



肿瘤免疫微环境中细胞外囊泡的 调控机制与诊疗应用*

王子琪^{1,3)} 王静²⁾ 黄渊余^{1,3)} 陆梅^{1,3)**}

⁽¹⁾ 北京理工大学, 生命学院、前沿交叉科学院、分子医学与生物诊疗重点实验室、医药分子科学与制剂工程重点实验室, 北京 100081;

⁽²⁾ 天然药物及仿生药物全国重点实验室 (北京大学), 北京 100871; ⁽³⁾ 北京理工大学, 前沿技术研究院, 济南 250307)

摘要 细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是肿瘤免疫微环境 (tumor microenvironment, TME) 中细胞间通讯的核心介质, 依据生物发生机制可分为外泌体、微囊泡及凋亡小体, 其通过携带蛋白质、核酸、脂质等生物活性分子, 在肿瘤发生发展及免疫逃逸中发挥双重调控作用。不同来源的 EVs 组成具有显著异质性: 肿瘤细胞来源 EVs (tumor-derived EVs, TDEVs) 富含免疫抑制分子, 免疫细胞来源 EVs 则携带促免疫激活成分。本文系统综述了 EVs 的生物发生与组成特征, 深入解析其在 TME 中介导免疫细胞-肿瘤细胞交互调控、驱动基质重构及调控代谢重编程的动态机制。重点探讨了 EVs 相关标志物在液体活检中的诊断价值, 为肿瘤早期筛查、分型及预后评估提供支撑, 以及其在免疫检查点阻断、肿瘤疫苗研发、治疗性分子递送等领域的前沿应用。此外, 文章展望了工程化 EVs 在精准免疫治疗中的转化潜力, 指出当前 EVs 分离纯化、亚型区分及临床规范化应用等核心挑战, 并提出多组学技术与人工智能结合的未来发展方向, 为基于 EVs 的肿瘤诊疗新策略提供全面的理论依据与应用参考。

关键词 细胞外囊泡, 肿瘤免疫微环境, 免疫调节, 肿瘤疫苗, 精准治疗

中图分类号 R730.3

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0504

CSTR: 32369.14.pibb.20250504

恶性肿瘤目前已经成为世界范围内的恶性高发性疾病, 肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 对于肿瘤的发生、发展和转移起着至关重要的作用。TME 是由多种免疫细胞、癌症相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs)、血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs)、基质成分、细胞因子等多种因素所组成的复杂体系^[1]。细胞-细胞之间以及细胞与非细胞之间产生的各种相互作用共同影响肿瘤的发生发展进程, 对 TME 的结构功能和作用有更加清楚的理解有助于更好地开发肿瘤防治的新手段^[2]。

TME 的功能调控主要通过细胞间相互通讯实现, 该过程主要依靠细胞间的直接接触及细胞释放的可溶性分子和细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 介导。作为细胞间通讯的天然载体, EVs 可在 TME 中调节免疫反应、促进血管生成、诱导基质重塑和促进代谢重编程等作用^[3-4]。同时肿瘤细胞、免疫细胞、基质细胞来源的 EVs 可通过传递各

种功能分子, 构建复杂调控网络, 影响肿瘤的增殖、侵袭以及免疫逃逸过程。例如, 肿瘤细胞来源 EVs (tumor-derived EVs, TDEVs) 可以将转移相关的分子 (如程序性死亡受体配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 等) 或促转移因子导入瘤旁组织, 促进肿瘤的生长、侵袭以及转移^[5]; 免疫细胞源性的 EVs 能调节 T 细胞的功能与巨噬细胞极化, 而基质细胞源性的 EVs 则可以调节肿瘤侵袭与化疗耐药性^[6]。可见, TDEVs 和免疫细胞源性 EVs 对于 TME 来说是双重作用, 即一方面 EVs 促进肿瘤的生长和发展, 另一方面又能促进 TME 的

* 国家自然科学基金 (32371440), 天然药物及仿生药物全国重点实验室开放基金 (KF2025011), 国家重点研发计划 (2023YFC2605000) 和山东省自然科学基金 (ZR2025MS1302) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-68911819, E-mail: lumei@bit.edu.cn

收稿日期: 2025-11-13, 接受日期: 2026-02-28

形成与发展。

EVs是TME的重要信使和调控因子，其功能研究已逐步突破细胞间通讯的传统范畴，为理解肿瘤恶性演进和开拓肿瘤诊疗新策略提供新思路。本文围绕肿瘤免疫微环境着重阐述EVs如何介导免疫调节、驱动基质重构、实现代谢重编程转变TME角色从“旁观者”到“积极塑造者”过程，在此基础上评估上述机制向临床肿瘤诊疗策略转化的可能。此外，本文还展望利用工程化EVs推动精准免疫治疗发展诊断和治疗转化的可能。

1 EVs的生物发生、分类与组成

1.1 EVs的生物发生与分类

根据生物发生机制和粒径大小等关键特征，EVs可划分为3个主要类别：外泌体、微囊泡与凋亡小体。外泌体（直径30~150 nm）的生成始于细胞内吞过程，由晚期内体进一步发育为多囊泡体（multivesicular bodies, MVBs）；其内部的腔内囊泡（intraluminal vesicles, ILVs）形成依赖于内体分选复合物（endosomal sorting complex required for transport, ESCRT）复合物或非依赖途径（例如神经酰胺途径），最终MVBs与细胞质膜融合，将外泌体释放至细胞外^[3, 7-10]。微囊泡（直径约100 nm~1 μm）的形成机制则更为直接，源自细胞质膜向外出芽，该过程通常伴随肌动蛋白细胞骨架的收缩以及膜脂质分布的变化^[11]。凋亡小体（直径1~5 μm）是细胞发生凋亡时产生的较大囊泡结构，其形成依赖于胱天蛋白酶（caspase）激活所引发的细胞膜起泡与断裂，并通常被巨噬细胞识别和清除^[12]。在上述3类EVs中，外泌体与微囊泡因在细胞间通讯中扮演广泛角色，已成为当前研究的焦点。

1.2 EVs的组成成分

EVs的构成成分是其功能发挥的结构基础，其共有组分主要包括蛋白质、脂质和核酸三大类。蛋白质组成上，EVs膜上富含典型的四次跨膜蛋白（如CD63、CD81、CD9），以及整合素与多种信号受体；囊泡腔内则携带有细胞骨架蛋白、热休克蛋白（例如HSP70、HSP90），以及多种代谢酶类和信号转导蛋白。在脂质构成上，EVs膜富含胆固醇、鞘磷脂和磷脂酰丝氨酸等脂筏相关脂质，这些脂质不仅有助于维持膜结构的稳定性，也在细胞识别及膜融合过程中发挥作用。就核酸组分而言，EVs作为细胞间信息传递的载体，其中包裹多种类

型的RNA，包括信使RNA（mRNA）、微RNA（microRNAs, miRNAs）（如miR-210、miR-155）和长链非编码RNA（如H19），此外还可携带来自基因组或线粒体的DNA片段。这些分子共同构成了EVs的结构与功能基础，不过其具体组成存在显著异质性，将在接下来的部分进行展开论述。

不同细胞来源的EVs，其脂质、蛋白质、核酸组成具有异质性。例如，免疫细胞来源的EVs含多种抗肿瘤或促肿瘤相关的蛋白质及核酸分子等，树突状细胞来源的EVs（dendritic cell derived EVs, DC-EVs）携带主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC）和T细胞共刺激分子^[13]，自然杀伤细胞（natural killer cells, NK cells）来源的EVs中含有下调肿瘤相关基因的miRNAs以及细胞毒蛋白（如穿孔素）等内容物^[14]。相对的，TDEVs富含促肿瘤进展和免疫抑制相关的分子，如特定的跨膜蛋白（如PD-L1）、信号通路蛋白（如转化生长因子-β（transforming growth factor-β, TGF-β））、致癌性非编码RNA（如miR-21）和基质重塑酶（如基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase, MMP）2）。

正是这些特定的分子货物，赋予了EVs在TME中行使复杂调控功能的能力。一方面，像PD-L1这样的免疫检查点蛋白，使TDEVs能够直接“麻醉”杀伤性T细胞，介导免疫抑制。另一方面，其所携带的致癌RNA、信号通路蛋白及基质重塑酶，能够被递送至受体细胞，重编程其生理状态，从而协同促进血管生成、侵袭转移和治疗抵抗。因此，EVs组成上的异质性不仅是其细胞起源的标识，更是其介导TME中细胞间通信、精准调控肿瘤生物学进程的功能基础。

2 EVs在TME中的动态调控机制

2.1 EVs介导的免疫细胞-肿瘤细胞交互调控

EVs具有双重免疫调节作用。免疫细胞来源的EVs在特定条件下能激活免疫反应，例如上文提到的携带抗原肽-MHC复合物和共刺激分子的DCs来源的EVs，可激活T细胞的抗肿瘤作用^[13]。在正常免疫应答中，EVs也参与免疫细胞的激活、分化和调节，维持免疫平衡。相反地，TDEVs通过携带PD-L1、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4（cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4）、FAS配体（FAS ligand, FASL）等免疫抑制因子抑制T细胞的活性，促进调节性T细胞

(regulatory T cell, Treg cell) 增殖, 介导 CD8 T 细胞的凋亡 [15]; 同时, TDEVs 可以递送 TGF- β 等免疫抑制因子下调 NK 细胞表面自然杀伤细胞集团 2D (natural killer group 2D, NKG2D) 受体表达, 抑制 NK 细胞活性, 并阻碍其向肿瘤组织迁移 (图 1) [16-17], 同时影响 NK 细胞的增殖和存活 [18]。此外, MSCs 来源的 EVs 能够通过传递免疫抑制性分

子, 抑制促炎细胞因子释放, 协调 Th1/Th2 细胞比例, 从而调节过度的炎症反应 [19-20]。EVs 在免疫细胞与肿瘤细胞交互中呈双向调控特征, 免疫细胞来源 EVs 以激活抗肿瘤免疫为主, TDEVs 则通过递送抑制分子介导免疫逃逸。这种调控平衡受肿瘤类型、EVs 浓度影响, 为靶向 EVs 逆转免疫失衡提供了核心思路。

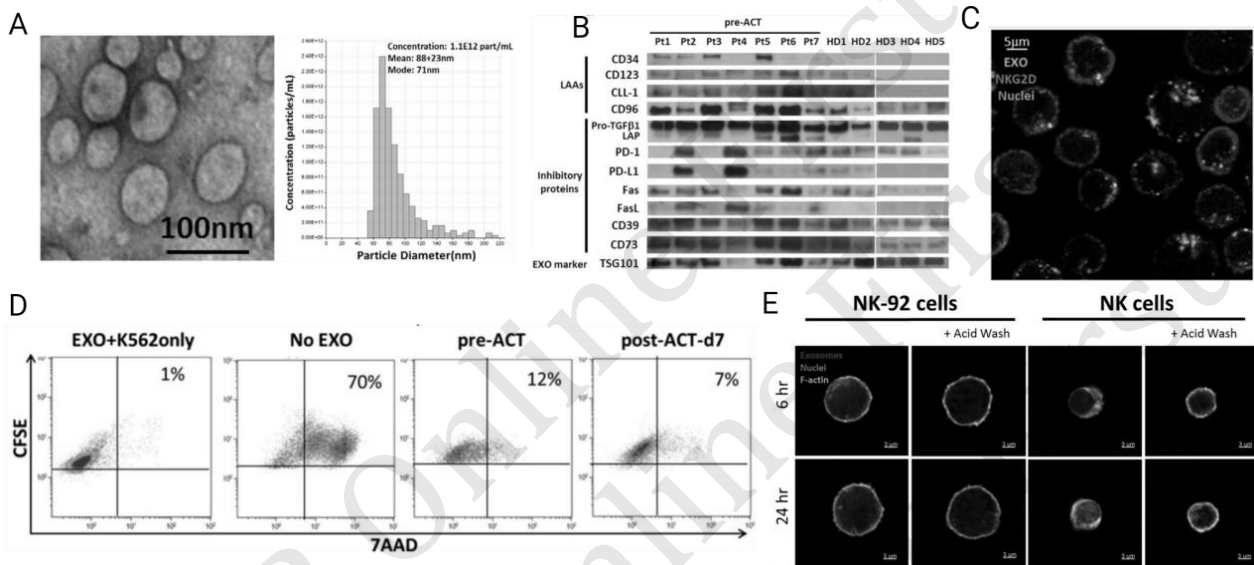


Fig. 1 Inhibitory effect of tumor-derived extracellular vesicles (TDEVs) on the function of NK-92 cells

图1 TDEVs对NK-92细胞功能的抑制作用

(a) AML患者血浆分离的EVs呈现典型的囊泡形态, 大小分布在30~150 nm之间。(b) AML来源的EVs富含TGF- β 1、PD-L1和FasL等免疫抑制蛋白。(c) AML EVs结合至NK-92细胞表面, 并导致其活化受体NKG2D的下调。(d) AML患者血浆中的EVs显著抑制NK-92细胞对K562靶细胞的杀伤功能。(e) 与原代活化的NK细胞不同, NK-92细胞并不内化AML外泌体, 而是将其结合在细胞表面。经许可改编自文献 [16-17]。

2.2 EVs驱动的基质重构与转移微环境形成

TDEVs是驱动基质重构和转移微环境形成的关键效应器。例如, 研究显示, 惰性神经胶质瘤细胞来源的EVs能够携带致癌蛋白表皮生长因子受体 III 型突变体 (epidermal growth factor receptor varian III, EGFRvIII), 并被缺乏该蛋白质的受体肿瘤细胞摄取, 诱导后者发生恶性转化和增殖, 这为转移灶的形成提供了潜在的细胞来源 [21]。更重要的是, EVs被广泛证实可诱导癌细胞的上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 即肿瘤细胞从良性状态转变为转移状态 [15]。低氧EVs可激活MMP2和MMP9促进TME的基质降解与重塑 [22], 并且递送miR-21和miR-23

增加血管通透性, 共同推进了肿瘤的转移 [2]。TDEVs通过传递致癌分子、激活MMPs、诱导EMT及增加血管通透性等方式, 协同驱动基质重构与转移微环境形成。不同肿瘤来源的TDEVs在该过程中功能优先级存在差异, 且与基质细胞EVs存在协同效应。

2.3 EVs在TME中的代谢重编程作用

EVs通过传递生物活性分子, 调控癌细胞与基质细胞的代谢重编程。例如, EVs将代谢相关分子 (如丙酮酸激酶 M2 (pyruvate kinase M2, PKM2)) 传递至肝非实质细胞时, 可诱导“瓦博格效应” (即细胞偏好有氧糖酵解的代谢特征, 即使在氧气充足时也优先通过糖酵解供能) [23], 为肿

瘤转移前生态位的形成奠定代谢基础。当传递至基质细胞时，会促进趋化因子 CXC 配体 12 (chemokine C-X-C motif ligand 12, CXCL12) 生成，产生转移前生态位^[24]；EVs 还能促使癌症相关脂肪细胞释放游离脂肪酸，通过脂肪酸氧化 (fatty acid oxidation, FAO) 为癌细胞供能^[25]。此外，EVs 可激活内皮细胞糖酵解，促进血管生成，并通过重塑免疫细胞代谢来诱导免疫抑制^[26]。这些代谢重编程作用共同促进肿瘤的增殖、转移、耐药及免疫逃逸等^[27]。EVs 通过传递代谢酶或调控因子，特异性重编程癌细胞、基质细胞及免疫细胞的代谢模式，形成功能协同的代谢网络。当前研究多聚焦单一通路，对多代谢路径的整合调控机制仍需深入探索。

2.4 不同来源EVs的免疫调控差异

不同来源 EVs 的免疫调控功能存在本质差异：TDEVs 以免疫抑制为核心，通过递送 PD-L1、TGF- β 等抑制分子直接削弱效应免疫细胞活性、促进肿瘤逃逸，但其源自肿瘤细胞的同源靶向性可使其特异性富集于肿瘤微环境，为装载治疗分子的工程化改造提供天然优势；DC-EVs 和 NK-EVs 天然富含 MHC-抗原复合物、穿孔素等免疫激活分子，是激活特异性抗肿瘤免疫的优质载体，却普遍受限于体外产量低、体内靶向肿瘤病灶能力不足的现实瓶颈；MSC-EVs 则呈现显著的微环境依赖性双向调控特征，在炎症场景中可通过调节细胞因子平衡抑制过度免疫损伤，而在肿瘤微环境中可能通过诱导免疫抑制表型间接促进肿瘤进展，临床应用需严格把控适用场景。这种功能异质性既深刻反映了肿瘤免疫微环境的复杂调控网络，也为临床根据肿瘤免疫表型（如免疫抑制型、炎症型）精准选择 EVs 相关治疗策略提供了关键依据。

3 基于EVs调控TME机制的肿瘤诊疗策略

EVs 在 TME 中的关键作用机制不仅深化了对肿瘤生物学的理解，也直接推动了其在肿瘤诊断与治疗中的转化应用。以下两节将系统阐述 EVs 作为诊断标志物和治疗载体的最新进展，突出其机制与应用的紧密关联。

3.1 EVs作为肿瘤诊断标志物的潜力

早期癌症早发现早治疗可极大提高患者生存率，寻找合适的癌症诊断标志物十分有意义。基于 EVs 在 TME 中的活跃分泌及其携带分子反映母细胞状态的特点，液体活检中的 EVs 已成为肿瘤诊断

的重要来源。在肿瘤病理条件下，患者血液中含丰富的 TDEVs，其根据肿瘤的发生发展还会携带不同的肿瘤相关代谢物，为判断癌症存在与否、癌症的组织学类型以及临床分期等提供了极大的便利。

3.1.1 EVs相关蛋白质标志物

肿瘤来源 EVs 的蛋白质标志物在肿瘤分型、恶性程度评估及早期诊断中具有重要价值。同时检测 TDEVs 上的磷脂酰肌醇蛋白聚糖 1 (glypican proteoglycan 1, GPC1) 和 A 型肝配蛋白受体 2 (ephrin type-A receptor 2, EphA2) 的共识别可以检测胰腺癌的临床分期^[28]。Tian 等^[29]使用热泳适配体传感器 (thermophoretic aptasensor, TAS)，分析 8 种乳腺癌相关的 EVs 蛋白标志物，以区分转移型乳腺癌、非转移性乳腺癌与健康个体，准确率高达 91.1%。

3.1.2 EVs相关核酸标志物

血液中许多 EVs 携带与肿瘤相关的核酸片段，可作为肿瘤诊断标志。例如，约 90% 胰腺导管腺癌患者存在 Kras 突变，而检测 EVs 包裹的 DNA 相较于循环游离 DNA 更灵敏，针对转移性胰腺导管腺癌患者 EVs 包裹的 DNA 中 Kras 突变可高达 85%，而循环游离 DNA 仅为 57.9%，这一检测方式提升了癌症早期诊断和预后评估的灵敏度与准确性^[30]。已有研究表明，EGFR T790M 突变是非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的生物标志物，检测血浆中 EVs 相关核酸的突变，可实现针对 NSCLC 的高特异性诊断^[31]。类似地，检测组织和血浆 EVs 中的 BRAF V600 突变可以高灵敏地诊断黑色素瘤^[32-34]。检测尿液 EVs 中葡萄糖醛酸、D-核糖-5-磷酸等代谢物可对前列腺癌进行代谢分析^[35]，为肿瘤诊断提供了新的生物标志物检测思路。

3.2 基于EVs调控TME机制的肿瘤治疗策略

TME 中肿瘤细胞或免疫细胞来源的 EVs 或工程化 EVs 通过受体配体结合、传递核酸、蛋白质等物质可调节 TME 中免疫细胞活性，逆转肿瘤免疫抑制微环境 (表 1)。

3.2.1 基于EVs的免疫检查点阻断疗法

免疫检查点是一类在免疫细胞上表达的免疫抑制分子，可以调节免疫细胞活性，防止过度免疫。然而，肿瘤会利用程序性死亡受体 1 (programmed death-1, PD-1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4, CTLA4) 等免疫检查点蛋白在 TME 中抑制免疫细

胞活性, 逃避免疫细胞的监察^[36-37]。因此, 基于EVs携带特定物质, 阻断免疫检查点蛋白与其配体的相互作用, 可实现对肿瘤的免疫治疗^[38]。例如, 可通过高亲和力的PD-1工程化EVs, 这种EVs同时敲除内源性PD-L1和 β -2微球蛋白, 阻断了PD-L1介导的T细胞耗竭, 是首次直接通过EVs靶向免疫检查点抑制了PD-L1过表达的肿瘤细胞增殖^[39](图2)。而直接使用EVs装载PD-L1 siRNA沉默靶细胞PD-L1基因, 也是一种直接阻断免疫检查点的方式。例如, Liu等^[40]利用电穿孔在M1-EVs中装载PD-L1的siRNA, 并在表面修饰水疱性口炎病毒糖蛋白(vesicular stomatitis virus glycoprotein, VSV-G), VSV-G在酸性环境(模拟肿瘤微环境)中促进了M1-EVs入胞, 达到了更好地沉默PD-L1的效果。免疫检查点阻断疗法常与其他策略联合使用以提升疗效, 抗原负载EVs联合PD-1/PD-L1抑制剂的方案, 在B16黑色素瘤模型中, 通过激活特异性免疫、解除免疫抑制的协同作用, 使原本对免疫检查点阻断无响应的肿瘤产生治疗敏感性, 显著增强EVs肿瘤疫苗的抗肿瘤效果^[41]。EVs与PD-1/PD-L1抑制剂联合治疗有望为临床治疗带来新的思路。

3.2.2 EVs作为肿瘤疫苗载体

肿瘤疫苗的核心是通过递送肿瘤抗原激活抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APCs), 诱导TME中DCs细胞成熟, 进而激活特异性T细胞应答(图3)。目前常用到的EVs肿瘤疫苗载体主要包括TDEVs、DC-EVs等。

由于TDEVs本身携带多种肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAAs), 多项研究通过将其改造, 增强其抗原呈递能力或通过基因工程或膜融合等手段, 在呈递抗原的同时刺激相关免疫细胞, 达到良好的治疗效果。热应激可在肿瘤细胞中诱导Th1型佐剂热休克蛋白和MHC-I表达, Dai等^[42]热应激过表达癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的肿瘤细胞, 产生的EVs可诱导TME中DCs的成熟同时激活细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTLs), 诱导高效的肿瘤免疫反应。在TDEVs呈递TAAs的基础上添加佐剂, 可辅助激活APCs等免疫细胞, 增强对抗原的摄取与加工。例如, TDEVs工程化装载中性粒细胞弹性蛋白酶ELANE作为免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)诱导剂和TLR3激动剂 α -乳清蛋白(α -lactalbumin, α -LA), 激活

DCs的同时并充分暴露肿瘤抗原, 实现良好的肿瘤免疫治疗效果^[43]。相应的, 一项研究工程化添加高迁移率基团核小体结合蛋白1(high mobility group nucleosome-binding protein 1, HMGN1), 增强了DCs成熟并激活了T细胞, 展现了良好的免疫效果^[44]。然而, 仅仅通过TDEVs引起的TME的免疫反应通常较单一, 通过TDEVs与免疫细胞来源的EVs的嵌合, 往往可引发更有效的免疫反应。将肿瘤细胞的细胞核嵌入巨噬细胞中, 产生的肿瘤细胞-巨噬细胞嵌合EVs可利用EVs的归巢效应和纳米尺寸双靶向肿瘤组织和淋巴结, 可同时逆转肿瘤免疫抑制、激活淋巴部位免疫反应, 在多种肿瘤模型中取得良好的治疗效果^[45]。

DC-EVs天然继承了DC细胞的免疫活性特征, 富含多种免疫活性分子如MHC分子和共刺激分子等, 可高效呈递抗原^[46]。Li等^[47]使用DC-EVs负载特异性肿瘤新抗原, 诱导了较好的T、B细胞反应, 取得了优于脂质体的肿瘤免疫效果。类似地, Xiong等^[48]利用DC-EVs装载肿瘤特异性异常转录诱导的嵌合RNA(aberrant transcription-induced chimeric RNA, A-PaschiRNA)实现良好的治疗效果, 为低突变负荷或无突变抗原的肿瘤治疗提供了新的思路。Zhu等^[49]偶联DC-EVs与黏蛋白1(mucin 1, MUC1), 诱导了高特异性抗体并激活了特异性免疫应答, 达到了良好的治疗效果。

除此之外, 还有多种其他来源的EVs作为肿瘤疫苗的载体。例如, 除DCs外, 许多其他免疫细胞如M1巨噬细胞、嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)等来源的EVs也是肿瘤抗原的良好递送平台。例如, 间皮素(mesothelin, MSLN)靶向的CAR-T来源的EVs能显著抑制MSLN过表达的三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)^[50]。M1巨噬细胞来源的EVs(M1-EVs)递送鸡卵清蛋白(ovalbumin, OVA)也取得了良好的肿瘤抑制效果^[51]。与此同时, 免疫细胞来源的EVs还可以充当免疫增强的佐剂。脂质包覆的磷酸钙纳米颗粒包裹黑色素瘤细胞分化抗原酪氨酸酶相关蛋白-2(tyrosine-related protein 2, TRP2)与M1-EVs嵌合后, M1-EVs可充当比CpG寡核苷酸更有效的免疫佐剂^[52]。相应的外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMVs)是革兰氏阴性细菌(如大肠杆菌、沙门氏菌等)从其外膜主动释放的囊泡, 含脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等细菌成分, 具

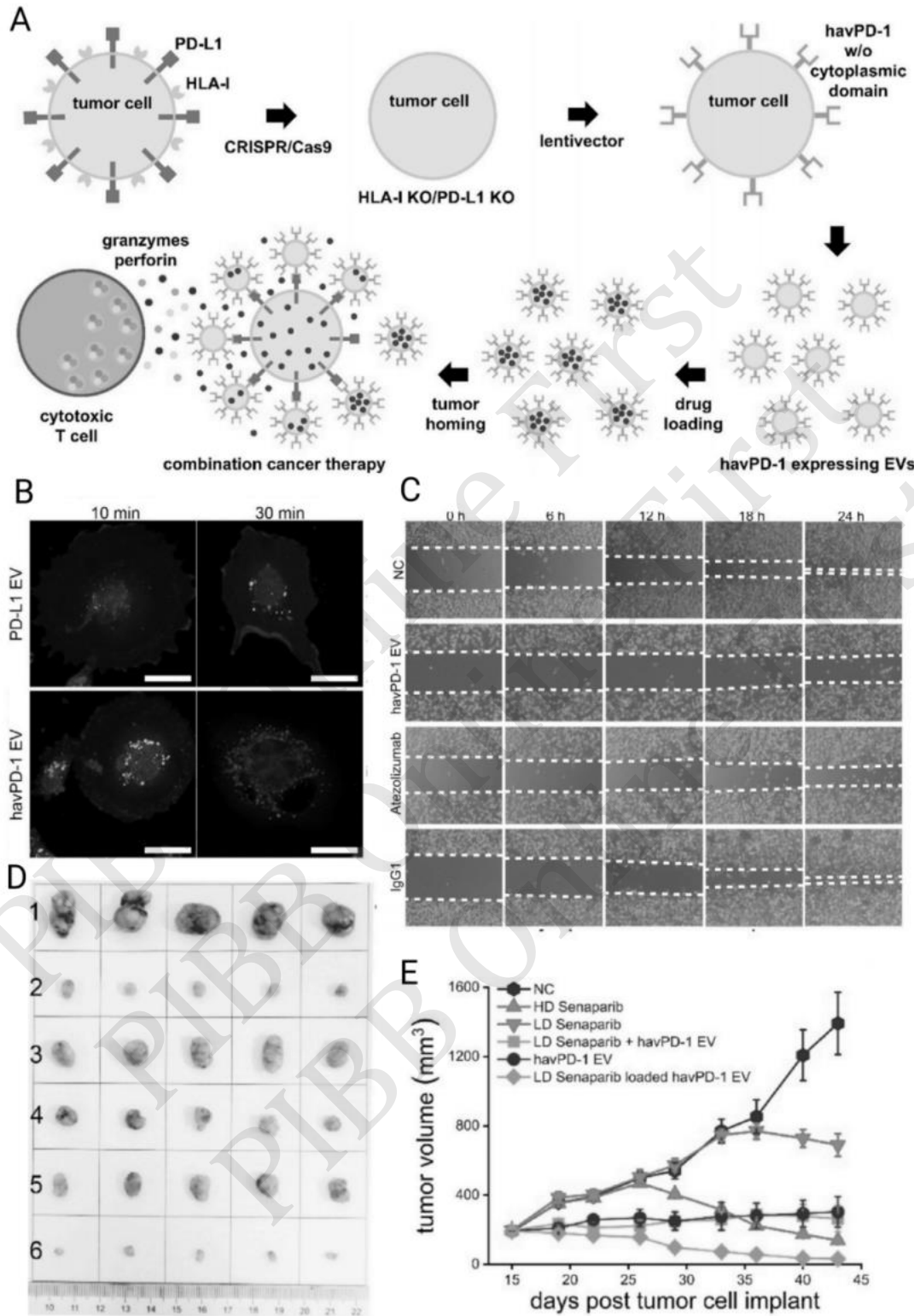


图2 工程化havPD-1 EVs在乳腺癌中的靶向、免疫调节及治疗作用

(a) 通过CRISPR/Cas9技术敲除β2M和PD-L1，并过表达havPD-1，同时装载PARP抑制剂所制备的工程化EVs，可靶向肿瘤细胞、阻断PD-L1、激活细胞毒性T细胞并诱导肿瘤细胞凋亡。(b) 在10 min和30 min时，havPD-1/CD81-GFP EVs与MDA-MB-231-tdTomato细胞的结合效率显著高于PKH67标记的PD-L1 EVs。(c) 与对照组相比，havPD-1 EVs能显著抑制MDA-MB-231细胞的迁移能力。(d-e) 装载Senaparib的havPD-1 EVs能导致最显著的肿瘤生长抑制效果。

有免疫刺激功能, 可充当佐剂使用, 是优秀的肿瘤疫苗纳米载体。Cheng 等^[53] 利用 SpyTag/SpyCatcher 技术偶联抗原肽, 制备了一种“即插即

展示”的 OMVs 肿瘤疫苗平台, 高效激活了 IFN γ ⁺ CTLs, 取得了良好的肿瘤抑制效果。

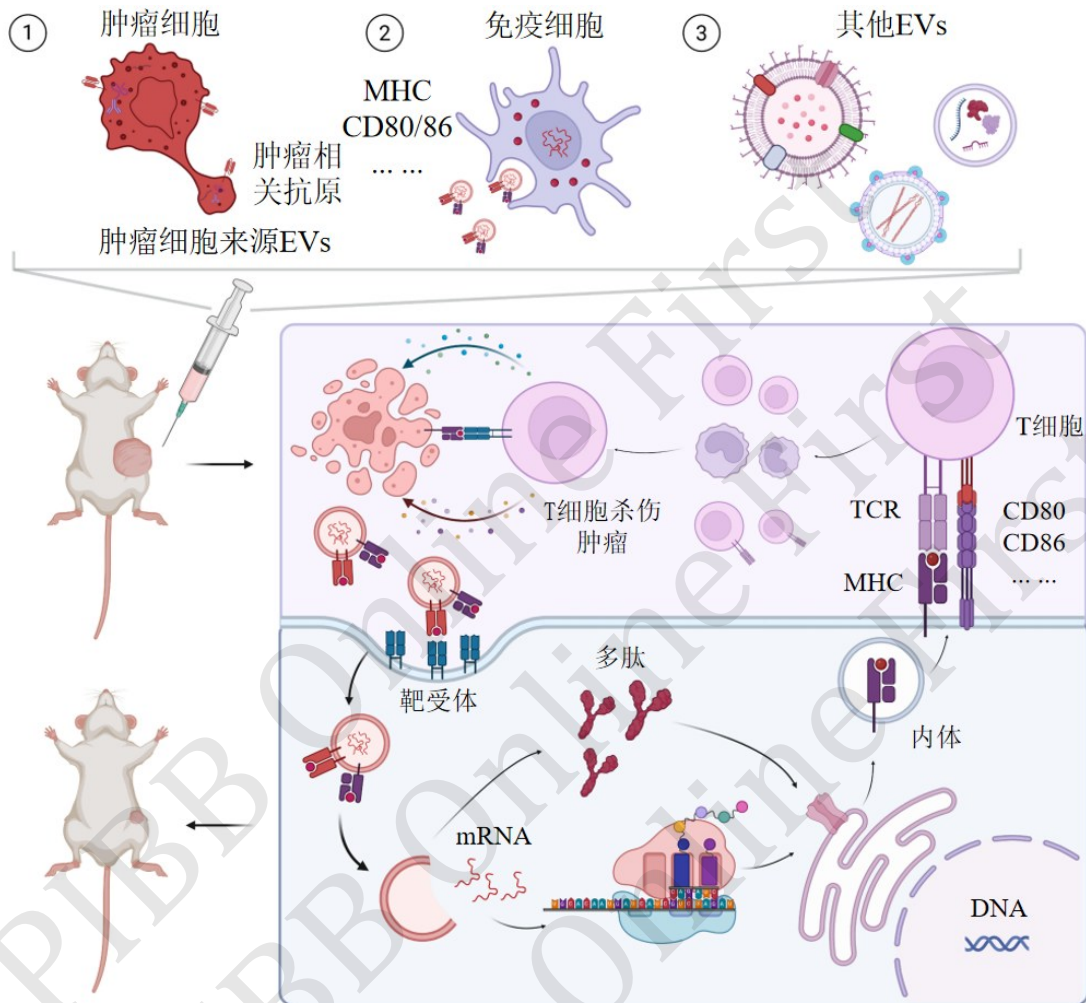


Fig. 3 Delivery, uptake of tumor antigen-loaded extracellular vesicles (EVs) and the process of antigen presentation and activation in immune cells

图3 负载肿瘤抗原的EVs的递送、摄取及免疫细胞的抗原呈递与激活过程

EVs主要通过三种策略发挥肿瘤疫苗载体的作用: 利用TDEVs表面天然存在的肿瘤相关抗原以启动免疫反应; 使用免疫细胞(如DCs)来源的、富含MHC-肽复合物与共刺激分子的EVs来直接激活T细胞; 或利用来自其他来源的工程化EVs, 通过装载特定抗原、核酸或药物以实现靶向递送。这些方法共同导致T细胞的激活, 活化的T细胞通过其TCR特异性识别癌细胞上的靶标受体, 并释放效应分子, 最终诱导直接的肿瘤细胞杀伤。

3.2.3 EVs作为肿瘤治疗性分子的递送载体

EVs可递送细胞因子、RNA干扰(RNA interference, RNAi)分子等免疫调节物质, 直接调控TME中免疫细胞的分化与功能, 弥补天然免疫信号的不足。

细胞因子(如白介素12(interleukin-12, IL-12)等)是激活免疫细胞的核心信号分子, 但游离状态下易降解且毒性强。EVs可保护细胞因子并将

其靶向递送至TME。Liu等^[54]将IL-12 mRNA电穿孔至EVs中, 通过吸入式给药治疗小鼠肺癌, EVs凭借其天然特性在肺中聚集, 显著上调了TME中CD8⁺T细胞、NK细胞、DC细胞等多种免疫细胞, 促进多种促炎细胞因子分泌, 诱导了 γ 干扰素(interferon-gamma, IFN- γ)介导的免疫激活, 显著抑制了肿瘤生长, 实现了优于脂质体的治疗效果。另一项研究中, 为提高细胞因子相应mRNA

的装载效率，采用微流控电穿孔技术得到表达CD64配体的工程化EVs。一方面，CD64作为对接位点，同时连接可靶向胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 的抗CD71抗体、和免疫检查点抑制剂抗PD-L1抗体；另一方面，CD64的C端融合N肽，与 *IFN-γ* mRNA的3'端box B序列特异性结合，实现 *IFN-γ* mRNA的主动装载。该体系对GBM荷瘤小鼠进行免疫干预后，显著上调肿瘤细胞MHC-I、激活CD8⁺ T细胞、巨噬细胞等免疫细胞，重塑了肿瘤免疫微环境，显著抑制肿瘤生长并延长生存期，为免疫抵抗性肿瘤的治疗提供新策略^[55]。Barnwal等使用肿瘤抗原刺激的成熟的DCs来源的EVs装载IL-12，TME中募集CD8 T细胞、NK细胞等免疫细胞，并抑制了免疫抑制细胞，最

终延缓了小鼠胶质母细胞瘤的生长^[56]。

RNAi分子 (主要包括miRNA、siRNA等) 通过碱基配对，可降解互补的mRNA或抑制其翻译，实现特异性基因沉默。EVs递送RNAi分子同样可以提高靶向性和稳定性 (图4)。例如，Zhou等^[57]电穿孔MSCs来源的EVs装载半乳糖凝集素9 siRNA，以逆转M2型肿瘤相关巨噬细胞，同时在其表面修饰奥沙利铂 (oxaliplatin, OXA) 前药触发ICD，通过这种逆转免疫抑制微环境同时激活免疫应答的双功能治疗，显著抑制了胰腺癌生长。Zhou等^[58]将TDEVs与磷脂杂化，再装载细胞周期蛋白依赖性激酶1 (cyclin dependent kinases 1, CDK1) siRNA沉默靶基因，抑制肝癌细胞的分裂增殖，诱导细胞凋亡。

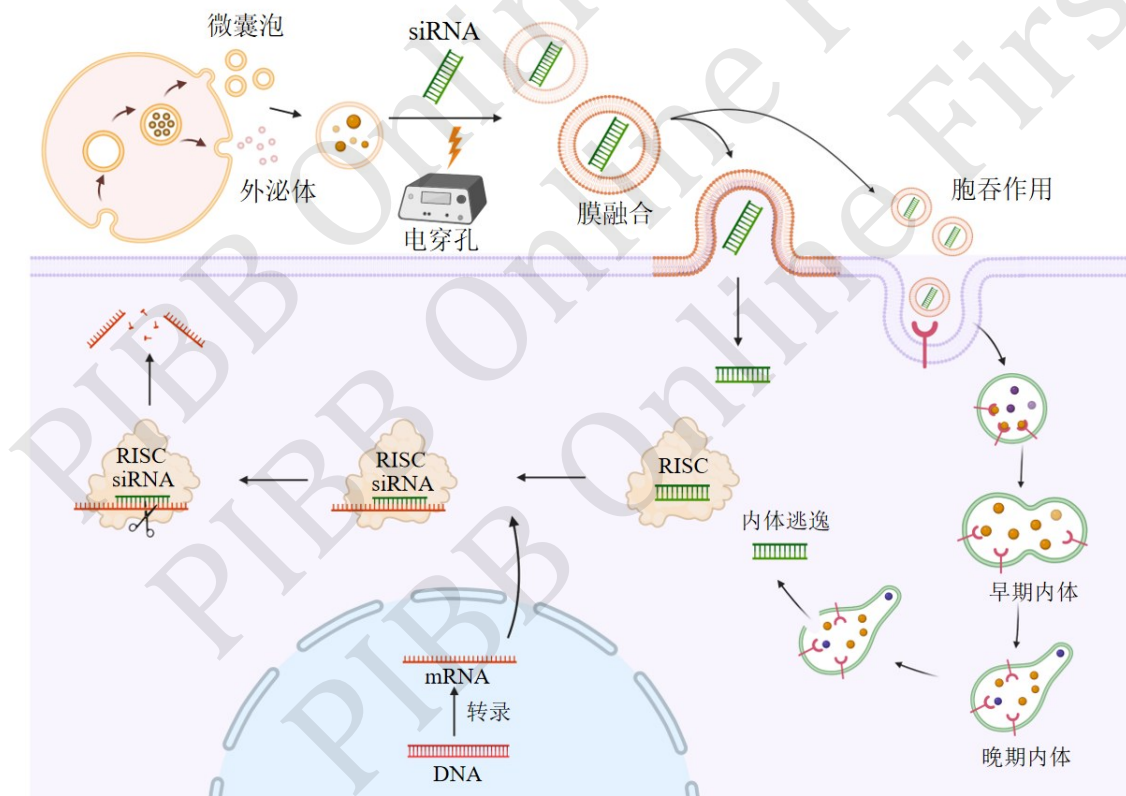


Fig. 4 Schematic diagram of the mechanism of EVs mediated siRNA delivery

图4 EVs介导siRNA递送的作用机制示意图

展示了细胞外囊泡 (包括微囊泡和外泌体) 与RISC结合，包装siRNA的过程。这些EVs将功能性的siRNA-RISC复合物递送至受体细胞中。被细胞内化后，siRNA引导RISC特异性靶向并结合互补的信使RNA序列，通过降解mRNA实现基因沉默。该过程在转录后水平有效抑制靶基因的表达，证明了EVs作为基于RNA干扰疗法的高效天然递送载体的潜力。

表1 基于TME的EVs肿瘤治疗策略
Table 1 TME based EVs tumor treatment strategy

序号	治疗策略	EVs来源	治疗分子	肿瘤类型	治疗效果	参考文献
1	免疫检查点 阻断疗法	β 2M和PD-L1敲除 的TD-EVs	havPD-1	乳腺癌	靶向肿瘤细胞, 逆转T细胞抑制, 诱导肿瘤细胞 凋亡, 显著抑制肿瘤生长和迁移	[39]
2		M1-EVs	PD-L1 siRNA	结直肠癌	有效逆转免疫抑制, 增强免疫治疗效果	[40]
3		DC-EVs	OVA、 α -半乳糖神经酰胺、 抗PD-1/抗PD-L1	黑色素瘤	恢复"无应答"B16黑色素瘤对免疫检查点阻断的 治疗敏感性	[41]
4	热应激肿瘤细胞来 源的EVs	天然肿瘤抗原 (如CEA)	结直肠癌、肺癌	诱导DCs成熟, 激活细胞毒性T细胞, 引发强烈 的抗肿瘤免疫反应	[42]	
5		TD-EVs	ELANE、 α -LA及天然肿瘤 抗原	乳腺癌	激活DCs, 充分暴露肿瘤抗原, 取得良好免疫效 果	[43]
6		HMGN1修饰的 TD-EVs	HMGN1与天然肿瘤抗原	肝癌、胰腺癌、 乳腺癌	增强DCs成熟与T细胞活化, 诱导长效抗肿瘤免 疫力	[44]
7	肿瘤-巨噬细胞杂 交EVs	天然肿瘤抗原	淋巴瘤、乳腺 癌、黑色素瘤	双重靶向肿瘤和淋巴结, 逆转免疫抑制, 激活免 疫应答	[45]	
8		DC-EVs	肿瘤新抗原	个性化癌症	诱导强烈的T细胞和B细胞反应, 效果优于脂质体	[47]
9		DC-EVs	嵌合RNA (A-PaschiRNA)	食管癌	取得良好治疗效果, 为新抗原缺失肿瘤治疗提供 新策略	[48]
10	肿瘤疫苗载 体	DC-EVs	MUC1抗原	MUC1阳性肿瘤	诱导高特异性抗体, 激活免疫反应	[49]
11		CAR-T细胞来源的 EVs	MSLN靶向剂	乳腺癌	显著抑制MSLN过表达三阴性乳腺癌的生长	[50]
12		M1-EVs	OVA	OVA过表达肿瘤 模型	发挥良好的肿瘤抑制效果	[51]
13	磷酸钙纳米颗粒嵌 入的M1-EVs	TRP2抗原	黑色素瘤	效果优于CpG, 增强疫苗效力	[52]	
14		OMVs	特异性抗原肽	结直肠癌、黑色 素瘤	高效激活IFN γ ⁺ 细胞毒性T细胞, 取得良好肿瘤抑 制效果	[53]
15		工程化EVs	IL-12 mRNA	肺癌	吸入后肺部积聚, 激活多种免疫细胞, 抑制肿瘤 生长, 效果优于脂质体	[54]
16	治疗分子载 体	工程化EVs	IFN- γ mRNA	胶质母细胞瘤	上调MHC-I, 激活免疫细胞, 重塑TME, 显著抑 制肿瘤生长并延长生存期	[55]
17		DC-EVs	IL-12蛋白	胶质母细胞瘤	招募CD8 ⁺ T细胞和NK细胞, 抑制Tregs等, 延缓 肿瘤生长	[56]
18		间充质干细胞来源 的EVs	Galectin-9 siRNA	胰腺癌	逆转免疫抑制微环境, 激活免疫应答, 显著抑制 肿瘤生长	[57]
19	TD-EVs杂交脂质 纳米胶囊	CDK1 siRNA	肝癌	抑制肿瘤细胞分裂与增殖, 并诱导细胞凋亡	[58]	

4 结论与展望

EVs是介导肿瘤微环境中细胞间通讯的关键因素, 在肿瘤发展中发挥了促进与抑制作用并存的双向调控模式。TDEVs可载入PD-L1、TGF- β 、miR-21等免疫抑制分子促进免疫逃逸、促进基质结构重塑及代谢重编程; 相反, 免疫细胞或工程化手段获得的具有MHC分子或装载细胞因子mRNA或RNAi干扰分子的EVs, 能够有效地刺激抗肿瘤免

疫应答, 发挥诊疗价值。

从表观遗传角度上看, EVs具有肿瘤相关蛋白标记物, 核酸突变片段和代谢物等, 可用于高灵敏的肿瘤液体活检; 另一方面, 在以EVs为基础开发的免疫检查点抑制剂、肿瘤疫苗以及治疗性分子运载体中也有大量的免疫活性物质, 且能在改善TME、增强抗肿瘤效果方面发挥出极大的潜力。

尽管EVs在精准医疗领域已经体现出一定的作用价值, 但从基础研究到临床转化还面临着很多有

待解决的问题, 影响其基础到临床转化的难点主要是由于缺乏EVs分离纯化以及亚型区分的手段, 阻碍了对EVs功能机制的深入探讨。可开发一种高效的EVs分离方法和单囊泡层级分析方法(即从宏观至微观的程度分析)^[59], 通过单细胞测序、活体动态成像等新型手段^[60], 来揭示EVs在TME中所处的空间位置和时间变化, 分析EVs包装物质以及介导细胞间通讯的具体情况。

从临床转化的角度出发, 未来需要重视的是如何进一步规范EVs作为液体活检标记物的应用, 并且对其液体活检相关标记物进行大规模、多组学的检测与分析; 探索并完善工程化的方式提高EVs的靶向性能及安全性等, 例如运用基因编辑的方法改造膜蛋白, 构建微环境敏感型的药物释放系统^[60]; 进一步挖掘EVs疫苗联合其他疗法的应用潜能, 提高免疫应答的作用机制多样性, 能够更好地打破治疗壁垒^[61]。

未来, EVs研究将以机制探索的系统化框架构建与临床应用的智能化技术落地为核心发展方向。在机制研究层面, 需率先建立EVs亚群的精准分类体系, 在此基础上系统解析不同来源EVs与TME免疫调控网络的动态对应关系; 进一步结合代谢组学与功能验证实验, 揭示EVs参与的肿瘤细胞及基质细胞代谢重编程特异性过程, 并明确其关键分子调控靶标的结合模式与功能效应, 形成“分类—调控—靶标”的系统化机制研究链条。在临床应用层面, 一方面需研发基于TME微环境信号(如酸性pH、特异性蛋白酶、缺氧因子等)的智能响应型EVs药物递送系统, 通过改造EVs表面靶向分子与刺激响应性载体结构, 实现治疗载荷在肿瘤病灶附近的精准富集与可控释放, 降低脱靶效应; 另一方面, 需整合基因组、转录组、蛋白质组等多组学技术挖掘EVs特异性分子标志物, 结合人工智能算法构建多维度诊断模型, 最终形成以EVs标志物为核心的肿瘤早期筛查、分型及疗效评估新范式。多组学技术与AI的交叉应用, 将成为连接EVs基础机制研究与临床智能化应用的关键桥梁, 推动其在肿瘤精准诊疗领域的转化落地。

借助于多学科联合攻关及先进平台技术的支持, EVs或许会成为连接肿瘤发生发展的基础机制和临床实际应用的桥梁。加强EVs相关研究的基础—临床转化的衔接, 设计开展更多合理的前瞻性临床试验。加强对EVs的研究, 可以使肿瘤患者的诊治更加精准和安全, 肿瘤治疗亦可进入到精准免疫

时代。

参考文献

- [1] de Visser K E, Joyce J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell*, 2023, **41**(3): 374-403
- [2] Semeradtova A, Liegertova M, Herma R, *et al.* Extracellular vesicles in cancer's communication: messages we can read and how to answer. *Mol Cancer*, 2025, **24**(1): 86
- [3] van Niel G, Carter D R F, Clayton A, *et al.* Challenges and directions in studying cell-cell communication by extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, **23**(5): 369-382
- [4] Jeppesen D K, Sanchez Z C, Kelley N M, *et al.* Blebbistatins are large, organelle-rich extracellular vesicles with cell-like properties. *Nat Cell Biol*, 2025, **27**(3): 438-448
- [5] Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *J Mol Med (Berl)*, 2013, **91**(4): 431-437
- [6] Liu J, Ren L, Li S, *et al.* The biology, function, and applications of exosomes in cancer. *Acta Pharm Sin B*, 2021, **11**(9): 2783-2797
- [7] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(4): 213-228
- [8] Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*, 2009, **458**(7237): 445-452
- [9] Dixon A C, Dawson T R, Di Vizio D, *et al.* Context-specific regulation of extracellular vesicle biogenesis and cargo selection. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, **24**(7): 454-476
- [10] Wang Z, Xing H, Huang Y, *et al.* Extracellular vesicle-based targeted RNA therapies against cancer. *Extracell Vesicle*, 2025, **6**: 100083
- [11] Cheng L, Hill A F. Therapeutically harnessing extracellular vesicles. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, **21**(5): 379-399
- [12] Xu X, Lai Y, Hua Z C. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*, 2019, **39**(1): BSR20180992
- [13] Théry C, Duban L, Segura E, *et al.* Indirect activation of naïve CD4⁺ T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nat Immunol*, 2002, **3**(12): 1156-1162
- [14] Fabbri M. Natural killer cell-derived vesicular miRNAs: a new anticancer approach?. *Cancer Res*, 2020, **80**(1): 17-22
- [15] Rincón-Riveros A, Lopez L, Villegas E V, *et al.* Regulation of antitumor immune responses by exosomes derived from tumor and immune cells. *Cancers*, 2021, **13**(4): 847
- [16] Hong C S, Sharma P, Yerneni S S, *et al.* Circulating exosomes carrying an immunosuppressive cargo interfere with cellular immunotherapy in acute myeloid leukemia. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 14684
- [17] Coleborn E, Ghebos R, Wolfram J, *et al.* Cancer-derived extracellular vesicles in natural killer cell immune evasion: Molecular mechanisms and therapeutic insights. *Mol Ther*, 2025,

- 33(9):4113-4129
- [18] Hosseini R, Sarvnaz H, Arabpour M, *et al.* Cancer exosomes and natural killer cells dysfunction: biological roles, clinical significance and implications for immunotherapy. *Mol Cancer*, 2022, **21**(1): 15
- [19] Chen W, Huang Y, Han J, *et al.* Immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cells-derived exosome. *Immunol Res*, 2016, **64**(4): 831-840
- [20] Kou M, Huang L, Yang J, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool?. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(7): 580
- [21] Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, *et al.* Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(5): 619-624
- [22] Deep G, Jain A, Kumar A, *et al.* Exosomes secreted by prostate cancer cells under hypoxia promote matrix metalloproteinases activity at pre-metastatic niches. *Mol Carcinog*, 2020, **59**(3): 323-332
- [23] Wan L, Xia T, Du Y, *et al.* Exosomes from activated hepatic stellate cells contain GLUT1 and PKM2: a role for exosomes in metabolic switch of liver nonparenchymal cells. *FASEB J*, 2019, **33**(7): 8530-8542
- [24] Dai J, Escara-Wilke J, Keller J M, *et al.* Primary prostate cancer educates bone stroma through exosomal pyruvate kinase M2 to promote bone metastasis. *J Exp Med*, 2019, **216**(12): 2883-2899
- [25] Lazar I, Clement E, Dauvillier S, *et al.* Adipocyte exosomes promote melanoma aggressiveness through fatty acid oxidation: a novel mechanism linking obesity and cancer. *Cancer Res*, 2016, **76**(14): 4051-4057
- [26] de Bock K, Georgiadou M, Schoors S, *et al.* Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting. *Cell*, 2013, **154**(3): 651-663
- [27] Yang E, Wang X, Gong Z, *et al.* Exosome-mediated metabolic reprogramming: the emerging role in tumor microenvironment remodeling and its influence on cancer progression. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 242
- [28] Yu Z, Yang Y, Fang W, *et al.* Dual tumor exosome biomarker co-recognitions based nanoliquid biopsy for the accurate early diagnosis of pancreatic cancer. *ACS Nano*, 2023, **17**(12): 11384-11395
- [29] Tian F, Zhang S, Liu C, *et al.* Protein analysis of extracellular vesicles to monitor and predict therapeutic response in metastatic breast cancer. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 2536
- [30] Allenson K, Castillo J, San Lucas F A, *et al.* High prevalence of mutant KRAS in circulating exosome-derived DNA from early-stage pancreatic cancer patients. *Ann Oncol*, 2017, **28**(4): 741-747
- [31] Castellanos-Rizaldos E, Grimm D G, Tadiotla V, *et al.* Exosome-based detection of EGFR T790M in plasma from non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(12): 2944-2950
- [32] García-Silva S, Vico-Alonso C, Meyer L, *et al.* Improved sensitivity in BRAFV600E detection in combined tissue and extracellular vesicle-based liquid biopsy in melanoma. *J Invest Dermatol*, 2023, **143**(8): 1606-1610
- [33] Zocco D, Bernardi S, Novelli M, *et al.* Isolation of extracellular vesicles improves the detection of mutant DNA from plasma of metastatic melanoma patients. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 15745
- [34] Brinkman K, Meyer L, Bickel A, *et al.* Extracellular vesicles from plasma have higher tumour RNA fraction than platelets. *J Extracell Vesicles*, 2020, **9**(1): 1741176
- [35] Puhka M, Takatalo M, Nordberg M E, *et al.* Metabolomic profiling of extracellular vesicles and alternative normalization methods reveal enriched metabolites and strategies to study prostate cancer-related changes. *Theranostics*, 2017, **7**(16): 3824-3841
- [36] Ribas A, Wolchok J D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*, 2018, **359**(6382): 1350-1355
- [37] Sharma P, Goswami S, Raychaudhuri D, *et al.* Immune checkpoint therapy-current perspectives and future directions. *Cell*, 2023, **186**(8): 1652-1669
- [38] Wang X, Yang X, Huang C, *et al.* Tumor-derived extracellular vesicle PD-1 promotes tumor immune evasion via disruption of peripheral T cell homeostasis. *Cancer Lett*, 2025, **612**: 217486
- [39] Chen Y, Wang L, Zheng M, *et al.* Engineered extracellular vesicles for concurrent Anti-PDL1 immunotherapy and chemotherapy. *Bioact Mater*, 2022, **9**: 251-265
- [40] Liu H, Huang L, Mao M, *et al.* Viral protein-pseudotyped and siRNA-electroporated extracellular vesicles for cancer immunotherapy. *Adv Funct Mater*, 2020, **30**(52): 2006515
- [41] Veerman R E, Akpınar G G, Offens A, *et al.* Antigen-loaded extracellular vesicles induce responsiveness to anti-PD-1 and anti-PD-L1 treatment in a checkpoint refractory melanoma model. *Cancer Immunol Res*, 2023, **11**(2): 217-227
- [42] Dai S, Wan T, Wang B, *et al.* More efficient induction of HLA-A*0201-restricted and carcinoembryonic antigen (CEA)-specific CTL response by immunization with exosomes prepared from heat-stressed CEA-positive tumor cells. *Clin Cancer Res*, 2005, **11**(20): 7554-7563
- [43] Huang L, Rong Y, Tang X, *et al.* Engineered exosomes as an *in situ* DC-primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer. *Mol Cancer*, 2022, **21**(1): 45
- [44] Zuo B, Qi H, Lu Z, *et al.* Alarmin-painted exosomes elicit persistent antitumor immunity in large established tumors in mice. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1790
- [45] Wang S, Li F, Ye T, *et al.* Macrophage-tumor chimeric exosomes accumulate in lymph node and tumor to activate the immune response and the tumor microenvironment. *Sci Transl Med*, 2021, **13**(615): eabb6981
- [46] Xia J, Miao Y, Wang X, *et al.* Recent progress of dendritic cell-derived exosomes (Dex) as an anti-cancer nanovaccine. *Biomedicine Pharmacother*, 2022, **152**: 113250
- [47] Li J, Li J, Peng Y, *et al.* Dendritic cell derived exosomes loaded neoantigens for personalized cancer immunotherapies. *J Control Release*, 2023, **353**: 423-433
- [48] Xiong X, Ke X, Wang L, *et al.* Neoantigen-based cancer vaccination using chimeric RNA-loaded dendritic cell-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*, 2022, **11**(8): e12243

- [49] Zhu H, Wang K, Wang Z, *et al.* An efficient and safe MUC1-dendritic cell-derived exosome conjugate vaccine elicits potent cellular and humoral immunity and tumor inhibition *in vivo*. *Acta Biomater*, 2022, 138: 491-504
- [50] Yang P, Cao X, Cai H, *et al.* The exosomes derived from CAR-T cell efficiently target mesothelin and reduce triple-negative breast cancer growth. *Cell Immunol*, 2021, 360: 104262
- [51] Lv F, Liu H, Zhao G, *et al.* Therapeutic exosomal vaccine for enhanced cancer immunotherapy by mediating tumor microenvironment. *iScience*, 2022, 25(1): 103639
- [52] Cheng L, Wang Y, Huang L. Exosomes from M1-polarized macrophages potentiate the cancer vaccine by creating a pro-inflammatory microenvironment in the lymph node. *Mol Ther*, 2017, 25(7): 1665-1675
- [53] Cheng K, Zhao R, Li Y, *et al.* Bioengineered bacteria-derived outer membrane vesicles as a versatile antigen display platform for tumor vaccination *via* Plug-and-Display technology. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2041
- [54] Liu M, Hu S, Yan N, *et al.* Inhalable extracellular vesicle delivery of IL-12 mRNA to treat lung cancer and promote systemic immunity. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19(4): 565-575
- [55] Dong S, Liu X, Bi Y, *et al.* Adaptive design of mRNA-loaded extracellular vesicles for targeted immunotherapy of cancer. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6610
- [56] Barnwal A, Ganguly S, Bhattacharyya J. Multifaceted nano-DEV-IL for sustained release of IL-12 to avert the immunosuppressive tumor microenvironment and IL-12-associated toxicities. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(16): 20012-20026
- [57] Zhou W, Zhou Y, Chen X, *et al.* Pancreatic cancer-targeting exosomes for enhancing immunotherapy and reprogramming tumor microenvironment. *Biomaterials*, 2021, 268: 120546
- [58] Zhou X, Miao Y, Wang Y, *et al.* Tumour-derived extracellular vesicle membrane hybrid lipid nanovesicles enhance siRNA delivery by tumour-homing and intracellular freeway transportation. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(3): e12198
- [59] Kang H, Kim J, Park J. Methods to isolate extracellular vesicles for diagnosis. *Micro Nano Syst Lett*, 2017, 5(1): 15
- [60] Xu G, Jin J, Fu Z, *et al.* Extracellular vesicle-based drug overview: research landscape, quality control and nonclinical evaluation strategies. *Sig Transduct Target Ther*, 2025, 10(1): 255
- [61] Buzas E I. The roles of extracellular vesicles in the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(4): 236-250

Regulatory Mechanism of Extracellular Vesicles in The Tumor Immune Microenvironment and Its Application in Diagnosis and Treatment*

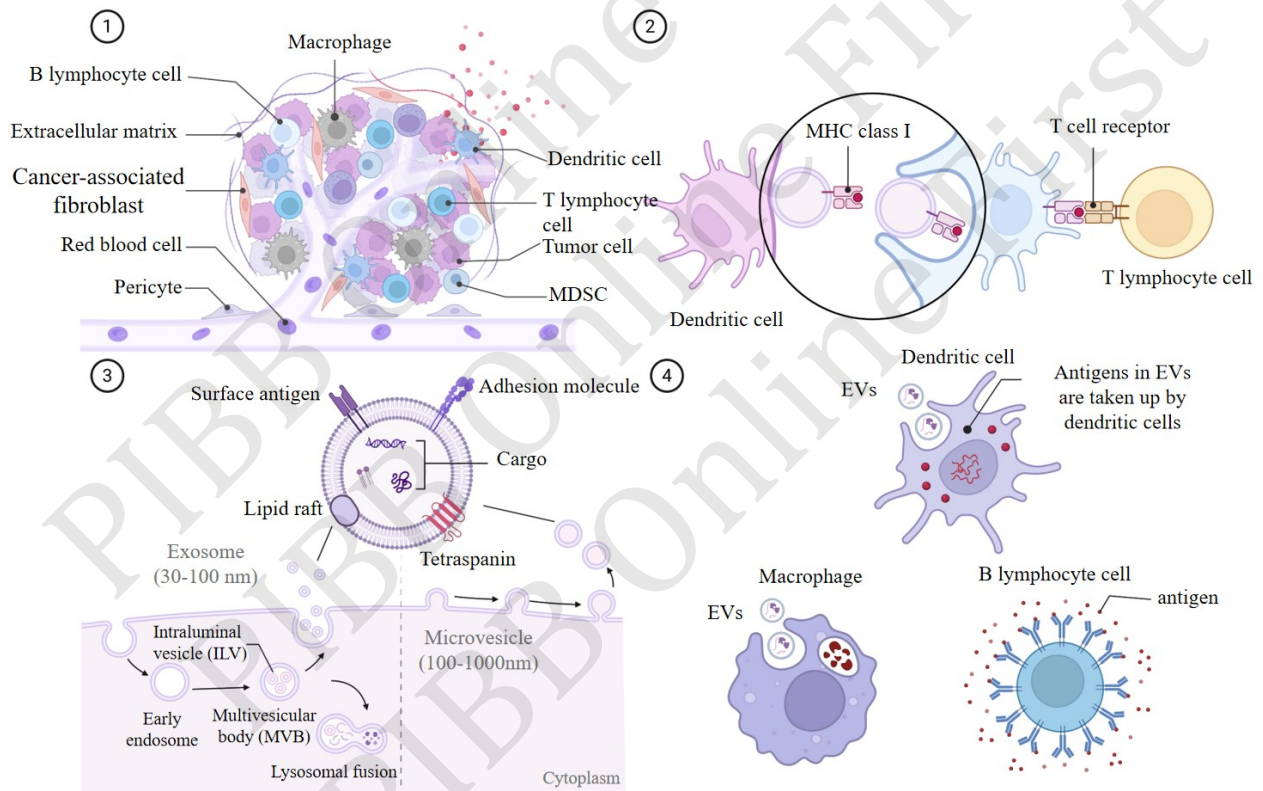
WANG Zi-Qi^{1,3}, WANG Jing², HUANG Yuan-Yu^{1,3}, LU Mei^{1,3}**

⁽¹⁾School of Life Science, School of Interdisciplinary Science, Key Laboratory of Molecular Medicine and Biotherapy, Key Laboratory of Medical Molecule Science and Pharmaceutics Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China;

⁽²⁾State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100871, China;

⁽³⁾Advanced Technology Research Institute, Beijing Institute of Technology, Jinan 250307, China)

Graphical abstract



Abstract Extracellular vesicles (EVs) are pivotal mediators of intercellular communication within the tumor immune microenvironment (TME). They are broadly categorized into exosomes, microvesicles, and apoptotic bodies based on their distinct biogenesis pathways. Exosomes originate from the endosomal system *via* multivesicular body fusion, microvesicles bud directly from the plasma membrane, and apoptotic bodies are released during programmed cell death. By shuttling diverse bioactive cargoes—including proteins, lipids, and nucleic acids such as mRNA, miRNA, and DNA—EVs exert dual modulatory effects on tumor initiation, progression, and immune evasion. Importantly, EVs exhibit remarkable compositional heterogeneity that is intrinsically linked to their cellular origin. Tumor-derived EVs (TDEVs) are typically enriched with immunosuppressive molecules like PD-L1, TGF- β , and miR-21, which promote tumor immune escape and

metastasis. In contrast, EVs derived from immune cells, such as dendritic cells or cytotoxic T lymphocytes, often carry immunostimulatory components including antigens, co-stimulatory molecules, and granzymes, thereby potentiating anti-tumor immunity. This review systematically delineates the biogenesis and molecular composition of EVs, with a particular emphasis on their dynamic regulatory functions within the TME. Specifically, we discuss how EVs mediate intricate crosstalk between immune and tumor cells, facilitating signal transfer that reshapes immune surveillance. For instance, TDEVs can induce macrophage polarization toward an M2-like pro-tumor phenotype, while also suppressing natural killer cell cytotoxicity and dendritic cell maturation. The clinical utility of EV-associated biomarkers in liquid biopsy is increasingly recognized. Circulating EVs carry tumor-specific molecular signatures that mirror the genetic and proteomic alterations of primary tumors, enabling non-invasive early diagnosis, molecular subtyping, and real-time monitoring of therapeutic responses. Their natural biocompatibility, low immunogenicity, and intrinsic ability to traverse biological barriers make them ideal candidates for drug delivery systems. This review explores cutting-edge applications, including the use of EVs in immune checkpoint blockade therapy—for instance, engineered EVs displaying anti-PD-1 antibodies or carrying siRNA to silence immunosuppressive genes. Moreover, EV-based tumor vaccines are being developed, leveraging dendritic cell-derived EVs loaded with tumor antigens to elicit potent T-cell responses. The feasibility of loading EVs with therapeutic molecules such as chemotherapeutic agents, oncolytic viruses, or CRISPR-Cas9 components is also under active investigation. The advent of engineered EVs has further expanded their therapeutic potential. Through surface modification or cargo encapsulation, EVs can be tailored for targeted delivery and controlled release, enhancing precision immunotherapy. However, several hurdles impede clinical translation. Current isolation and purification methods, such as ultracentrifugation and size-exclusion chromatography, suffer from low yield and purity. Distinguishing EV subpopulations remains technically challenging due to overlapping size and marker expression. Moreover, the lack of standardized protocols for EV production, characterization, and quality control poses significant barriers to regulatory approval and clinical adoption. Looking forward, the convergence of multi-omics technologies with artificial intelligence offers a powerful approach to decipher EV heterogeneity and identify robust diagnostic signatures. Machine learning algorithms can integrate proteomic, transcriptomic, and lipidomic data from large patient cohorts to construct predictive models for cancer diagnosis and prognosis. Concurrently, advances in bioengineering are enabling the design of next-generation EVs with enhanced targeting specificity, on-demand drug release, and reduced off-target effects. Future efforts should also focus on establishing Good Manufacturing Practice (GMP) -compliant production processes and conducting rigorous preclinical and clinical evaluations. In summary, this review provides a comprehensive overview of EV biology, their multifaceted roles in the TME, and their transformative potential in cancer diagnostics and therapeutics. By addressing current challenges and leveraging emerging technologies, EV-based strategies are poised to revolutionize precision oncology.

Key words extracellular vesicles, tumor immune microenvironment, immune regulation, tumor vaccine, precision medicine

DOI: 10.3724/j.pibb.20250504

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32371440), the Open Fund of the State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs (KF2025011), the National Key Research & Development Program of China (2023YFC2605000), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2025MS1302).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-68911819, E-mail: lumei@bit.edu.cn

Received: November 13, 2025 Accepted: February 28, 2026