

专题: 创新药物递送与精准治疗策略

· 综述 ·

pH 响应型药物递送系统在肿瘤免疫治疗领域的研究进展

王世豪, 刘力凤, 丁 杨*, 李苏昕**

(中国药科大学药学院药剂系, 南京 211198)

摘要 肿瘤免疫疗法是激活宿主自身免疫系统对抗肿瘤的治疗方式, 已广泛应用于临床, 然而存在响应率低、免疫相关不良事件等缺陷。有别于传统的化学治疗, 免疫治疗的靶标表现出更为广泛的空间异质性, 分布在不同细胞类型及二级细胞器中, 药物分子易产生脱靶与在靶毒性, 极大地影响了治疗的有效性与安全性。由于代谢水平的改变, 肿瘤微环境较正常组织显微酸性, 而细胞内吞途径伴随着质子的进一步泵入, 因此 pH 可以作为理想的选择性刺激条件, 以实现“门控”式的药物精准递释。近年来, pH 响应型材料在肿瘤免疫治疗中被广泛研究, 如高分子聚合物、生物大分子、脂质纳米粒、生物膜、无机纳米粒、金属-有机框架等。本文从不同的载体类型出发, 综述了 pH 响应型肿瘤免疫治疗的研究策略, 为新一代靶向制剂研发提供参考。

关键词 肿瘤; 免疫治疗; 药物递送系统; pH 响应; 靶向

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2024)04-0522-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2024011902

引用本文 王世豪, 刘力凤, 丁杨, 等. pH 响应型药物递送系统在肿瘤免疫治疗领域的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(4): 522 – 529.

Cite this article as: WANG Shihao, LIU Lifeng, DING Yang, *et al.* Research progress of pH-responsive drug delivery systems in cancer immunotherapy[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(4): 522 – 529.

Research progress of pH-responsive drug delivery systems in cancer immunotherapy

WANG Shihao, LIU Lifeng, DING Yang*, LI Suxin**

Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract Cancer immunotherapy, which is an attractive strategy harnessing the host's own immune system to remove tumor cells, has been widely used in clinical practice, yet with low response rate and immune-related adverse events. Unlike traditional chemotherapy, the targets of immunotherapy exhibit high spatial heterogeneity and are distributed in different cell types or secondary organelles, resulting in off-target and on-target toxicity, which greatly reduces the efficacy and safety of treatment. Due to the altered metabolic level, tumor tissues often display a lower pH than normal tissues. In addition, the endocytosis pathway is accompanied by continuous pumping of protons. Therefore, the variation of environmental pH values could serve as an ideal stimulus for precise drug delivery and release. In recent years, pH-responsive materials (e.g., polymers, biomacromolecules, lipid nanoparticles, biofilm, inorganic nanoparticles, and metal-organic frameworks) have been widely investigated in the field of cancer immunotherapy. This paper summarizes recent strategies of pH-responsive drug delivery systems based on different types of carriers, aiming to provide some reference for the design of next

收稿日期 2024-01-19 通信作者 *Tel: 13913882339 E-mail: dydszyzf@163.com

**Tel: 17602526496 E-mail: Suxin.Li@cpu.edu.cn

generation of tumor-targeting formulations in cancer immunotherapy.
Key words tumor; immunotherapy; drug delivery system; pH-responsive; targeted delivery

与手术切除、化疗、放疗等直接杀伤肿瘤细胞的传统治疗策略相比,免疫治疗通过激活宿主自身的免疫系统对抗肿瘤,逐渐成为临床治疗中最有前景的方式之一^[1]。免疫治疗可针对“肿瘤-免疫”循环的不同阶段发挥抗肿瘤作用,例如使用肿瘤疫苗、免疫佐剂、免疫检查点抑制剂等,以增强抗原递呈、细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cell, CTL)激活以及恢复和维持 CTL 的杀伤性能^[2]。然而部分免疫治疗药物在临床前和临床试验中仍然表现出一些瓶颈问题,例如半衰期短、酶降解、免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)衍生的免疫相关不良事件(immune-related adverse events, irAEs)等^[3]。因此,迫切需要一种精准递送策略以增强免疫药物在靶标部位的积累与释放,在诱导特异性抗肿瘤免疫反应的同时,减小对正常组织的损伤,并且能有效抑制肿瘤的复发和转移^[4-6]。

环境响应型纳米递送系统可以针对肿瘤微环境的病理特点实现药物在肿瘤组织、特定细胞类型、或二级细胞器中的靶向释放,最大限度地减少对健康组织和正常免疫细胞的损伤,避免严重的毒副作用^[5]。肿瘤细胞由于代谢旺盛,即使在有氧环境中也更倾向于通过糖酵解的方式供能(即 Warburg 效应),生成大量代谢产物乳酸^[7],因此与正常组织间液 pH 7.4 相比,实体瘤中细胞外液环境的 pH 更低,为 pH 5.7~6.8。细胞内含体/溶酶体也

在进展过程中酸度不断增加,在晚期溶酶体中 pH 低至 pH 4.5~5.5^[8]。上述 pH 差异是触发环境响应型载体释药的理想条件。目前, pH 响应型药物递送系统已经被广泛研究,如高分子聚合物、生物大分子、脂质体/脂质纳米粒、金属有机框架、无机材料以及无载体递送系统等。本文根据不同载体材料类型,总结了 pH 响应型肿瘤靶向递送系统的设计策略,对其在肿瘤免疫治疗方面的应用进行了综述,并探讨了不同递送材料的优势和应用(表 1),为精准靶向抗肿瘤递送系统的研发提供参考。

1 高分子聚合物

高分子聚合物易于合成、改性灵活,被广泛应用于药物递送中。其中叔胺官能团在酸性 pH 中发生可逆质子化并带正电,因此含有叔胺结构的聚合物是 pH 响应型、电荷可转换的理想药物递送材料;席夫碱可以在较低 pH 下发生不可逆水解产生胺进而被质子化,因此也可用于合成 pH 响应型聚合物的前体材料^[29]。除了聚合物胺基的质子化外,酸度的增加还可能导致酯、缩酮、缩醛和酰胺键等共价键的断裂而引起载药纳米载体的理化性质发生改变^[30]。

一些化疗药物除了依靠细胞毒性作用杀伤肿瘤细胞外,还可通过诱导细胞发生免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)而引起机体抗肿瘤

表 1 pH 响应型药物递送系统的类型及其优缺点

| 载体类型 | 优势 | 缺点 | 代表性设计 | 响应原理 |
|-----------|------------------|---------------|--|----------------------------|
| 高分子聚合物 | 易于合成、改性灵活 | 降解困难、免疫原性 | PAMAM ^[9] 、PDPA ^[10] | 叔胺质子化 |
| 生物大分子 | 生物相容性高 | 稳定性低、成本高 | 壳聚糖外壳 ^[11] 牛血清白蛋白外壳 ^[12] DNA四面体 ^[13] | 羟基/氨基质子化 溶酶体降解 酰胺键断裂 |
| 脂质体/脂质纳米粒 | 生物相容性高 | 载药量低 | DOPE脂质体 ^[14] β葡聚糖脂质体 ^[15] PEI脂质纳米粒 ^[16] | 磷酸乙醇胺质子化 羟基质子化 叔胺质子化 |
| 生物膜 | 同源靶向性、可逃避免疫系统的清除 | 生物安全性尚不明确、异质性 | 细胞膜 ^[17] 外泌体 ^[18] | 酸响应涨破 苯甲酸亚胺键断裂 |
| 无机材料 | 高稳定性、载药量高 | 不易代谢与清除 | MSN包裹聚合物外壳 ^[19] MnO ₂ ^[20] 、CaCO ₃ ^[21] | 叔胺质子化 酸响应化学分解 |
| 金属-有机框架 | 结构灵活可调、具有免疫活性 | 生物安全性尚不明确 | ZIF-8 ^[22] 、MOF-5 ^[23] 、铁基MOF ^[24] 、 锰基MOF ^[25] | 有机配体质子化 |
| 无载体递送系统 | 载药量高 | 药物易泄漏和降解 | 多肽/抗体-药物偶联物 ^[26] 光敏剂-药物偶联物 ^[27] 佐剂-抗原自组装 ^[28] | 胺键断裂 胺键断裂 非共价结合减弱 |

免疫反应。ICD 以钙网蛋白(calreticulin, CRT)暴露、高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)释放和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)分泌为主要特征,是增加免疫细胞在肿瘤部位浸润的重要方法。Xia 等^[9]通过 pH 敏感胺键将阿霉素(doxorubicin, Dox)缀合在氨基封端的聚酰胺树枝状聚合物 PAMAM,通过静电吸附将免疫佐剂(CpG ODN)负载到纳米制剂上,纳米制剂进一步用低分子量肝素(low molecular weight heparin, LMWH)进行修饰,以防止被网状内皮系统吸收。在肿瘤微环境中,纳米颗粒(LMWH/PPD/CpG)胺键断裂,释放 CpG ODN 和 Dox。LMWH/PPD/CpG 治疗的小鼠肿瘤切片的免疫组织化学染色显示 CRT 的暴露和 HMGB1 的释放,表明 pH 响应型纳米颗粒与化疗药物和免疫佐剂共同诱导 ICD,并成功地诱导树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟以及激活针对肿瘤的特异性 CTL 反应。

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)在肿瘤抗原清除和塑造免疫微环境中发挥着关键作用,相较于抗肿瘤的 M1 型 TAM, M2 型 TAM 的溶酶体酸度更强、蛋白酶活性更高,限制了有效的抗原交叉提呈。为了选择性抑制 M2 型 TAM 的促肿瘤活性, Tang 等^[31]利用 pH 超敏聚合物胶束负载咪唑喹啉(imidazoquinolinone, IMDQ)设计了一种 pH 门控纳米佐剂,选择性地在肿瘤 M2-TAMs 的溶酶体中响应低至 pH 4.4,聚合物疏水端的叔胺吸收质子而使胶束解散,释放 IMDQ 同时碱化溶酶体酸度,使 M2-TAM 转化为 M1-TAM,促进抗原交叉呈递并激发适应性肿瘤免疫。

利用聚合物制备纳米制剂共同递送抗原和佐剂的策略具有多种优势:(1)将抗原和佐剂负载在纳米颗粒中可以避免在被抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APCs)摄取之前降解;(2)抗原和佐剂共刺激可以引起更有效的免疫反应;(3)一定尺寸范围的纳米制剂具有淋巴结引流的内在特征,并可通过适当的修饰来增强 APC 摄取。当具有 pH 响应键或基团的聚合物被 APC 摄取并对溶酶体的低 pH 响应时,可帮助所载抗原和佐剂实现溶酶体逃逸,从而进入细胞质中与靶标作用^[32]。在 Su 等^[10]的研究中, pH 响应型聚[2-(二异丙氨基)乙基甲基丙烯酸酯](PDPA)被设计为纳米颗粒的疏

水核心,通过疏水-疏水相互作用封装新抗原。当被抗原呈递细胞摄取时, pH 敏感的 PDPA 在溶酶体酸性环境中质子化,导致纳米粒解散和溶酶体破裂,新抗原从其内部释放。同时,共同递送的 cGAMP 通过激活干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)信号通路刺激 IFN-I 炎症反应,并促进新抗原的交叉呈递,引起有效且持久的新抗原特异性 T 细胞免疫反应。

2 生物大分子

生物大分子如蛋白、核酸、多糖等不仅可以作为纳米药物递送系统(drug delivery system, DDS)的功能部分,还可以作为载体进行药物递送。其中,壳聚糖包被的 DDS 在弱酸性(pH<6.5)条件下表现出加速药物释放的性质,是靶向酸性 TME 的优良材料。Guo 等^[11]通过双乳液溶剂蒸发法合成了包裹 IFN- γ 、Gox、siPD-L1 的 PLGA 纳米颗粒,然后在表面涂覆壳聚糖(IFN-G-siRNA-PCS NPs),3 种治疗剂在 pH 6.5 时快速释放。在 MC38 结肠癌荷瘤小鼠模型中, IFN-G-siRNA-PCS NPs 相较于其他对照组最大程度地抑制了肿瘤生长,且肿瘤浸润 CD8⁺ T 细胞比例从 34.5% 显著增加至 58.1%,制剂明显改善肿瘤免疫抑制性 TME。

牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)具有提高载体稳定性、延长药物半衰期、降低药物毒性、提高疗效、克服血脑屏障等多种重要作用,同时白蛋白具有丰富的功能基团和许多疏水结合位点,是功能化修饰的理想材料^[12]。Cen 等^[33]通过自组装方法制备了 ZnS@BSA 纳米簇, BSA 在酸性溶酶体中部分降解暴露 ZnS, ZnS 进一步响应低 pH 而释放锌离子,通过破坏线粒体并释放线粒体 DNA 而激活 cGAS/STING 信号通路, ZnS@BSA 产生的硫化氢气体通过抑制肝癌细胞中的过氧化氢酶促进活性氧的产生。纳米团簇在 Hepa1-6 肝癌小鼠模型中显著抑制肿瘤生长,肿瘤中浸润的 CD8⁺ T 细胞和淋巴结中的 DC 分别增加了 25% 和 10%,在小鼠原位肿瘤的对侧再次接种 Hepa1-6 后,肿瘤依然受到最大程度抑制,表明 ZnS@BSA 在接受治疗的小鼠体内引起了有效的免疫记忆效应。

Fan 等^[13]开发了一种 pH 响应型四面体 DNA 纳米递送系统,可同时递送免疫调节剂 CpG ODN 和 PD-L1 拮抗性 DNA 适体(CP@TDN),核酸基序

结构对酸性具有超敏感特性, 可以实现可逆的 pH 响应, 吸入递送方式显示出高效的肺部肿瘤内的积累。通过精确控制 CpG 和 PD-L1 适体的比例, 获得的 CP@TDN 可以在酸性肿瘤微环境中特异性释放 PD-L1 适体来阻断 PD-1/PD-L1, 然后被 APC 胞吞, APC 被 CpG ODN 激活并分泌白介素 (interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-12 和 IFN- γ 等促炎细胞因子, 引发强大的抗肿瘤免疫并抑制转移性肺肿瘤的生长。

3 脂质体/脂质纳米粒

一些小分子药物的低水溶性阻碍了其在临床癌症治疗中的应用, 而脂质体能够通过将难溶性药物封装在其疏水层中提高药物水溶性。含有抗原蛋白或肽的 pH 响应型脂质体可以实现抗原向 APC 的选择性递送和胞内释放, 从而促进抗原特异性细胞免疫。Yuba 等^[15] 制备了一种 pH 响应型脂质体 OVA 疫苗, 通过掺入阳离子脂质增加了 pH 响应型羧化 β -葡聚糖和 Toll 样受体 9 (toll-like receptor 9, TLR9) 激动剂 (CpG-ODN) 的负载。脂质体在 E.G7-OVA 荷瘤小鼠体内表现出显著肿瘤生长抑制, 且在两次注射后肿瘤组织中 IL-6、IL-12 含量明显增加, M1-TAM 与 M2-TAM 比例增加约 30%, 改善了免疫抑制型肿瘤微环境。

Li 等^[14] 构建了一种 pH 响应型纳米脂质体 (DP/R/L@Lip), 在亲水层负载免疫佐剂 R848 和血管紧张素 II 受体拮抗剂氯沙坦 (losartan, LOS), 同时在疏水核心包载 ICD 诱导剂 Dox。在 pH 5.0 和 GSH 存在的条件下, 含有 DOPE 的脂质膜破裂, 3 种药物 12 h 释放量超过 60%。在 4T1 乳腺癌小鼠模型上, DP/R/L@Lip 的肿瘤抑制率达到 90.44%, 由于 Dox 的 ICD 诱导作用和 R848 的 TLR 激动性, 淋巴结中成熟 DC 比例比对照组高约 3.5 倍, CD8⁺ T 细胞比例从 8.9% 增加至 31%。

脂质纳米粒 (lipid nanoparticle, LNP) 是脂质载体给药系统中的另一种重要的制剂形式, 封装在 LNP 中的核酸在传递过程中受到保护, 不受酶降解, 并被有效地传递到细胞质中。Yang 等^[16] 制备了负载 PD-L1-siRNA 和表皮生长因子 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 短肽抗原的 LNP (EPV-PEI-LP-siRNA), 在酸性条件下聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI) 中的叔胺基团发生质子化, 脂质纳米粒的正电性降低, PEI-LNP 纳米载体与

siRNA 之间的静电相互作用减弱, 导致药物释放, 在 pH 5 的酸性条件下, siRNA 的 20 h 释放率达 90%。EPV-PEI-LP-siRNA 处理的 A549 细胞中 PD-L1 蛋白量降低约 80%, 并在 A549/T 细胞共培养体系中检测到 IFN- γ 和 TNF- α 水平显著升高, 而免疫抑制性细胞因子 IL-10 水平显著降低。

4 生物膜

通过对纳米药物递送系统 (nano-drug delivery system, NDDS) 表面进行适当的修饰, 可以延长药物的体内循环时间, 增强肿瘤靶向性、肿瘤微环境响应性, 生物膜伪装技术使其纳米制剂具有免疫逃逸作用, 能够减少血液清除而被广泛应用。Gong 等^[17] 使用混合仿生膜 (来自巨噬细胞和癌细胞) 开发了一种 pH 响应型共递送平台, 用于共递送免疫代谢调节剂二甲双胍 (metformin, Met) 和纤维蛋白原样蛋白 1 的小干扰 RNA (siFGL1)。为了帮助 siRNA 的溶酶体逃逸以实现有效的胞质 siRNA 递送, 使用 Met 的胍基与 CO₂ 通过 pH 触发的可逆反应生成 Met-CO₂, 当纳米制剂进入溶酶体时响应低 pH 释放 CO₂ 以帮助 siFGL1 溶酶体逃逸, 对 4T1 荷瘤小鼠给药后, 肿瘤抑制率达到 97.3%, 并延长小鼠的生存期近 40 d, 肿瘤中 CD8⁺ T 细胞比例从 10.8% 增加至 25.4%, 肿瘤内 IFN- γ 和 IL-2 含量增加了 3 倍以上。

外泌体是细胞分泌的一种胞外囊泡, 直径 30~100 nm, 具有磷脂双分子层结构, 可携带蛋白质和核酸在细胞间发挥物质传递、信息沟通的作用。Zhang 等^[18] 开发了来源于甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 过表达巨噬细胞的工程微粒 (microparticles, MP), 以负载雷西莫德 (R848@M2pep-MPs_{AFP}), 增强 HCC 肝癌的抗 PD-1 治疗, 表面修饰的 M2pep 肽增强了制剂对 M2 型 TAM 的靶向作用。R848@M2pep-MPs_{AFP} 在中性磷酸盐缓冲液中保持稳定, 在 pH 4.5 时表现出药物持续释放, 制剂在 Hepa1-6 荷瘤小鼠体内靶向 M2 型 TAM 并将其重编程为 M1 表型, 同时呈递 AFP 抗原以激活抗原特异性 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤免疫, GZMB⁺ 和 IFN- γ ⁺ CD8⁺ T 数量增加 10 倍以上, 75% 的小鼠在接受 R848@M2pep-MPs_{AFP} 治疗后肿瘤完全消退。

5 无机纳米粒

无机载体凭借稳定性高的优点被广泛关注, 如

金纳米粒^[34]、介孔二氧化硅纳米粒^[35]和其他无机载体^[36]。纳米结构的 MnO_2 可通过与 TME 内存在的 H^+ 反应而分解, 产生无害的水溶性 Mn^{2+} , 随后迅速通过肾脏排出体外, 因此与其他不可生物降解的无机纳米材料相比, MnO_2 不存在长期毒性问题。Yang 等^[20] 设计了一种基于中空介孔 $\text{MnO}_2(\text{H-MnO}_2)$ 药物递送平台, 中空结构 H-MnO_2 通过 PEG 功能化得到 $\text{H-MnO}_2\text{-PEG}$ 纳米粒子, 具有良好的生理稳定性。光敏剂氯 e6(Ce6) 和抗癌药物 Dox 被共同负载到这种具有高载药能力的 $\text{HMnO}_2\text{-PEG}$ 纳米平台中 ($\text{H-MnO}_2\text{-PEG/C\&D}$)。在酸性 pH 下, MnO_2 快速分解释放所负载药物, 其分解产生的 Mn^{2+} 触发肿瘤内源性 H_2O_2 原位产生氧气, 抑制缺氧造成的 Treg 浸润和巨噬细胞的 M2 型极化, 增加肿瘤部位 CTLs 浸润和 $\text{IFN-}\gamma$ 的分泌。

Li 等^[21] 基于 Ca^{2+} 设计了一种酸可激活的免疫纳米制剂, 用于激活 T 细胞以增强免疫治疗。在该系统 (CaIPC) 中, 纳米制剂由 CaCO_3 作为基质, 负载 IDO 小分子抑制剂 (IDOi) 并用 CpG ODN 进行功能化。CaIPC 纳米粒子在 pH 6.5 条件下 2 h 后逐渐解体, CaCO_3 分解释放出 CpG ODN、IDOi 和 Ca^{2+} , CpG ODNs 作为免疫刺激佐剂促进树突状细胞成熟, 进而将抗原呈递给 T 细胞; IDOi 抑制 Trp 氧化分解为 Kyn, 防止 T 细胞无反应和凋亡。与单体药物相比, 多组分协同免疫纳米药物的肿瘤抑制率超过 90%, 并且表现出良好的长期免疫记忆效应, 可以防止肿瘤复发。

介孔二氧化硅纳米颗粒 (mesoporous silicon nanocarrier, MSNs) 是新一代无机 DDS, 具有高物理化学稳定性, 较大的孔体积和比表面积使其具有高载药量, 改善了药物溶解度和生物利用度, 因此, 将药物封装在 MSN 中可改善药物的理化性质并增强其治疗效果, MSNs 的表面改性使其可对不同刺激做出响应, 从而实现药物的可控释放^[37]。Zheng 等^[19] 开发了一种多功能纳米制剂 (MFNM), 内部核心是负载小分子药物的 MSN, 外壳由一层 pH 响应型聚合物 PC7A 网络组成, 控制 MSN 携带的小分子药物的响应释放, 并提供易于抗体修饰的活性位点。在这项研究中, 利用核心负载环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX), 在表面缀合 $\alpha\text{PD-L1}$ 和 $\alpha 4\text{-1BB}(\text{CD137L})$ 的单克隆抗体来激活 TME 中的 CTLs。制剂到达肿瘤酸性 TME 后, PC7A 壳的质

子化导致 CTX 的释放, 表面的 $\alpha\text{PD-L1}$ mAbs 阻断了 PD-1/PD-L1 相互作用, 防止 T 细胞耗竭, 而 $\alpha 4\text{-1BB}$ mAbs 可以激活 T 细胞的信号级联反应, 从而增强 T 细胞的活化。考虑到肿瘤类型的多样性, 可以通过改变抗体和小分子药物来针对不同肿瘤进行制剂改进, 因此, MFNM 为开发需要同时调节多个生物过程的免疫疗法提供了一个可行的平台。

6 金属-有机框架

虽然无机 DDS 已被证明具有很强的稳定性、可控的药物释放和高载药量, 但其在体内存在不易代谢与清除的隐患^[38]。金属有机配位材料是有机-无机杂化材料中的一类重要材料, 其结合了金属粒子的免疫活性和有机材料的可修饰性, 并可以通过调节超分子结构以响应环境刺激来实现多种功能, 如金属有机框架 (metal organic frameworks, MOF) 是由金属离子和有机配体通过配位键桥接成多孔二维或三维结构, 多孔结构与高比表面积使其成为药物递送的优良候选材料^[39, 40]。

Zhang 等^[22] 通过将 CpG ODN 封装到沸石咪唑骨架-8 (zeolitic imidazolate framework-8, ZIF-8) 纳米颗粒中构建了新型 CpG ODN 递送系统。ZIF-8 由于多孔结构而具有高 CpG ODN 负载能力。ZIF-8/CpG ODN 复合物在生理环境中表现出良好的稳定性, 但在溶酶体的酸性条件下, 锌离子和咪唑基团之间的配位键断裂, 有效释放 CpG ODN 以刺激溶酶体内的 TLR-9。体外和体内细胞因子测定表明, ZIF-8/CpG ODN 复合物诱导更多的细胞因子分泌, 并表现出有效的免疫刺激活性。

MOF-5 以 Zn^{2+} 为金属离子、1,4-苯二甲酸 (BDC) 为配体, 由于其酸响应降解性质而被应用于抗肿瘤药物输送。MOF-5 内的 Zn^{2+} 可诱导线粒体功能障碍并激活内质网应激, 具有诱导 ICD 的功能。Dai 等^[23] 设计了一种含有 Gd^{3+} 和 Zn^{2+} 的双金属 MOF 纳米颗粒 (Gd-MOF-5), 具有酸响应降解性的 Gd-MOF-5 纳米粒子成功地将 Gd^{3+} 和 Zn^{2+} 传递到癌细胞细胞质中, Gd^{3+} 与 Ca^{2+} 竞争结合跨膜蛋白 16F, 从而抑制磷脂酰丝氨酸外翻; 大量 Zn^{2+} 导致线粒体功能障碍, 激活内质网应激并破坏细胞钙稳态, 引起肿瘤细胞 ICD, 显著改善癌症免疫治疗的效果。在 4T1 荷瘤小鼠模型中, Gd-MOF-5 治疗增加了肿瘤中 DC 的成熟, 进而引起 T 细胞浸润增

加, $CD4^+$ T 和 $CD8^+$ T 细胞的比例相对于未给药组均增加了 3 倍左右。

铁死亡是一种铁依赖性的细胞程序性死亡方式, 较凋亡、坏死、自噬等死亡方式具有更强的 ICD 效应^[41-42]。诱导有效的铁死亡关键在于提高细胞内铁水平, 这需要高效的铁元素供应, 铁基 MOF 因含铁量高和多孔结构而成为理想的铁供体和药物递送系统。转铁蛋白是一种在肿瘤细胞表面高表达的铁转运糖蛋白, 可通过转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 介导的内吞作用将铁整合到细胞中, 含铁 MOF 和转铁蛋白的组合可增强铁的内吞作用。Xu 等^[24]提出了一种 pH 响应型纳米系统来实现铁死亡/焦亡介导的抗癌作用, 纳米药物 (Tf-LipoMof@PL) 由负载胡椒碱 (Piper nigrum L, PL) 的铁基 MOF 构建, 并涂有转铁蛋白修饰的 pH 敏感脂质层。含铁 MOF 为诱导铁死亡提供丰富的铁, 转铁蛋白修饰的脂质层可进一步促进其内吞作用, 为铁死亡和细胞焦亡的发生提供了先决条件, PL 可诱导肿瘤细胞铁死亡, 并产生 H_2O_2 用于通过芬顿反应增加胞内 ROS。纳米药物在异种移植小鼠模型中表现出理想的抗癌效果, 证明铁死亡/焦亡双诱导纳米平台是一种有效的抗癌方式。

Xu 等^[25]通过简单的一步程序整合氯化锰四水合物 ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)、2-甲基咪唑和重楼皂苷 I (polyphyllin I, PPI), 然后用红细胞 (red blood cell, RBC) 膜包被, 制备了有良好生物相容性的锰基 MOF (RBC@Mn-MOF/PPI), 最大限度地提高 STING 激动剂 (PPI 和 Mn^{2+}) 的治疗效果并降低全身毒性。仿生 RBC@Mn-MOF/PPI 伪装成内源性物质以避免免疫系统的识别和清除, 当到达酸性肿瘤微环境时 Mn-MOF/PPI 的解体加速, PPI 和 Mn^{2+} 通过 cGAS/STING 途径促进 DC 成熟、CTL 浸润和自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 招募, 帮助将冷肿瘤转化为热肿瘤, 从而减少原发性和远端肿瘤生长并抑制了约 50% 的肿瘤肺转移。

7 无载体递送系统

无载体纳米前药可经实体瘤的高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR) 蓄积于肿瘤部位, 同时兼具超高载药量和药物控释等优点, 作为新兴的药物递送系统受到广泛

关注。

单克隆抗体可精确靶向肿瘤表面抗原而抑制或激活相应靶点, 然而, 由于对癌细胞的直接杀伤力较弱, 单独使用单克隆抗体的治疗往往效果不佳; 化疗药物具有强细胞毒性, 但全身分布往往造成严重的系统毒性, 因此将抗体与化疗药物结合是理想的癌症治疗策略。抗体-药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADC) 由单克隆抗体 (monoclonal antibody, mAb)、化疗药物以及二者的连接体组成, 结合了 mAb 高度特异性靶向能力和化药的强效杀伤优点, 实现精准高效消灭癌细胞, 已成为抗癌药物研发的热点之一。ADC 中的连接体与 ADC 的稳定性和适时释放密切相关, 对于 ADC 的最终疗效至关重要。脲是典型的酸敏感连接体, 其连接的 ADC 通常在血液循环中保持稳定, 但在内化到目标癌细胞后会响应溶酶体低 pH 较快水解, 释放化疗药物^[43]。Lin 等^[26]合成了含有反式环辛烯 TCO 基团的前药 TCO-Dox 以暂时屏蔽 Dox 的毒性, 屏蔽作用可通过 3,6-二甲基-1,2,4,5-四嗪 (Me_2Tz) 释放 Dox 的游离胺而解除, 通过含脲键接头将 TCO-Dox 与 Her2 的人源化单克隆抗体曲妥珠单抗连接, 形成 pH 敏感型 ADC (TCO-Dox-Ab), 在 $Her2^+$ MDA-MB-231 肿瘤异种移植小鼠上验证其药效, TCO-Dox-Ab 和 Me_2Tz 联合使用时表现出最明显的肿瘤抑制效果, 并且明显降低了 Dox 对正常组织的毒性。

尽管纳米疫苗有一定治疗效果, 但仍存在一些局限性: 如载体材料毒性、载体免疫原性、抗原负载不足、抗原暴露受阻等。Zeng 等^[28]提出了一种 2' 氟化 CpG (2'-F-CpG) 与黑色素瘤新抗原肽 (Obs11) 直接自组装的无载体纳米疫苗创新策略。该纳米疫苗仅由免疫佐剂和新抗原组成, 具有高度生物相容性和抗原含量, 有助于提高 APC 的摄取并增强有效的抗原交叉呈递。纳米疫苗在体外可刺激 $CD80^+$ $CD86^+$ 骨髓来源树突状细胞 (bone marrow-derived dendritic cells, BMDCs) 成熟比例增加约 40%, 其培养液上清中 TNF- α 、IL-6、IL-12 含量显著增加, B16F10 黑色素瘤荷瘤小鼠在纳米疫苗治疗后生存期明显延长。

Dox 与 ICG 联合应用可实现化疗与光动力治疗的双重作用。Jin 等^[27]将 Dox 与 ICG 通过 pH 敏感脲键连接后形成 Dox-ICG, 缀合物在 pH 7.4 下相

对稳定, 36 h 内释放的 Dox 小于 10%, 而在 pH 5.0 和 pH 6.5 时, Dox-ICG 缀合物释放的 Dox 明显增加, 在 4T1 荷瘤小鼠体内显示出强烈的抗肿瘤作用, 肿瘤 ICD 显著增强。将 PD-L1 小分子抑制剂 BMS 202 负载到 Dox-ICG 上后, 对小鼠主要脏器无毒性作用, 与使用单一药物相比, 用 Dox-ICG-BMS 202 治疗显著抑制了原发性肿瘤的生长并减少了肺转移, CD8⁺ T 和 CD4⁺ T 的比例比未治疗组分别高 3.7 倍和 6.9 倍, 免疫刺激细胞因子 (IFN- γ 、TNF- α 和 IL-12) 的浓度均增加 5 倍以上。

8 结语与展望

肿瘤免疫疗法通过调动患者自身免疫系统功能清除癌细胞, 具有广阔的应用前景, 但受到患者响应率有限、特异性低、免疫相关不良事件等限制。pH 响应型纳米递药系统可以有效减少药物在循环中的泄漏以及在正常组织中的分布, 使药物选择性地作用于肿瘤微环境中的靶细胞表面受体或细胞内部级联信号通路, 从而改善肿瘤免疫治疗效果并降低毒副作用。不同的 pH 敏感型递送载体具有各自独特的优势, 如有机聚合物的易于修饰、无机材料的高稳定性、生物大分子的生物相容性、脂质体/脂质纳米粒对难溶药物溶解度的提升、生物膜载体的靶向性和逃避免疫系统清除的性质、MOF 材料的结构灵活可调、无载体系统的高载药量等。然而, 响应型纳米制剂的制备过程相对烦琐、成本较高, 因此在临床转化中仍存在一定的挑战, 急需开发可用于快速制备和表征的现代化仪器与符合 GMP 生产条件的可放大生产体系。此外, 不同患者或不同肿瘤类型的 pH 异质性可能会限制 pH 响应型制剂的广泛应用, 针对此可以开发诊疗一体化制剂体系以实现个性化肿瘤免疫治疗, 或在 pH 基础上结合肿瘤微环境的其他特点 (如氧化还原水平、酶等), 开发“与”“或”“非”等释药更加精准的“门控式”递释系统。

References

- [1] Jhunjhunwala S, Hammer C, Delamarre L. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, **21**(5): 298-312.
- [2] Sharma P, Goswami S, Raychaudhuri D, et al. Immune checkpoint therapy-current perspectives and future directions[J]. *Cell*, 2023, **186**(8): 1652-1669.
- [3] Ramos-Casals M, Brahmer JR, Callahan MK, et al. Immune-related adverse events of checkpoint inhibitors[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, **6**(1): 38.
- [4] Xiao Y, Zhang T, Ma XB, et al. Microenvironment-responsive prodrug-induced pyroptosis boosts cancer immunotherapy[J]. *Adv Sci*, 2021, **8**(24): e2101840.
- [5] Wang YL, Khan A, Liu YX, et al. Chitosan oligosaccharide-based dual pH responsive nano-micelles for targeted delivery of hydrophobic drugs[J]. *Carbohydr Polym*, 2019, **223**: 115061.
- [6] Jiang DD, Gao T, Liang S, et al. Lymph node delivery strategy enables the activation of cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells to augment cancer immunotherapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, **13**(19): 22213-22224.
- [7] Cappellesso F, Orban MP, Shirgaonkar N, et al. Targeting the bicarbonate transporter SLC4A4 overcomes immunosuppression and immunotherapy resistance in pancreatic cancer[J]. *Nat Cancer*, 2022, **3**(12): 1464-1483.
- [8] Luo L, Xu FS, Peng HL, et al. Stimuli-responsive polymeric prodrug-based nanomedicine delivering nifuroxazide and doxorubicin against primary breast cancer and pulmonary metastasis[J]. *J Control Release*, 2020, **318**: 124-135.
- [9] Xia CY, Yin S, Xu SS, et al. Low molecular weight heparin-coated and dendrimer-based core-shell nanoplateform with enhanced immune activation and multiple anti-metastatic effects for melanoma treatment[J]. *Theranostics*, 2019, **9**(2): 337-354.
- [10] Su T, Cheng FR, Qi JL, et al. Responsive multivesicular polymeric nanovaccines that codeliver STING agonists and neoantigens for combination tumor immunotherapy[J]. *Adv Sci*, 2022, **9**(23): e2201895.
- [11] Guo K, Liu YX, Ding M, et al. Enhanced drug release from a pH-responsive nanocarrier can augment colon cancer treatment by blocking PD-L1 checkpoint and consuming tumor glucose[J]. *Mater Des*, 2022, **219**: 110824.
- [12] Li C, Wang X, Song H, et al. Current multifunctional albumin-based nanoplateforms for cancer multi-mode therapy[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2020, **15**(1): 1-12.
- [13] Fan Q, Li ZH, Yin J, et al. Inhalable pH-responsive DNA tetrahedron nanoplateform for boosting anti-tumor immune responses against metastatic lung cancer[J]. *Biomaterials*, 2023, **301**: 122283.
- [14] Li XY, Luo Y, Huang ZJ, et al. Multifunctional liposomes remodeling tumor immune microenvironment for tumor chemioimmunotherapy[J]. *Small Methods*, 2023, **7**(5): e2201327.
- [15] Yuba, Kado Y, Kasho N, et al. Cationic lipid potentiated the adjuvanticity of polysaccharide derivative-modified liposome vaccines[J]. *J Control Release*, 2023, **362**: 767-776.
- [16] Yang GX, Zhou D, Dai Y, et al. Construction of PEI-EGFR-

- PD-L1-siRNA dual functional nano-vaccine and therapeutic efficacy evaluation for lung cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2022, **13**(21): 2941-2950.
- [17] Gong CN, Yu XY, Zhang W, *et al.* Regulating the immunosuppressive tumor microenvironment to enhance breast cancer immunotherapy using pH-responsive hybrid membrane-coated nanoparticles[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, **19**(1): 58.
- [18] Zhang XQ, Wei ZH, Yong TY, *et al.* Cell microparticles loaded with tumor antigen and resiquimod reprogram tumor-associated macrophages and promote stem-like CD8⁺ T cells to boost anti-PD-1 therapy[J]. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 5653.
- [19] Zheng YD, Zhang ZZ, Liu Q, *et al.* Multifunctional nanomodulators regulate multiple pathways to enhance antitumor immunity[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, **3**(7): 4635-4642.
- [20] Yang GB, Xu LG, Chao Y, *et al.* Hollow MnO₂ as a tumor-microenvironment-responsive biodegradable nano-platform for combination therapy favoring antitumor immune responses[J]. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 902.
- [21] Li YH, Gong SH, Pan W, *et al.* A tumor acidity activatable and Ca²⁺-assisted immuno-nanoagent enhances breast cancer therapy and suppresses cancer recurrence[J]. *Chem Sci*, 2020, **11**(28): 7429-7437.
- [22] Zhang HJ, Chen W, Gong K, *et al.* Nanoscale zeolitic imidazolate framework-8 as efficient vehicles for enhanced delivery of CpG oligodeoxynucleotides[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, **9**(37): 31519-31525.
- [23] Dai Z, Wang QY, Tang J, *et al.* Immune-regulating bimetallic metal-organic framework nanoparticles designed for cancer immunotherapy[J]. *Biomaterials*, 2022, **280**: 121261.
- [24] Xu R, Yang J, Qian Y, *et al.* Ferroptosis/pyroptosis dual-inductive combinational anti-cancer therapy achieved by transferrin decorated nanoMOF[J]. *Nanoscale Horiz*, 2021, **6**(4): 348-356.
- [25] Xu MM, Chang YC, Zhu GH, *et al.* Transforming cold tumors into hot ones with a metal-organic framework-based biomimetic nanosystem for enhanced immunotherapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, **15**(14): 17470-17484.
- [26] Lin F, Chen L, Zhang H, *et al.* Bioorthogonal prodrug-antibody conjugates for on-target and on-demand chemotherapy[J]. *CCS Chem*, 2019, **1**(2): 226-236.
- [27] Jin C, Wang Y, Li YF, *et al.* Doxorubicin-near infrared dye conjugate induces immunogenic cell death to enhance cancer immunotherapy[J]. *Int J Pharm*, 2021, **607**: 121027.
- [28] Zeng T, Zang WJ, Xiao H, *et al.* Carrier-free nanovaccine: an innovative strategy for ultrahigh melanoma neoantigen loading[J]. *ACS Nano*, 2023, **17**(18): 18114-18127.
- [29] Mao LZ, Ma PQ, Luo X, *et al.* Stimuli-responsive polymeric nanovaccines toward next-generation immunotherapy[J]. *ACS Nano*, 2023, **17**(11): 9826-9849.
- [30] Banstola A, Poudel K, Kim JO, *et al.* Recent progress in stimuli-responsive nanosystems for inducing immunogenic cell death[J]. *J Control Release*, 2021, **337**: 505-520.
- [31] Tang MM, Chen BL, Xia HM, *et al.* pH-gated nanoparticles selectively regulate lysosomal function of tumour-associated macrophages for cancer immunotherapy[J]. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 5888.
- [32] Carson CS, Becker KW, Garland KM, *et al.* A nanovaccine for enhancing cellular immunity via cytosolic co-delivery of antigen and polyIC RNA[J]. *J Control Release*, 2022, **345**: 354-370.
- [33] Cen D, Ge QW, Xie CK, *et al.* ZnS@BSA nanoclusters potentiate efficacy of cancer immunotherapy[J]. *Adv Mater*, 2021, **33**(49): e2104037.
- [34] Gumala A, Sutriyo S. Active targeting gold nanoparticle for chemotherapy drug delivery: a review[J]. *Pharm Sci-Iran*, 2022, **28**(3): 342-354.
- [35] Kundu M, Chatterjee S, Ghosh N, *et al.* Tumor targeted delivery of umbelliferone via a smart mesoporous silica nanoparticles controlled-release drug delivery system for increased anticancer efficiency[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **116**: 111239.
- [36] Zhu WW, Dong ZL, Fu TT, *et al.* Modulation of hypoxia in solid tumor microenvironment with MnO₂ nanoparticles to enhance photodynamic therapy[J]. *Adv Funct Materials*, 2016, **26**(30): 5490-5498.
- [37] Poostforooshan J, Belbekhouche S, Shaban M, *et al.* Aerosol-assisted synthesis of tailor-made hollow mesoporous silica microspheres for controlled release of antibacterial and anticancer agents[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(6): 6885-6898.
- [38] Özsoy M, Atiroğlu V, Guney Eskiler G, *et al.* A protein-sulfosalicyclic acid/boswellic acids @metal-organic framework nanocomposite as anticancer drug delivery system[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, **204**: 111788.
- [39] Gao P, Chen YY, Pan W, *et al.* Antitumor agents based on metal-organic frameworks[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, **60**(31): 16763-16776.
- [40] Nong WQ, Wu J, Ghiladi RA, *et al.* The structural appeal of metal-organic frameworks in antimicrobial applications[J]. *Coord Chem Rev*, 2021, **442**: 214007.
- [41] Hou DY, Cheng DB, Zhang NY, *et al.* In vivo assembly enhanced binding effect augments tumor specific ferroptosis therapy[J]. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 454.
- [42] Zheng YC, Sun LQ, Guo JM, *et al.* The crosstalk between ferroptosis and anti-tumor immunity in the tumor microenvironment: molecular mechanisms and therapeutic controversy[J]. *Cancer Commun*, 2023, **43**(10): 1071-1096.
- [43] Bargh JD, Isidro-Llobet A, Parker JS, *et al.* Cleavable linkers in antibody-drug conjugates[J]. *Chem Soc Rev*, 2019, **48**(16): 4361-4374.