癌合并恶性胸腔积液的有效性和安全性。研究发现,采用TMP-MTX治疗的11例患者中,4例完全缓解(CR),6例部分缓解(PR),1例无缓解,临床客观有效率为90.91%(10/11)。该研究中的中位总生存期为240 d,统计时生存期最长的为463 d,11例患者中有9例(81.81%)在死亡前不需要进一步治疗性引流。TMP-MTX不仅能有效杀伤肿瘤细胞,抑制恶性胸腔积液的生成,且临床安全性良好,仅产生1/2级不良反应。在另一项多中心、随机双盲、安慰剂对照的临床研究^[42]中,来源于肺癌细胞A549的TMP-MTX与PP方案(培美曲塞联合顺铂)联用,用于治疗非鳞非小细胞肺癌(NSCLC)恶性胸腔积液。该研究对79例患者进行了疗效评估,TMP-MTX组MPE的ORR明显高于对照组(82.50% vs 58.97%, $P=0.0237$)。中位随访时间为18.8个月,两组的中位OS分别为19.9个月[95% CI(17.1,28.5)]和17.5个月[95% CI(11.6,25.0)]。比较半年生存率(TMP-MTX组100.00% vs 对照组91.89%)和一年生存率(TMP-MTX组76.92% vs 对照组62.16%),囊泡组均高于安慰剂组,但差异无统计学意义。两组患者的不良反应发生率相似。最常见的治疗相关不良反应是化疗引起的毒性反应,包括发热、胃肠道反应、肝功能损伤和白细胞减少。可以得出结论,胸膜腔内灌注TMP-MTX联合培美曲塞+顺铂化疗治疗晚期非鳞NSCLC患者的MPE是安全有效的。虽然在OS上两组并未做出统计学差异,但TMP-MTX治疗组仍然表现出较好的延长OS的趋势,需要更大规模的临床样本来评估载药囊泡对MPE患者生存期的影响。在恶性腹水的治疗上,载药囊泡(包括MTX囊泡和多柔比星囊泡)也表现出很好的治疗效果。在临床已开展胃癌、结直肠癌、胰腺癌及卵巢癌等恶性腹水的治疗中,腹水的客观缓解率(ORR)约为51.4%,腹水的疾病控制率DCR约为80%,为晚期恶性腹水患者提供了有效且安全的治疗方案。

4.1.2 恶性胆道梗阻的治疗

由于缺乏有效治疗手段,恶性胆道梗阻的治疗

一直是临床上的难点。由中国医学科学院基础医学研究所与天津市南开医院合作的载药囊泡经PTCD引流管灌注治疗IV型肝门部胆管癌临床研究(ChiCTR-OIB-15007589)结果^[34]显示:经载药囊泡治疗的20例受试者中,约有30%的患者影像学显示梗阻部分缓解,约有50%患者首次疗程治疗后排便颜色发生改变,证实有部分胆汁流入肠道。患者整体1年生存率约为25%,随访患者中生存期最长的为21个月。治疗期间或治疗后多数患者肝门部胆管癌引起的黄疸、感染等临床症状得到有效缓解,大部分患者饮食状况、生活质量都有所提高。该项技术在打通肿瘤梗阻缓解患者临床症状的同时,有效激活了肿瘤部位的抗肿瘤免疫反应,为这一棘手的临床问题提供了一种新的治疗手段。

基于良好的安全性和临床试验治疗效果,“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”先后通过了天津、深圳、安徽、湖南、山东、河北、湖北、河南等省市地区卫健委的专家评审和医疗价格管理部门的物价审批,并在以上地区的医疗单位逐步开展该技术的临床应用。2023年9月,“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”被纳入《全国医疗服务项目技术规范(2023年版)》,为这一技术的全国推广和普及提供了指导规范。

该项技术已在华中科技大学同济医学院附属协和医院、中国医学科学院肿瘤医院、湖北省肿瘤医院、郑州大学第一附属医院、山东大学齐鲁医院、河南省肿瘤医院、安徽医科大学附属第二医院、安徽省胸科医院和天津市南开医院等全国30余家三甲医院开展了临床研究及临床应用。截至目前,该技术治疗恶性胸腹水的临床研究和临床应用合计病例数超过800例,ORR为80.8%,且临床使用安全、不良反应发生率低。该治疗技术对其他临床治疗方案失败的难治性恶性胸腹水仍具有显著的治疗效果,大大提高了晚期癌症患者的生存质量。

4.2 适应证和禁忌证

适应证:用于恶性肿瘤胸腹水及恶性胆道梗阻的灌注治疗。

禁忌证:孕妇或哺乳期妇女;严重过敏体质者。

相对禁忌证(以下情况应用需经临床专业评估):近期内有活动性出血史者;严重凝血功能异常患者;严重感染未控制或高热患者;严重自身免疫性疾病患者;18岁以下患者;正在使用免疫抑制药物,或器官移植后长期使用免疫抑制剂的患者;严重的肝肾功能障碍及心血管功能严重疾病者;严重贫血、白细胞和血小板严重偏低者(III度及以上);浆膜腔局部粘连包裹严重者;精神障碍者或不能充分合作者。

4.3 建议的使用疗程和剂量

4.3.1 恶性胸腹水的治疗

单独使用载药囊泡治疗恶性胸腹水,建议2.5~5个单位/d,连续3~5 d为一疗程。联合其他治疗方法,建议2.5~5个单位/d,连续2~3 d,主要发挥重塑胸腹腔免疫微环境的作用。根据患者病情严重程度,酌情给予1~2个疗程的治疗。每袋载药囊泡液体积为25 mL,含2.5个单位载药囊泡。

4.3.2 恶性胆道梗阻的治疗

建议每天治疗一次,连续治疗4 d为1个疗程,每个疗程间隔期为2~4周。2个疗程治疗后进行影像学评估。囊泡包装规格为10 mL,含2.5个单位载药囊泡。

4.4 临床治疗的操作流程

4.4.1 恶性胸腹水灌注治疗

(1)引流胸/腹水:采用胸腔穿刺(置管)术等引流,为取得较好的治疗效果,每次灌注治疗前应尽量抽尽,医师需根据患者耐受情况斟酌单次引水量和引水速度,建议每日引流量不高于1 000 mL。

(2)胸/腹腔灌注:灌注前采用生理盐水5~10 mL冲管,取1支50 mL注射器抽取恢复至室温的囊泡液25或50 mL,经留置导管口缓慢向胸/腹腔内灌注,腹腔灌注可适当提高使用剂量和溶液体积(一般建议灌注500~1 000 mL),之后用5~10 mL生理盐水冲管,然后对留置导管进行封管。

(3)观察,监测生命体征及患者情况。嘱咐患者2 h内每15~20 min翻身、变换体位,使囊泡均匀分布于浆膜腔。

4.4.2 恶性胆道梗阻的灌注治疗

通过注射泵,通过PTCD/经内镜鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)向胆管内缓慢推加载药囊泡液,速度1 mL/min。根据腔体大小输注合适体积,使腔体内充满载药囊泡液,夹闭4~6 h后打开引流管。闭管期间嘱患者坐位或斜靠位,尽量避免平躺,监测生命体征及患者情况。

4.5 可预见的不良反应及应对措施

常见不良反应为发热、寒战,发生率15%~20%,常在用药24 h内出现。主要表现为畏冷、寒战,继之发热,体温37.3~39.5 °C。如患者体温超过38.5 °C,可给予物理降温及解热镇痛药对症处理,一般可缓解。其他不良反应,如多汗、疲乏、灌注部位周围疼痛、胃肠道反应、皮肤变态反应等,较少见且症状轻微;另外,实验室检查少数患者可见I/II级骨髓抑制,如白细胞降低、血小板降低等,临床采用对症处理即可。

4.6 载药囊泡液的保存和运输

符合医用标准的载药囊泡制品应在2~15 °C无菌

保存,保存效期为5 d。按照临床诊疗计划安排有资质的冷链运输公司提供运输服务运送至医院,实施全程温度监测,确保运输安全。

5 “载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”临床应用展望

综上,采用载药囊泡灌注治疗恶性胸腹水的疗效确切,不良反应少、患者耐受性好,同时能改善患者的生活质量。该技术的优势在于对晚期其他临床治疗方案失败的难治性恶性胸腹水仍具有较好的治疗效果,得到临床专家的广泛认可。本共识汇总了载药囊泡治疗恶性肿瘤,调控肿瘤免疫微环境的作用机制,并为“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”治疗恶性胸腹水的使用方法、剂量、疗程以及相关不良反应的防治提供了依据。随着更多的循证医学证据和真实世界实践经验的不断积累,载药囊泡用于恶性胸腹水的最佳剂量、最佳的联合方案和用药时间等,会更加规范化和科学化。

作为一项引领性的细胞外囊泡转化项目,“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”未来还有很多细致化的临床问题需要进一步研究和解决。(1)生产和质控管理应随着国际研究进展进行更新和优化,以保障临床使用安全,提升治疗效果。(2)患者的精准分层,在临床研究和真实世界实践中通过对癌种、癌症分期、病理诊断、基因突变和免疫指标等相关信息进行比对分析,研究剂量及治疗疗程的优化,筛选鉴定更有可能从载药囊泡治疗中获益的关键患者亚群,进一步扩大适用范围。(3)载药囊泡与其他治疗方法的联合应用,例如与放疗、化疗、靶向治疗及免疫治疗等联合,以期为患者提供更有效的治疗方案。载药囊泡具有理想的肿瘤治疗型疫苗效果,其可显著增强抗PD-1抗体治疗癌症的有效性,诱导长期的免疫记忆并有效防止肿瘤复发^[43-45]。但这一联合方案仍需要通过大量的临床研究或临床实践总结来确定其最佳方案,增强临床疗效。(4)载药囊泡可以有效解除肿瘤免疫抑制微环境,通过对胸、腹腔或其他肿瘤所在腔体内的喷洒或灌注,对于预防和治疗微小病灶种植转移可能具有积极的作用。(5)与其他局部治疗方法的联合,如介入治疗、射频消融术等,来提高局部治疗的效果。载药囊泡技术的潜在机制已被阐明,临床应用展现了良好的安全性和有效性,特别是免疫激活过程中发挥重要作用,使其作为肿瘤免疫治疗技术展现出广阔前景。“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”作为细胞外囊泡领域率先完成临床转化的项目,在后续实际应用过程中还需要不断进行调整和优化,基于此,本共识将定期进行更新。

“载药囊泡化肿瘤靶向治疗术”临床应用专家共识

参与讨论及起草专家名单:

黄波 中国医学科学院基础医学研究所
张毅 郑州大学第一附属医院
马飞 中国医学科学院肿瘤医院
王西墨 天津市第三中心医院
金阳 华中科技大学同济医学院附属协和医院
杨坤禹 华中科技大学同济医学院附属协和医院
任秀宝 天津市肿瘤医院
王丽萍 郑州大学第一附属医院
王启鸣 河南省肿瘤医院
胡胜 湖北省肿瘤医院
史清明 安徽省胸科医院
陈建华 湖南省肿瘤医院
杨秋安 山东大学齐鲁医院
姚梦醒 安徽医科大学第二附属医院
张力元 苏州大学附属第二医院(核工业总医院)
储以微 复旦大学上海医学院
邱晓彦 北京大学医学部
唐科 华中科技大学同济医学院
张连军 中国医学科学院苏州系统医学研究所

[参考文献]

- [1] BUZAS E I. The roles of extracellular vesicles in the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(4): 236-250. DOI: 10.1038/s41577-022-00763-8.
- [2] VAN DE WAKKER S I, MEIJERS F M, SLUIJTER J P G, *et al.* Extracellular vesicle heterogeneity and its impact for regenerative medicine applications[J]. *Pharmacol Rev*, 2023, 75(5): 1043-1061. DOI: 10.1124/pharmrev.123.000841.
- [3] DE ABREU R C, FERNANDES H, DA COSTA MARTINS P A, *et al.* Native and bioengineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(11): 685-697. DOI: 10.1038/s41569-020-0389-5.
- [4] KALLURI R, MCANDREWS K M. The role of extracellular vesicles in cancer[J]. *Cell*, 2023, 186(8): 1610-1626. DOI: 10.1016/j.cell.2023.03.010.
- [5] ZHAO Q T, HUANG L, QIN G H, *et al.* Cancer-associated fibroblasts induce monocytic myeloid-derived suppressor cell generation via IL-6/exosomal miR-21-activated STAT3 signaling to promote cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2021, 518: 35-48. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.06.009.
- [6] LIU J Y, LIU J Y, QIN G H, *et al.* MDSCs-derived GPR84 induces CD8⁺ T-cell senescence via p53 activation to suppress the antitumor response[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(11): e007802 [2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38016719/>. DOI: 10.1136/jitc-2023-007802.
- [7] ZHANG X, ZHANG H, GU J, *et al.* Engineered extracellular vesicles for cancer therapy[J/OL]. *Adv Mater*, 2021, 33(14): e2005709[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33644908/>. DOI: 10.1002/adma.202005709.
- [8] DU S, GUAN Y C, XIE A H, *et al.* Extracellular vesicles: a rising star for therapeutics and drug delivery[J/OL]. *J Nanobiotechnol*, 2023, 21(1): 231[2024-06-30]. <http://dx.doi.org/10.1186/s12951-023-01973-5>. DOI: 10.1186/s12951-023-01973-5.
- [9] COLOMBO M, RAPOSO G, THÉRY C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-289. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.
- [10] CHEN H, WANG L, ZENG X, *et al.* Exosomes, a new star for targeted delivery[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 751079 [2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34692704/>. DOI: 10.3389/fcell.2021.751079.
- [11] ISAAC R, REIS F C G, YING W, *et al.* Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(9): 1744-1762. DOI: 10.1016/j.cmet.2021.08.006.
- [12] MATHIEU M, MARTIN-JAULAR L, LAVIEU G, *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1): 9-17. DOI: 10.1038/s41556-018-0250-9.
- [13] DOYLE L M, WANG M Z. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(7): 727[2024-06-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678302/>. DOI: 10.3390/cells8070727.
- [14] VAN NIEL G, D'ANGELO G, RAPOSO G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4): 213-228. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
- [15] MAUSE S F, WEBER C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange[J]. *Circ Res*, 2010, 107(9): 1047-1057. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.226456.
- [16] ATKIN-SMITH G K, TIXEIRA R, PAONE S, *et al.* A novel mechanism of generating extracellular vesicles during apoptosis via a beads-on-a-string membrane structure[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7439[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26074490/>. DOI: 10.1038/ncomms8439.
- [17] BATTISTELLI M, FALCIERI E. Apoptotic bodies: particular extracellular vesicles involved in intercellular communication [J/OL]. *Biology*, 2020, 9(1): 21[2024-06-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7168913/>. DOI: 10.3390/biology9010021.
- [18] HENDRIX A, LIPPENS L, PINHEIRO C, *et al.* Extracellular vesicle analysis[J/OL]. *Nat Rev Meth Primers*, 2023, 3: 56[2024-06-30]. <https://doi.org/10.1038/s43586-023-00240-z>. DOI: 10.1038/s43586-023-00240-z.
- [19] MA J W, TANG K, ZHANG H F, *et al.* Characterization and functional analysis of tumor-derived microparticles[J/OL]. *Curr Protoc*, 2021, 1(6): e144[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34101382/>. DOI: 10.1002/cpz1.144.
- [20] WU M X, OUYANG Y S, WANG Z Y, *et al.* Isolation of exosomes from whole blood by integrating acoustics and microfluidics[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(40): 10584-10589. DOI: 10.1073/pnas.1709210114.
- [21] ZHAO Z, WIJERATHNE H, GODWIN A K, *et al.* Isolation and

- analysis methods of extracellular vesicles (EVs) [J]. *Extracell Vesicles Circ Nucl Acids*, 2021, 2: 80-103. DOI: 10.20517/evcna.2021.07.
- [22] EV-TRACK CONSORTIUM, VAN DEUN J, MESTDAGH P, *et al.* EV-TRACK: transparent reporting and centralizing knowledge in extracellular vesicle research[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(3): 228-232. DOI: 10.1038/nmeth.4185.
- [23] WELSH J A, GOBERDHAN D C I, O' DRISCOLL L, *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches[J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13(2): e12404 [2024-06-30]. <http://dx.doi.org/10.1002/jev2.12404>. DOI: 10.1002/jev2.12404.
- [24] POMATTO M A C, BUSSOLATI B, D'ANTICO S, *et al.* Improved loading of plasma-derived extracellular vesicles to encapsulate antitumor miRNAs[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 13: 133-144. DOI: 10.1016/j.omtm.2019.01.001.
- [25] FU Z, ZHANG X, ZHOU X Y, *et al.* *In vivo* self-assembled small RNAs as a new generation of RNAi therapeutics[J]. *Cell Res*, 2021, 31(6): 631-648. DOI: 10.1038/s41422-021-00491-z.
- [26] ARYA S B, CHEN S, JORDAN-JAVED F, *et al.* Ceramide-rich microdomains facilitate nuclear envelope budding for non-conventional exosome formation[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(7): 1019-1028. DOI: 10.1038/s41556-022-00934-8.
- [27] TANG K, ZHANG Y, ZHANG H F, *et al.* Delivery of chemotherapeutic drugs in tumour cell-derived microparticles [J/OL]. *Nat Commun*, 2012, 3: 1282[2024-06-30]. <https://doi.org/10.1038/ncomms2282>. DOI: 10.1038/ncomms2282.
- [28] SAARI H, LÁZARO-IBÁÑEZ E, VIITALA T, *et al.* Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells[J]. *J Control Release*, 2015, 220(Pt B): 727-737. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.09.031.
- [29] WEI Z, ZHANG X, YONG T, *et al.* Boosting anti-PD-1 therapy with metformin-loaded macrophage-derived microparticles[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 440[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33469052/>. DOI: 10.1038/s41467-020-20723-x.
- [30] MA J W, ZHANG H F, TANG K, *et al.* Tumor-derived microparticles in tumor immunology and immunotherapy[J]. *Eur J Immunol*, 2020, 50(11): 1653-1662. DOI: 10.1002/eji.202048548.
- [31] LIU J, TAN Y H, ZHANG H F, *et al.* Soft fibrin gels promote selection and growth of tumorigenic cells[J]. *Nat Mater*, 2012, 11(8): 734-741. DOI: 10.1038/nmat3361.
- [32] MA J W, ZHANG Y, TANG K, *et al.* Reversing drug resistance of soft tumor-repopulating cells by tumor cell-derived chemotherapeutic microparticles[J]. *Cell Res*, 2016, 26(6): 713-727. DOI: 10.1038/cr.2016.53.
- [33] XU P, TANG K, MA J, *et al.* Chemotherapeutic tumor microparticles elicit a neutrophil response targeting malignant pleural effusions[J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(9): 1193-1205. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-19-0789.
- [34] GAO Y F, ZHANG H, ZHOU N N, *et al.* Methotrexate-loaded tumour-cell-derived microvesicles can relieve biliary obstruction in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(7): 743-753. DOI: 10.1038/s41551-020-0583-0.
- [35] WEI K K, ZHANG H F, YANG S S, *et al.* Chemo-drugs in cell microparticles reset antitumor activity of macrophages by activating lysosomal P450 and nuclear hnRNP2B1[J/OL]. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, 8: 22 [2024-06-30]. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01212-7>. DOI: 10.1038/s41392-022-01212-7.
- [36] ZHANG H, TANG K, ZHANG Y, *et al.* Cell-free tumor microparticle vaccines stimulate dendritic cells *via* cGAS/STING signaling[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(2): 196-205. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-14-0177.
- [37] MA J, WEI K, ZHANG H, *et al.* Mechanisms by which dendritic cells present tumor microparticle antigens to CD8⁺ T cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(9): 1057-1068. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-17-0716.
- [38] ROBERTS M E, NEVILLE E, BERRISFORD R G, *et al.* Management of a malignant pleural effusion: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010[J]. *Thorax*, 2010, 65(Suppl 2): ii32-ii40. DOI: 10.1136/thx.2010.136994.
- [39] FERREIRO L, SUÁREZ-ANTELO J, ÁLVAREZ-DOBAÑO J M, *et al.* Malignant pleural effusion: diagnosis and management[J/OL]. *Can Respir J*, 2020, 2020: 2950751[2024-06-30]. <https://doi.org/10.1155/2020/2950751>. DOI: 10.1155/2020/2950751.
- [40] GUPTA A, SEDHOM R, BEG M S. Ascites, or fluid in the belly, in patients with cancer[J/OL]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(2): 308[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31855243/>. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.5409.
- [41] GUO M, GUO M, WU F, *et al.* Autologous tumor cell-derived microparticle-based targeted chemotherapy in lung cancer patients with malignant pleural effusion[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(474): eaat5690[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30626714/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat5690.
- [42] DONG X R, HUANG Y, YI T N, *et al.* Intrapleural infusion of tumor cell-derived microparticles packaging methotrexate or saline combined with pemetrexed-cisplatin chemotherapy for the treatment of malignant pleural effusion in advanced non-squamous non-small cell lung cancer: a double-blind, randomized, placebo-controlled study[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1002938[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36275698/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1002938.
- [43] WAN C, SUN Y, TIAN Y, *et al.* Irradiated tumor cell-derived microparticles mediate tumor eradication *via* cell killing and immune reprogramming[J/OL]. *Sci Adv*, 2020, 6(13): eaay9789 [2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32232155/>. DOI: 10.1126/sciadv.aay9789.
- [44] BIE N N, YONG T Y, WEI Z H, *et al.* Tumor-repopulating cell-derived microparticles elicit cascade amplification of chemotherapy-induced antitumor immunity to boost anti-PD-1 therapy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 408[2024-06-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37875473/>. DOI: 10.1038/s41392-023-01658-3.
- [45] XU P W, ZHANG X J, CHEN K, *et al.* Tumor cell-derived microparticles induced by methotrexate augment T-cell antitumor responses by downregulating expression of PD-1 in neutrophils[J]. *Cancer Immunol Res*, 2023, 11(4): 501-514. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-22-0595.

[收稿日期] 2024-07-01

[修回日期] 2024-08-16

[本文编辑] 黄静怡