

· 药学前沿 ·

## 基于肿瘤相关巨噬细胞靶向调控的抗肿瘤策略

褚旭新, 卜凡雪, 殷婷婕\*, 霍美蓉\*\*

(中国药科大学药学院药剂系, 南京 210009)

**摘要** 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是肿瘤中最丰富的固有免疫细胞, TAMs常表现出抗炎性M2表型, 是肿瘤发展、转移和耐药性的关键诱导因素, 已经成为肿瘤免疫治疗领域的热门靶标。纳米载体的研究与应用优化了以TAMs为靶点的肿瘤治疗策略, 本文根据TAMs的特性与功能, 详细阐述了基于TAMs的调控策略, 包括TAMs耗竭、抑制TAMs募集和TAMs复极化; 同时, 为了更高效地应用上述策略并克服治疗中常见的脱靶问题, 分析了基于纳米载体的TAMs特异性靶向治疗策略, 包括被动靶向至TAMs、巨噬细胞主动靶向策略以及M2-TAMs特异性主动靶向策略; 最后, 针对单独靶向TAMs疗法的局限性, 介绍了纳米递送系统同时靶向TAMs和肿瘤细胞的新型治疗策略, 为该策略在肿瘤免疫治疗以及与其他疗法联合治疗中的应用提供新思路。

**关键词** 肿瘤相关巨噬细胞; TAMs靶向调控; 纳米载体; 抗肿瘤治疗

中图分类号 R966; R730.5 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2021)03-0261-09

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210301

引用本文 褚旭新, 卜凡雪, 殷婷婕, 等. 基于肿瘤相关巨噬细胞靶向调控的抗肿瘤策略[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(3): 261 - 269.

Cite this article as: CHU Xuxin, BU Fanxue, YIN Tingjie, *et al.* Antitumor strategies based on targeted modulation of tumor-associated macrophages[J]. *J China Pharm Univ*, 2021, 52(3): 261 - 269.

## Antitumor strategies based on targeted modulation of tumor-associated macrophages

CHU Xuxin, BU Fanxue, YIN Tingjie\*, HUO Meirong\*\*

Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Tumor-associated macrophages (TAMs) are the most abundant innate immune cells in tumors, which generally exhibit anti-inflammatory M2 phenotypes, and are the key inducers of tumor development, metastasis and drug resistance, and thus becoming a popular target in the field of antitumor immunotherapy. The study and application of nanocarriers optimize TAMs-targeted antitumor therapy. According to the characteristics and functions of TAMs, modulation strategies based on TAMs are elaborated, including TAMs depletion, inhibition of TAMs recruitment and TAMs repolarization. At the same time, in order to apply the above strategies more efficiently and overcome the general off-target problems in treatment, specific TAMs-targeted therapies based on nanocarriers are reviewed and analyzed, including passive targeting to TAMs, active targeting to macrophages and specifically active targeting to M2-TAMs. Finally, based on the limitations of targeting TAMs alone, new therapeutic strategies of targeting both TAMs and tumor cells via nanocarrier based delivery systems are introduced to provide new ideas for the application of these strategies in the field of tumor immunotherapy and combination therapy with other antitumor strategies.

**Key words** tumor-associated macrophages; TAMs targeted modulation; nanocarriers; antitumor therapy

收稿日期 2021-03-07 通信作者 \*Tel: 025-83271102 E-mail: cookey\_89ytj@163.com

\*\*Tel: 025-83271102 E-mail: huomeirongcpu@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 82073175, No. 81972835, No. 81872424, No. 81703442); 江苏省“青蓝”工程资助项目

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82073175, No. 81972835, No. 81872424, No. 81703442) and Qing-Lan Project of Jiangsu Province

肿瘤的发展是一个复杂的多步骤过程,包括转化、增殖、血管生成、免疫调节和转移<sup>[1]</sup>。然而,肿瘤的发生与发展不仅由肿瘤细胞本身积累的遗传突变诱导,还受到周围非恶性细胞的强烈影响<sup>[2]</sup>。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中细胞释放的不同类型的生长因子和细胞因子以

及细胞间的信号通路在肿瘤发生和转移中起十分重要的作用<sup>[3]</sup>。肿瘤微环境包括许多常驻细胞类型,例如巨噬细胞、成纤维细胞、淋巴细胞、内皮细胞和周细胞等(如图1所示),它们可通过直接或间接的作用影响彼此的功能或表型,并促进肿瘤细胞的生长<sup>[4]</sup>。

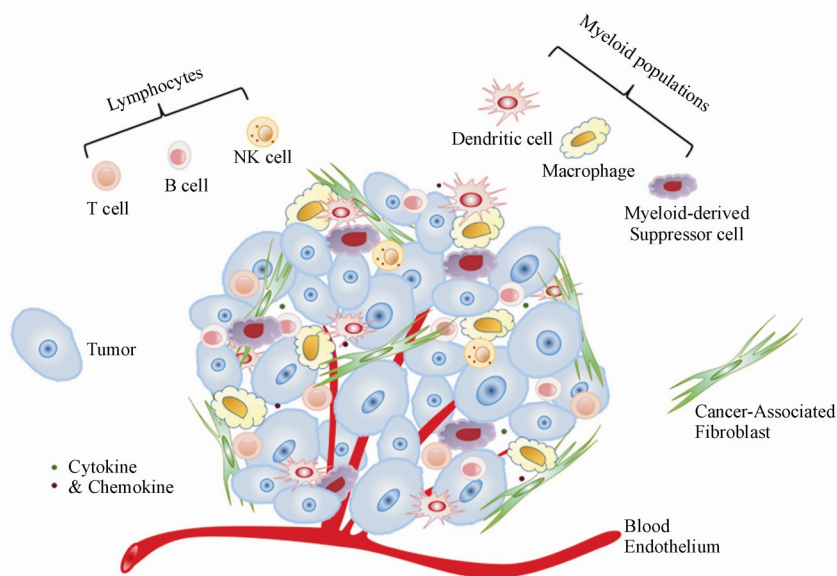


Figure 1 Cellular constituents of the tumor microenvironment<sup>[17]</sup>

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是TME中最丰富的固有免疫细胞种群,占肿瘤质量的50%<sup>[5-6]</sup>。巨噬细胞是单核吞噬细胞系统(mononuclear phagocytic system, MPS)的一部分,由骨髓来源的外周血单核细胞前体在局部募集并响应趋化因子和生长因子分化形成<sup>[7]</sup>。巨噬细胞极具可塑性,可以根据环境刺激获得不同的功能表型。按照M1/M2命名法巨噬细胞可被定义为两种极化表型:当受到toll样受体(toll-like receptor, TLR)激动剂、微生物底物[如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)]和辅助型T细胞1(T helper 1 cell, Th1)因子[如干扰素(interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )]适当刺激时,经典激活为免疫增强型——M1型,具有引起炎症反应,增强抗肿瘤免疫的能力<sup>[8]</sup>;在肿瘤部位被各种辅助型T细胞2(T helper 2 cell, Th2)因子[如白介素-4(IL-4)和白介素-13(IL-13)]刺激

时,替代激活为免疫抑制型——M2型,发挥抗炎作用,促进肿瘤生长和转移<sup>[9]</sup>。

肿瘤微环境以缺氧、弱酸性为主要特征,通常不存在诱导M1型巨噬细胞极化的细菌刺激物、Th1细胞因子及代谢环境,且普遍存在Th2细胞因子,因此TAMs在肿瘤部位多呈现M2表型<sup>[10]</sup>。M2-TAMs表现出多项促肿瘤作用:(1)抑制肿瘤免疫反应,特别是T细胞介导的细胞毒性<sup>[11]</sup>;(2)诱导肿瘤血管生成<sup>[12]</sup>;(3)参与肿瘤迁移,侵袭和转移<sup>[13]</sup>;(4)增强肿瘤化学疗法和放射疗法的耐药性<sup>[14]</sup>。综上,作为TME中主要的免疫细胞,TAMs在肿瘤发展和转移的各个阶段均起关键作用<sup>[15]</sup>。因此靶向调控TAMs的策略成为一种多机制、多功能的高效疗法,可激活抗肿瘤免疫反应、抑制肿瘤生长、血管生成和转移扩散;并改善化疗耐药和不良预后。同时,与化疗等经典疗法相比,TAMs调控策

略是通过调节自身免疫系统功能对抗肿瘤,对患者正常组织的损伤较小。鉴于 TAMs 已成为抗肿瘤治疗的新靶标,临床前研究揭示了越来越多的关键途径以调节 TAMs 功能。目前,针对 TAMs 的新型调控策略在肿瘤免疫治疗以及与其他疗法的联合治疗均表现出巨大的潜力<sup>[16]</sup>。

## 1 TAMs 靶向调控策略

基于 TAMs 在肿瘤发生发展中的功能,TAMs 靶向调控策略包括:TAMs 耗竭、抑制 TAMs 募集和 TAMs 复极化<sup>[18]</sup>。

### 1.1 TAMs 耗竭

TAMs 调控的策略之一是使用消耗巨噬细胞的化学试剂直接清除 TAMs,降低 TAMs 在肿瘤组织的密度,从而逆转免疫抑制型肿瘤微环境<sup>[19]</sup>。

集落刺激因子 1 (colony-stimulating factor 1, CSF1) 是大多数巨噬细胞种群的主要调节剂和趋化因子,其受体 CSF1R 是一种酪氨酸激酶,可促进单核细胞和巨噬细胞的存活、增殖和分化<sup>[20]</sup>。巨噬细胞对 CSF1/CSF1R 信号转导的依赖使 CSF1R 成为选择性耗尽 TAMs 的靶标。目前,针对 CSF1R 信号的不同抗体和小分子已被广泛研究。它们单独或联合用于耗竭 TAMs,重塑 TME,进而发挥抗肿瘤作用<sup>[21]</sup>。Ries 等<sup>[22]</sup>研制了抑制 CSF1R 活化的单克隆抗体 (RG7155)。体外实验结果表明, RG7155 可诱导巨噬细胞凋亡;在动物模型中, RG7155 可显著降低 F4/80<sup>+</sup> TAMs 的密度,并伴随 CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> T 细胞比例的增加,改善免疫抑制型肿瘤微环境,激活抗肿瘤免疫;对于肿瘤患者, RG7155 可使肿瘤组织中 CSF1R<sup>+</sup> CD163<sup>+</sup> TAMs 显著减少,临床抗肿瘤效果优异。

另一种 TAMs 消耗策略是基于双膦酸盐 (bisphosphonates) 的应用。鉴于对羟基磷灰石的高结合亲和力,双膦酸盐一般被用于抑制破骨细胞的功能,抑制骨吸收,从而治疗骨质疏松症、骨转移和骨科 Paget's 病<sup>[23]</sup>。而近年来研究发现,双膦酸盐 (氯膦酸盐、唑来膦酸盐等) 可影响 TAMs 的增殖并诱导其凋亡,减少新血管生成,最终抑制肿瘤生长和转移<sup>[24-25]</sup>。但其抗肿瘤活性常常受到血浆半衰期短和脱靶效应的限制<sup>[26]</sup>。因此,为了改善双膦酸盐的药代动力学,减少不良反应 (例如下颌骨坏死),并促成骨骼以外的生物分布以适应非

骨骼相关治疗领域的应用,研究者们通常使用双膦酸酯脂质体制剂或纳米颗粒靶向消耗 TAMs<sup>[27]</sup>。如 Zang 等<sup>[28]</sup>开发的脂质包覆的唑来膦酸钙纳米粒 (CaZol@pMNP) 能特异性靶向 TAMs 并诱导其凋亡。在 S180 荷瘤小鼠模型中, CaZol@pMNP 有效地消耗了 TAMs,显著减少了血管生成,削弱了免疫抑制作用,并最终抑制了肿瘤的生长。

### 1.2 抑制 TAMs 募集

单核细胞/巨噬细胞从血液中募集并渗入肿瘤。因此,通过靶向和影响单核细胞来破坏 TAMs 的产生,可有效抑制 TAMs 募集,减少实体瘤中的 TAMs 浸润,重塑免疫抑制 TME<sup>[29]</sup>。

单核细胞和单核细胞型骨髓来源的抑制性细胞 (monocyte-related myeloid-derived suppressor cells, M-MDSCs) 是 TAMs 的前体,在多种化学引诱剂的指导下募集到肿瘤部位。常见的诱导剂包括趋化因子 (如 CCL2, CCL5) 和细胞因子 (如 VEGF 家族成员)<sup>[30]</sup>。利用小分子抑制剂或特异性抗体阻断相关信号通路是抑制 TAMs 募集的有效手段。例如,在晚期胰腺癌模型中,肿瘤细胞释放的 CC 族趋化因子配体 2 [chemokine (C-C motif) ligand 2, CCL2] 募集表达相关受体 (CCR2) 的经典单核细胞至肿瘤部位,可导致肿瘤组织中 TAMs 数量积累和不良预后。CCR2 抑制剂 PF-04136309 可有效阻断 CCL2-CCR2 轴通路,其与 FOLFIRINOX (亚叶酸钙+氟尿嘧啶+伊立替康+奥沙利铂) 化疗的联合疗法使肿瘤内 CCR2<sup>+</sup> 单核细胞数量减少,且较单一化疗表现出更明显的局部肿瘤控制效果<sup>[31]</sup>。

### 1.3 TAMs 复极化

尽管 TAMs 主要表现为促肿瘤表型,但巨噬细胞作为重要的吞噬细胞,同时具有抗原提呈能力。在肿瘤发展的不同阶段以及治疗过程中, TAMs 具有从肿瘤促进型转换为肿瘤杀伤型的能力,并通过激活免疫反应抑制肿瘤的生长<sup>[32]</sup>,其复极化过程如图 2 所示。这表明利用巨噬细胞可塑性诱导 TAMs 复极化为抗肿瘤表型是一种可行的靶向治疗策略。细胞因子、趋化因子、生长因子与其受体的相互作用可指导 TAMs 极化程序<sup>[33]</sup>,因此,借助小分子,抗体和 RNA 重塑 TAMs 表型是一种常用的免疫调节策略,可以单独或与其他策略 (如经典化疗、免疫检查点抑制剂疗法等) 联合用于抗肿瘤治疗。

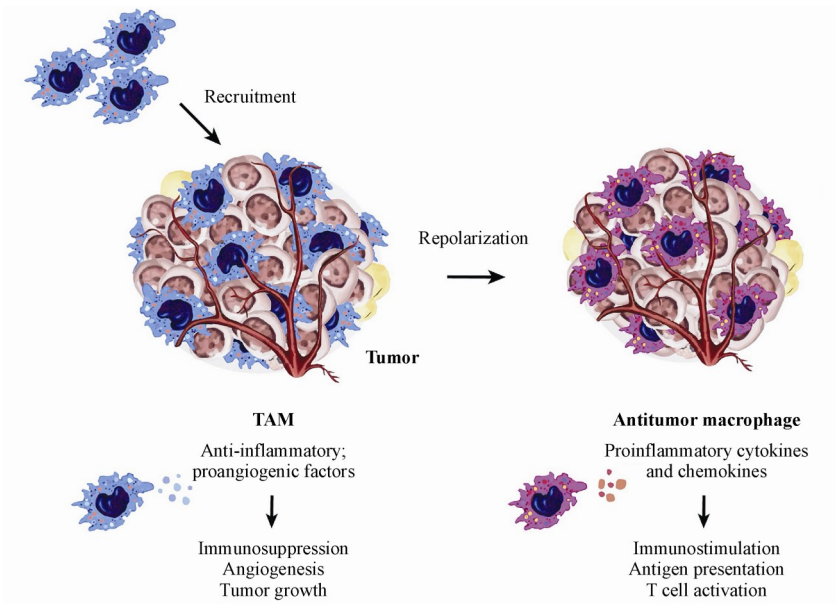


Figure 2 Illustration of TAMs repolarization<sup>[34]</sup>

一种手段是通过阻断 CD47/SIRP $\alpha$  (“别吃我”) 信号, 增强 TAMs 的吞噬特性, 恢复对肿瘤细胞的清除机制<sup>[35]</sup>。如抗 CD47 单克隆抗体 (Hu5F9-G4、CC-90002 等) 或可溶性重组融合蛋白 SIRP $\alpha$ -Fc (TTI-621) 对该信号通路的药理抑制作用可有效增强 TAMs 对肿瘤细胞的吞噬能力。此外, 此策略与其他抗体 (如利妥昔单抗等) 联合用于治疗淋巴瘤, 可进一步增强肿瘤抑制效果<sup>[36]</sup>。

Toll 样受体 (TLR) 是一种模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR), 在先天免疫应答的激活中具有重要作用。细菌颗粒 (如 LPS) 或病毒核酸 (RNA 或 DNA) 对 TLR 的激活能够诱导免疫反应, 使巨噬细胞趋向于促炎的 M1 表型。不同的 TLR 激动剂可模拟微生物信号, 将 TAMs 转换为杀伤肿瘤的表型<sup>[37]</sup>。如 TLR3 激动剂聚肌胞苷酸 [Poly(I:C)] 作为一种抗肿瘤疫苗, 可使黑色素瘤中的 TAMs 重新极化, 从而改善晚期癌症的抗肿瘤免疫反应<sup>[38]</sup>。胶原结构巨噬细胞受体 (macrophage receptor with collagenous structure, MARCO) 是属于清道夫受体家族的 PRR。MARCO 主要由巨噬细胞表达, 其表达与多种肿瘤的不良预后有关。据报道, 针对 MARCO 受体的抗体可将 TAMs 再极化至促炎表型, 与检查点细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated pro-

tein 4, CTLA-4) 抑制剂联用可提高抗肿瘤免疫应答<sup>[39]</sup>。

此外, 与巨噬细胞表型极化相关的信号通路中的关键激酶也可作为调节的靶点, 几种小分子抑制剂通过调节巨噬细胞的重新极化发挥抗肿瘤作用。例如, PI-3 激酶  $\gamma$  (PI-3 kinase gamma, PI3K $\gamma$ ) 是介导 TAMs 免疫抑制作用的关键调节剂, 其抑制剂通过诱导 M1-TAMs 产生炎症反应, 阻止肿瘤生长<sup>[40]</sup>。

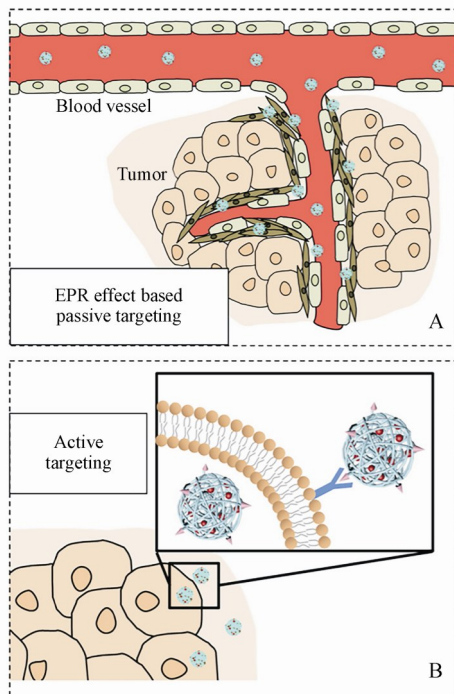
另一个有潜力的策略是在表观遗传水平上诱导 TAMs 复极化。如组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂 TMP195 能够改变 TAMs 表观遗传学特征, 从而使其趋向于 M1 行为, 诱导它们在乳腺癌 TME 中积累, 并增强其吞噬活性<sup>[41]</sup>。

除此之外, 一些无机纳米粒如氧化铁纳米粒、碳酸钙纳米粒等, 可通过调节活性氧、肿瘤微环境的酸度等介导 TAM 的复极化<sup>[42]</sup>。

相比于 TAMs 耗竭和抑制 TAMs 募集策略, TAMs 复极化策略不仅使免疫抑制型 TAMs 减少, 还使促炎表型巨噬细胞增加, 更高效地逆转了免疫抑制型 TME。同时, 该策略避免了巨噬细胞急剧减少对正常组织的影响, 不良反应较小。因此, TAMs 复极化策略在肿瘤免疫治疗领域受到更广泛的关注。

## 2 纳米载体靶向 TAMs 治疗策略

许多针对不同分子靶标的药物具有调节 TAMs 进而对抗肿瘤的潜力。下一个挑战是如何将这些免疫调节药物有效地、选择性地传递给 TAMs,最大限度地降低脱靶问题和药物不良反应。着眼于纳米递药技术的最新进展,纳米材料介导的 TAMs 靶向策略,可特异性增强抗肿瘤免疫反应,已展现出明显的临床前疗效和潜在的临床意义。目前,靶向 TAMs 纳米载体的设计主要依赖于肿瘤血管的高通透性和高滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应以及受体与配体或抗原与抗体间的相互识别作用,分别称为“被动靶向”和“主动靶向”策略<sup>[43]</sup>,其靶向过程如图 3 所示。



**Figure 3** Current targeting strategies for cancer therapy  
A: Passive targeting based on EPR effect; B: Active targeting based on ligand-receptor or antibody-antigen interaction<sup>[44]</sup>

### 2.1 被动靶向至 TAMs

作为生物体内清除细胞碎片、病原体和异物的主要细胞,巨噬细胞具有很高的吞噬能力。对于纳米载药系统,巨噬细胞可以不加选择地使其内化,且通常 M2-TAMs 比 M1-TAMs 表现出更高的纳米粒内化效率。另外, TAMs 是 TME 中最丰富的细胞种群,靶向肿瘤部位的纳米粒通过非特

异性脱靶效应,可以被 TAMs 摄取。如双磷酸盐脂质体依赖在肿瘤部位的被动积累,诱导动物体内 TAMs 的凋亡,是目前耗竭 TAMs 的主要纳米制剂<sup>[45]</sup>。

基于 EPR 效应和巨噬细胞自身的吞噬能力,纳米载药系统可以被动靶向至 TAMs,并对其进行特异性调控,从而改善免疫抑制型肿瘤微环境,最终发挥抗肿瘤作用。然而,仍有大部分纳米粒在 TME 中被肿瘤细胞或其他非恶性细胞内吞,从而降低其在 TAMs 中的富集水平,削弱了调控效果。因此,基于 TAMs 高表达的表面受体,设计特异性配体修饰型的纳米载体用于主动靶向 TAMs,可有效提高内吞和调控效率<sup>[46]</sup>。

### 2.2 巨噬细胞主动靶向策略

**2.2.1 甘露糖受体介导的主动靶向** 甘露糖受体(CD206)由于在巨噬细胞上过表达而成为最常用的 TAMs 靶向受体之一<sup>[47]</sup>。天然配体甘露糖结构简单,可轻松地与载体结合,发挥靶头作用。Zang 等<sup>[48]</sup>报道了基于甘露糖修饰的磷酸钙纳米粒(CaP/miR@pMNPs)用于 TAMs 靶向治疗。该纳米粒在生理 pH (pH 7.4) 下被脂质包覆屏蔽,被 MPS 中的正常巨噬细胞摄取较少;在 TME 中(约 pH 6.8),对弱酸敏感的脂质屏蔽层响应性脱落,并暴露出甘露糖靶头以促进 TAMs 摄取。该载体用于递送具有促炎作用的 miR155,可重塑 TAMs 并激活其功能,逆转免疫抑制性 TME,并在荷瘤小鼠模型中抑制肿瘤生长。然而,由于甘露糖与载体结合率较低,甘露糖受体介导的主动靶向策略依然存在脱靶风险。因此,作为甘露糖的替代物, CD206 抗体被用于靶向 TAMs,从而提高纳米载体的靶向效率<sup>[49]</sup>。

**2.2.2 叶酸受体  $\beta$  介导的主动靶向** 叶酸受体  $\beta$  (folate receptor  $\beta$ , FR $\beta$ ) 也是巨噬细胞高表达的表面受体,其与叶酸具有纳摩尔级别的高度亲和力。因此,可使用其配体叶酸修饰纳米粒介导 TAMs 靶向递送<sup>[50]</sup>。Hattori 等<sup>[51]</sup>评估了载唑来膦酸的叶酸偶联型脂质体(FL-ZOL)的靶向能力,发现 FL-ZOL 对鼠源巨噬细胞 RAW 264.7 表现出高细胞毒性,而对 FR $\beta$  阴性的小鼠结肠腺癌细胞 CT26 则无毒性,表明 FL-ZOL 可通过 FR $\beta$  介导的内吞作用选择性地被 TAMs 内化。因此,构建叶酸偶联型载药系统是解决 TAMs 靶向问题的可行思路。

2.2.3 豆荚蛋白和转铁蛋白受体介导的主动靶向 豆荚蛋白(legumain)和转铁蛋白受体(transferrin receptor)是在巨噬细胞过表达的另外两个靶标受体,且广泛存在于几种肿瘤细胞类型中<sup>[52]</sup>。

基于豆荚蛋白对 Ala-Ala-Asn 底物序列的蛋白水解活性,可设计靶向 TAMs 前药或智能药物递送系统<sup>[53]</sup>。Lin 等<sup>[54]</sup>通过将含有上述序列的底物肽偶联在阿霉素上,设计了一种豆荚蛋白激活型的阿霉素前药 Leg-3。Leg-3 在 TME 中被选择性激活,从而有效清除 TAMs,并导致肿瘤血管的生成显著减少。体内实验证实,施用 Leg-3 后,鼠肿瘤模型中肿瘤的生长和转移受到明显的抑制。这些结果表明,豆荚蛋白的 TAMs 靶向可能代表了一种新的抗肿瘤策略。

尽管 TAMs 高表达的转铁蛋白受体受到广泛关注,且研究者们已经报道了许多靶向转铁蛋白受体的药物递送系统。但所有这些系统都是针对靶向表达该受体的肿瘤细胞而设计的,尚未见对 TAMs 具体应用的报道<sup>[55]</sup>。

### 2.3 M2-TAMs 特异性主动靶向策略

甘露糖受体、叶酸受体 $\beta$ 以及豆荚蛋白除了在 M2-TAMs 表面高表达之外,在 TME 中其他细胞(如树突状细胞、M1-TAMs 和肿瘤细胞等)也有表达<sup>[56-57]</sup>,造成载药纳米递送系统的脱靶效应。因此,研究者们通过肽筛选技术开发了一种特异性靶向 M2-TAMs 的多肽(M2pep)。该肽对 M2-TAMs 的结合能力高于 M1-TAMs 以及其他细胞,可更高效地介导 M2-TAMs 主动靶向<sup>[58]</sup>。Pang 等<sup>[59]</sup>设计了 M2pep 包覆的 PLGA 纳米粒递送 CSF1-CSF1R 通路抑制剂(PLX3397)用于治疗 B16F10 肿瘤。无论在体内还是体外实验中,相比于游离药物和无 M2pep 纳米粒,M2pep 修饰的纳米粒都表现出更高效的 TAMs 摄取。这些结果表明,M2pep 包裹可以增强纳米粒与 M2-TAMs 相互作用,促进药物的递送。

## 3 纳米递送系统同时靶向 TAMs 和肿瘤细胞治疗策略

在临床上,针对肿瘤细胞本身的治疗仍然是肿瘤药物治疗领域的主要手段。然而,单独靶向恶性细胞的治疗不仅效果不理想,还常常引起肿瘤对单一药物的耐药性。因此,针对肿瘤细胞和

微环境中的主导免疫细胞(TAMs)的联合治疗策略备受关注。该策略具有以下优点<sup>[60-61]</sup>:(1)逆转免疫抑制型肿瘤微环境,削弱微环境介导的耐药性;(2)通过调节患者自身免疫对抗肿瘤,不良反应更低且药效更持久;(3)免疫疗法与肿瘤细胞靶向治疗的结合产生抗肿瘤协同药效。然而,分别多次施用针对两种细胞的不同药物常常引起治疗效果不同步、药物间相互干扰以及治疗依从性差等问题。利用纳米载体递送同种药物至肿瘤细胞和 TAMs,不仅克服了多次给药带来的诸多困难,还可实现对两种细胞的同时靶向调控,达到更理想的联合治疗效果。

Chen 等<sup>[62]</sup>根据叶酸受体在肿瘤细胞和 TAMs 表面的过表达,制备了基于叶酸偶联型羧甲基壳聚糖的双靶向 siRNA 递送系统,用于同时沉默 TAMs 和 Lewis 肺癌细胞(LLC)中具有细胞恶性转化作用的信号传导及转录激活蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)。实验结果表明,与非靶向纳米粒相比,双重靶向递送系统表现出更高的效力,致使两种细胞中 STAT3 的表达显著降低,从而成功实现 TAMs 向 M1 型的转变以及 LLC 的凋亡;同时,在体内实验中,肿瘤的生长被有效抑制,肿瘤组织中的 M2-TAMs 水平显著降低。Conde 等<sup>[63]</sup>设计了一种基于 M2pep 的金纳米粒(AuNPs)用于 siRNA 的递送。在体内主动靶向 TAMs,被动靶向肺癌细胞,从而在两种细胞中同时抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通路,引起 TAMs 减少和肿瘤细胞增殖抑制,其作用机制如图 4 所示。这种混合治疗方法表现出理想的双重基因敲除效果,且免疫记忆的产生可引起长效的肿瘤抑制和疾病控制,是一种高效的抗肿瘤免疫疗法。

## 4 总结与展望

TAMs 是 TME 中最丰富的免疫细胞种群,由于与肿瘤生长、转移扩散和治疗失败密切相关,成为肿瘤免疫治疗的热门靶标。抑制 TAMs 募集、耗竭 TAMs 和使 TAMs 复极化 3 种策略均具有调控 TAMs 从而逆转免疫抑制性 TME 的可行性。同时,主/被动靶向型纳米载体的应用,进一步优化了 TAMs 靶向调控策略。然而,据报道,纳米粒到达肿瘤部位后,常常脱靶至 TME 中丰富的肿瘤细胞,

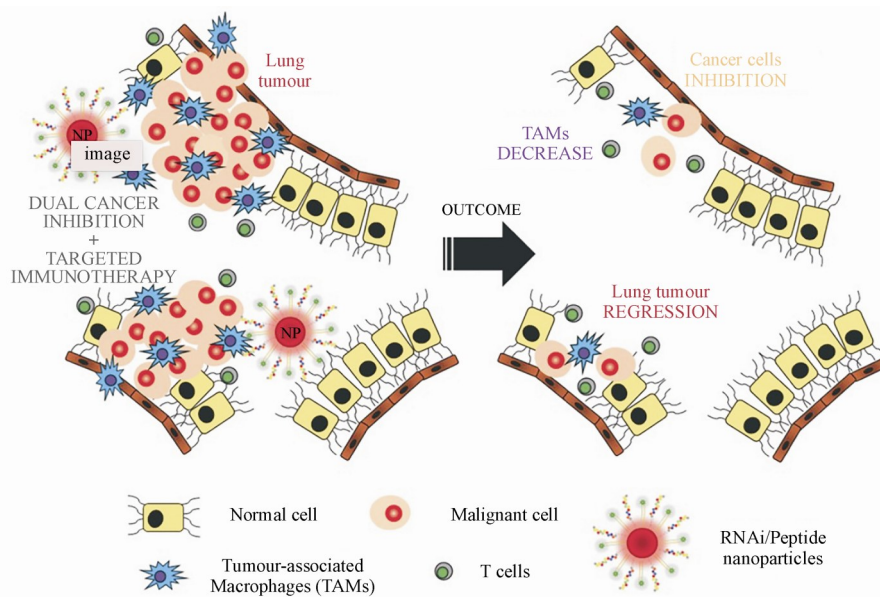


Figure 4 Schematic of the combined silencing therapy *in vivo* via nanoparticles targeting TAMs and cancer cells<sup>[63]</sup>

使单独靶向 TAMs 的疗法不能达到理想的抗肿瘤效果<sup>[64-65]</sup>。因此,合理选择 TAMs 和肿瘤细胞中共同的靶点,并通过纳米载药技术同时靶向调控 TME 中两种重要细胞的治疗策略,已逐渐成为纳米制剂学与肿瘤免疫治疗相结合的新热点。

此外,TME 中还存在多种其他免疫细胞,它们对于肿瘤增殖和转移同样起到关键作用。在未来的研究中,将 M2-TAMs 与其他免疫细胞(如 T 细胞、NK 细胞等)的调控药物共载于纳米递送系统中,有望更高效地改善 TME;与此同时,对纳米载体进行更多功能化修饰,改善药物的循环稳定性和生物分布,并实现可控的药物释放,将成为 TME 靶向调控策略的下一个研究方向。

## References

- [1] Cai H, Liu YH, Yin TJ, *et al.* Advances in the targeted therapy of tumor-associated fibroblasts [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2018, **49**(1):20-25.
- [2] Bian XJ, Xiao YT, Wu TQ, *et al.* Microvesicles and chemokines in tumor microenvironment: mediators of intercellular communications in tumor progression [J]. *Mol Cancer*, 2019, **18**(1):50.
- [3] Brassart-Pasco S, Brézillon S, Brassart B, *et al.* Tumor microenvironment: extracellular matrix alterations influence tumor progression [J]. *Front Oncol*, 2020, **10**:397.
- [4] Novikova MV, Khromova NV, Kopnin PB. Components of the hepatocellular carcinoma microenvironment and their role in tumor progression [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2017, **82**(8):861-873.
- [5] Dehne N, Mora J, Namgaladze D, *et al.* Cancer cell and macrophage cross-talk in the tumor microenvironment [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2017, **35**:12-19.
- [6] Bi L, Gao J, Jiang YC, *et al.* Effect of Ginseng, Ginseng polysaccharides and Ginsenoside on the human lung cancer cells A549 in co-culture system of TAMs with A549 cells [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(6):744-748.
- [7] Yang L, Zhang Y. Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, **10**(1):58.
- [8] Jeannin P, Paolini L, Adam C, *et al.* The roles of CSFs on the functional polarization of tumor-associated macrophages [J]. *FEBS J*, 2018, **285**(4):680-699.
- [9] Jayasingam SD, Citartan M, Thang TH, *et al.* Evaluating the polarization of tumor-associated macrophages into M1 and M2 phenotypes in human cancer tissue: technicalities and challenges in routine clinical practice [J]. *Front Oncol*, 2019, **9**:1512.
- [10] Binnemars-Postma K, Storm G, Prakash J. Nanomedicine strategies to target tumor-associated macrophages [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(5):E979.
- [11] Petty AJ, Yang YP. Tumor-associated macrophages: implications in cancer immunotherapy [J]. *Immunotherapy*, 2017, **9**(3):289-302.
- [12] Chen XJ, Wu S, Yan RM, *et al.* The role of the hypoxia-Nrp-1 axis in the activation of M2-like tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment of cervical cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2019, **58**(3):388-397.
- [13] Lin YX, Xu JX, Lan HY. Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic appli-

- cations[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, **12**(1):76.
- [14] Chen YB, Song YC, Du W, *et al.* Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression[J]. *J Biomed Sci*, 2019, **26**(1):78.
- [15] Laviron M, Boissonnas A. Ontogeny of tumor-associated macrophages[J]. *Front Immunol*, 2019, **10**:1799.
- [16] Malfitano AM, Pisanti S, Napolitano F, *et al.* Tumor-associated macrophage status in cancer treatment[J]. *Cancers*, 2020, **12**(7):1987.
- [17] Cui Y, Guo G. Immunomodulatory function of the tumor suppressor p53 in host immune response and the tumor microenvironment[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(11):1942.
- [18] Cassetta L, Pollard JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, **17**(12):887-904.
- [19] Li X, Liu R, Su X, *et al.* Harnessing tumor-associated macrophages as aids for cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2019, **18**(1):177.
- [20] O'Brien SA, Orf J, Skrzypczynska KM, *et al.* Activity of tumor-associated macrophage depletion by CSF1R blockade is highly dependent on the tumor model and timing of treatment [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021. doi: 10.1007/s00262-021-02861-3.
- [21] Cannarile MA, Weisser M, Jacob W, *et al.* Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy [J]. *J Immunother Cancer*, 2017, **5**(1):53.
- [22] Ries CH, Cannarile MA, Hoves S, *et al.* Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2014, **25**(6):846-859.
- [23] Billington EO, Reid IR. Benefits of bisphosphonate therapy: beyond the skeleton [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2020, **18**(5):587-596.
- [24] Andón FT, Digifico E, Maeda A, *et al.* Targeting tumor associated macrophages: The new challenge for nanomedicine [J]. *Semin Immunol*, 2017, **34**:103-113.
- [25] Phuengkham H, Ren L, Shin IW, *et al.* Nanoengineered immune niches for reprogramming the immunosuppressive tumor microenvironment and enhancing cancer immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2019, **31**(34):e1803322.
- [26] Singh Y, Pawar VK, Meher JG, *et al.* Targeting tumor associated macrophages (TAMs) via nanocarriers [J]. *J Control Release*, 2017, **254**:92-106.
- [27] Ngambenjawong C, Gustafson HH, Pun SH. Progress in tumor-associated macrophage (TAM)-targeted therapeutics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, **114**:206-221.
- [28] Zang X, Zhang X, Hu H, *et al.* Targeted delivery of zoledronate to tumor-associated macrophages for cancer immunotherapy [J]. *Mol Pharm*, 2019, **16**(5):2249-2258.
- [29] Goswami KK, Ghosh T, Ghosh S, *et al.* Tumor promoting role of anti-tumor macrophages in tumor microenvironment [J]. *Cell Immunol*, 2017, **316**:1-10.
- [30] Argyle D, Kitamura T. Targeting macrophage-recruiting chemokines as a novel therapeutic strategy to prevent the progression of solid tumors [J]. *Front Immunol*, 2018, **9**:2629.
- [31] Nywening TM, Wang-Gillam A, Sanford DE, *et al.* Targeting tumour-associated macrophages with CCR2 inhibition in combination with FOLFIRINOX in patients with borderline resectable and locally advanced pancreatic cancer: a single-centre, open-label, dose-finding, non-randomised, phase 1b trial [J]. *Lancet Oncol*, 2016, **17**(5):651-662.
- [32] Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, *et al.* Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, **233**(9):6425-6440.
- [33] Ruytinx P, Proost P, van Damme J, *et al.* Chemokine-induced macrophage polarization in inflammatory conditions [J]. *Front Immunol*, 2018, **9**:1930.
- [34] Pathria P, Louis TL, Varner JA. Targeting tumor-associated macrophages in cancer [J]. *Trends Immunol*, 2019, **40**(4):310-327.
- [35] Veillette A, Chen J. SIRP $\alpha$ -CD47 immune checkpoint blockade in anticancer therapy [J]. *Trends Immunol*, 2018, **39**(3):173-184.
- [36] Weiskopf K, Jahchan NS, Schnorr PJ, *et al.* CD47-blocking immunotherapies stimulate macrophage-mediated destruction of small-cell lung cancer [J]. *J Clin Invest*, 2016, **126**(7):2610-2620.
- [37] Feng Y, Mu R, Wang Z, *et al.* A toll-like receptor agonist mimicking microbial signal to generate tumor-suppressive macrophages [J]. *Nat Commun*, 2019, **10**(1):2272.
- [38] Rodríguez-Ruiz ME, Perez-Gracia JL, Rodríguez I, *et al.* Combined immunotherapy encompassing intratumoral poly-ICLC, dendritic-cell vaccination and radiotherapy in advanced cancer patients [J]. *Ann Oncol*, 2018, **29**(5):1312-1319.
- [39] Georgoudaki AM, Prokopec KE, Boura VF, *et al.* Reprogramming tumor-associated macrophages by antibody targeting inhibits cancer progression and metastasis [J]. *Cell Rep*, 2016, **15**(9):2000-2011.
- [40] Locatelli SL, Careddu G, Serio S, *et al.* Targeting cancer cells and tumor microenvironment in preclinical and clinical models of Hodgkin lymphoma using the dual PI3K $\delta$ / $\gamma$  inhibitor RP6530 [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, **25**(3):1098-1112.
- [41] Guerriero JL, Sotayo A, Ponichtera HE, *et al.* Class IIa HDAC inhibition reduces breast tumours and metastases through anti-tumour macrophages [J]. *Nature*, 2017, **543**(7645):428-432.
- [42] Chen Q, Wang C, Zhang X, *et al.* *In situ* sprayed bioresponsive immunotherapeutic gel for post-surgical cancer treatment [J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, **14**(1):89-97.
- [43] Song K, Pan H, Han JY, *et al.* Nano drug delivery system based strategies to target tumor microenvironment [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2018, **49**(4):392-400.



- [44] Dai W, Wang X, Song G, *et al.* Combination antitumor therapy with targeted dual-nanomedicines [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, **115**:23-45.
- [45] La-Beck NM, Liu XL, Shmeeda H, *et al.* Repurposing aminobisphosphonates by liposome formulation for a new role in cancer treatment[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, **68**:175-185.
- [46] Wakaska RR. Challenges pertaining to adverse effects of drugs [J]. *Int J Drug Dev Res*, 2017, **9**(1):1-2.
- [47] An YY, Yang Q. Tumor-associated macrophage-targeted therapeutics in ovarian cancer[J]. *Int J Cancer*, 2020. doi: 10.1002/ijc.33408.
- [48] Zang XL, Zhang XX, Zhao XL, *et al.* Targeted delivery of miRNA 155 to tumor associated macrophages for tumor immunotherapy [J]. *Mol Pharm*, 2019, **16**(4):1714-1722.
- [49] Sun X, Gao D, Gao L, *et al.* Molecular imaging of tumor-infiltrating macrophages in a preclinical mouse model of breast cancer [J]. *Theranostics*, 2015, **5**(6):597-608.
- [50] Tie Y, Zheng H, He ZY, *et al.* Targeting folate receptor  $\beta$  positive tumor-associated macrophages in lung cancer with a folate-modified liposomal complex[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1):6.
- [51] Hattori Y, Yamashita J, Sakaida C, *et al.* Evaluation of antitumor effect of zoledronic acid entrapped in folate-linked liposome for targeting to tumor-associated macrophages[J]. *J Liposome Res*, 2015, **25**(2):131-140.
- [52] Weiskopf K, Anderson KL, Ito D, *et al.* Eradication of canine diffuse large B-cell lymphoma in a murine xenograft model with CD47 blockade and anti-CD20[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, **4**(12):1072-1087.
- [53] Franklin RA, Liao W, Sarkar A, *et al.* The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages [J]. *Science*, 2014, **344**(6186):921-925.
- [54] Lin Y, Wei C, Liu Y, *et al.* Selective ablation of tumor-associated macrophages suppresses metastasis and angiogenesis [J]. *Cancer Sci*, 2013, **104**(9):1217-1225.
- [55] Kang T, Jiang MY, Jiang D, *et al.* Enhancing glioblastoma-specific penetration by functionalization of nanoparticles with an iron-mimic peptide targeting transferrin/transferrin receptor complex[J]. *Mol Pharm*, 2015, **12**(8):2947-2961.
- [56] Qian Y, Qiao S, Dai YF, *et al.* Molecular-targeted immunotherapeutic strategy for melanoma via dual-targeting nanoparticles delivering small interfering RNA to tumor-associated macrophages[J]. *ACS Nano*, 2017, **11**(9):9536-9549.
- [57] Peng H, Wang JH, Guo F, *et al.* Legumain protease-activated tuftsin-functionalized nanoparticles for dual-targeting TAMs and cancer chemotherapy [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, **197**:111442.
- [58] Cieslewicz M, Tang JJ, Yu JL, *et al.* Targeted delivery of proapoptotic peptides to tumor-associated macrophages improves survival[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, **110**(40):15919-15924.
- [59] Pang L, Pei YH, Uzunalli G, *et al.* Surface modification of polymeric nanoparticles with M2pep peptide for drug delivery to tumor-associated macrophages [J]. *Pharm Res*, 2019, **36**(4):65.
- [60] Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, *et al.* Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, **366**(26):2455-2465.
- [61] Wu XL, Wu YD, Ye HB, *et al.* Interleukin-15 and cisplatin co-encapsulated thermosensitive polypeptide hydrogels for combined immuno-chemotherapy [J]. *J Control Release*, 2017, **255**:81-93.
- [62] Chen J, Dou Y, Tang Y, *et al.* Folate receptor-targeted RNAi nanoparticles for silencing STAT3 in tumor-associated macrophages and tumor cells[J]. *Nanomedicine*, 2020, **25**:102173.
- [63] Conde J, Bao CC, Tan YQ, *et al.* Dual targeted immunotherapy via *in vivo* delivery of biohybrid RNAi-peptide nanoparticles to tumour-associated macrophages and cancer cells[J]. *Adv Funct Mater*, 2015, **25**(27):4183-4194.
- [64] Sylvestre M, Crane CA, Pun SH. Progress on modulating tumor-associated macrophages with biomaterials [J]. *Adv Mater*, 2020, **32**(13):e1902007.
- [65] Yang QY, Guo NN, Zhou Y, *et al.* The role of tumor-associated macrophages (TAMs) in tumor progression and relevant advance in targeted therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, **10**(11):2156-2170.