

· 药学前沿 ·

## 基于纳米药物递送载体的肿瘤免疫调控策略研究进展

刘艳红, 陈丽青, 张欣彤, 高钟镐\*, 黄伟\*\*

(中国医学科学院北京协和医学院药物研究所药物制剂研究室, 药物传输技术及新型制剂北京市重点实验室, 北京 100050)

**摘要** 肿瘤免疫疗法是利用免疫学原理和方法, 激活和增强机体免疫系统并产生免疫应答, 达到清除肿瘤细胞的一种治疗模式。许多新型的免疫治疗药物展现出有效的抗肿瘤能力, 但复杂的肿瘤免疫逃逸机制使其临床运用仍面临诸多挑战。同时, 免疫治疗药物应用人体后, 会分布至全身各组织器官, 无法实现精准的病灶靶向性, 从而引起了一系列的免疫相关不良反应, 这也极大阻碍了其临床应用潜力。纳米药物递送载体能够将免疫治疗药物精准递送到靶组织或特定的免疫细胞, 增强免疫抗肿瘤效果, 同时降低不良反应。本文将以肿瘤免疫调控策略为角度, 对近几年纳米药物递送载体在肿瘤免疫治疗研究领域取得的成果进行总结阐述, 并对该领域的挑战和发展方向进行展望。

**关键词** 肿瘤免疫治疗; 纳米药物递送系统; 肿瘤免疫微环境

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2023)01-0005-10

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023021501

引用本文 刘艳红, 陈丽青, 张欣彤, 等. 基于纳米药物递送载体的肿瘤免疫调控策略研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(1): 5 - 14.

Cite this article as: LIU Yanhong, CHEN Liqing, ZHANG Xintong, *et al.* Research progress of tumor immunomodulation strategies based on nanodrug delivery system[J]. *J China Pharm Univ*, 2023, 54(1): 5 - 14.

## Research progress of tumor immunomodulation strategies based on nanodrug delivery system

LIU Yanhong, CHEN Liqing, ZHANG Xintong, GAO Zhonghao\*, HUANG Wei\*\*

*Beijing Municipal Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Novel Formulations, Department of Pharmaceutics, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China*

**Abstract** Tumor immunotherapy is a therapeutic modality that uses immunological principles and methods to activate and enhance the body's immune system to generate immune response for the removal of tumour cells. Many new immunotherapeutic agents have demonstrated effective anti-tumour capabilities, yet their clinical use is challenging due to the complex mechanisms of tumour immune escape. Meanwhile, these drugs would accumulate in different tissues and organs in the human body and be unable to achieve precise and specific targeting therapeutic effects, resulting in serious immune-related adverse effects, which greatly hinders the clinical potential of immunotherapy. Nanodrug delivery systems can deliver immunotherapeutic drugs to target tissues or specific immune cells precisely, thereby enhancing immune effects and reducing side effects. This paper reviews the research progress of nanodrug delivery systems in tumour immunotherapy in recent years based on the regulatory mechanism of the anti-tumour immune response, with a prospect of the challenges and development in this field.

**Key words** tumour immunotherapy; nanodrug delivery systems; tumour immune microenvironment

恶性肿瘤目前已经成为是一种全球性的威胁人类生命健康安全的疾病。当前治疗手段主要包

括手术切除、放疗、化疗、免疫治疗等。免疫治疗是一种新兴的肿瘤治疗模式, 利用免疫学原理, 激

收稿日期 2023-02-15 通信作者 \*Tel: 010-63028096 E-mail: zgao@imm.ac.cn

\*\*Tel: 010-63028096 E-mail: huangwei@imm.ac.cn

活和增强机体免疫系统产生免疫应答达到清除肿瘤细胞的目的<sup>[1]</sup>。因此免疫疗法也被称为第四大肿瘤治疗技术,目前已成为肿瘤治疗领域的研究热点。

在肿瘤免疫疗法中,T细胞介导的免疫应答激活需要几个关键步骤参与(图1):肿瘤细胞释放抗原,被抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APC)摄取。APC通过淋巴系统到达局部淋巴结,然后通过主要组织相容性复合体 I (major histocompatibility complex I, MHC I)途径将抗原呈递给幼稚T细胞,从而触发效应T细胞的启动和激活。最后效应T细胞通过血流到达局部肿瘤部位,识别并杀死肿瘤细胞;死亡的肿瘤细胞再次释放肿瘤特异性抗原,APC捕获并摄取抗原,最终激活效应T细胞。这个过程也被称为肿瘤免疫循环<sup>[2-3]</sup>。然而,由于肿瘤抗原释放缺陷、局部淋巴结T细胞启动受损、肿瘤免疫抑制信号等引发免疫逃逸的因素存在<sup>[4]</sup>,肿瘤免疫循环可能会受损,引起肿瘤进展。因此,针对肿瘤免疫循环过程中可能发生的功能障碍,采用个性化的免疫治疗方案,将有助于为患者带来更好的治疗效果。根据机制分类,肿瘤免疫治疗方案可以分为“被动免疫疗法”和“主动免疫疗法”。被动免疫疗法<sup>[5]</sup>是对机体直接输入免疫检查点阻断抗体、细胞因子或者免疫细胞等后,直接杀伤肿瘤,主要包括细胞因子治疗、免疫检查点抑制剂和过继性细胞治疗。目前嵌合抗原受体T细胞、PD-1抗体等免疫疗法,已在临床治疗中显示出强大的抗肿瘤活性<sup>[6-7]</sup>。而主动免疫疗法是特异性激活人体自身免疫系统,发挥主动抗肿瘤免疫应答的过程,主要代表疗法是肿瘤疫苗<sup>[8]</sup>。

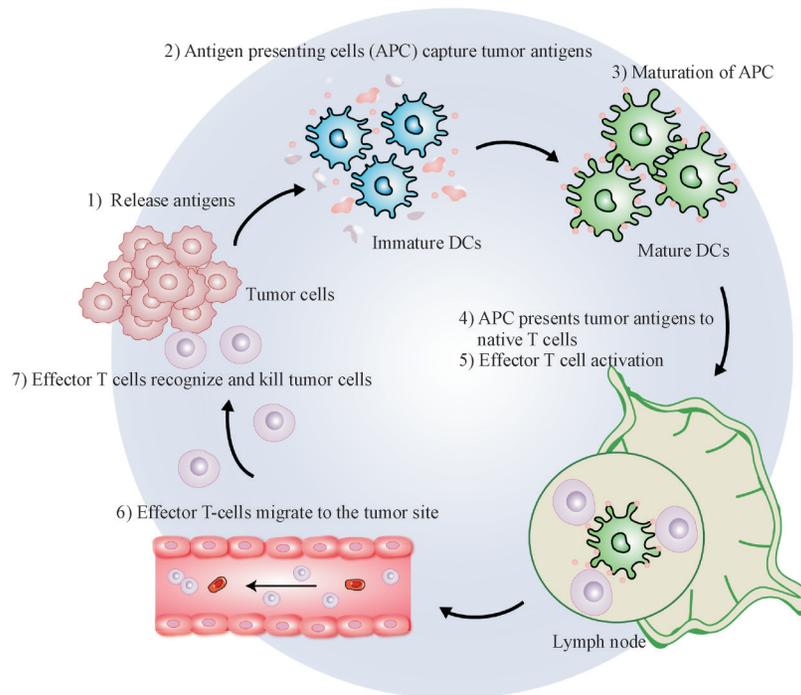
尽管免疫疗法给肿瘤治疗领域带来了革命性进展,但在临床治疗中阳性效应率较低,仅对15%的患者具有较好的治疗效果。这主要与复杂的肿瘤免疫逃逸机制相关<sup>[9]</sup>。此外,免疫治疗药物往往会分布至全身各组织器官,无法实现对病灶的精准靶向性,从而引起一系列的免疫相关不良反应。纳米药物递送载体(nanodrug delivery systems, NDDS)采用纳米载体包载治疗性药物进行体内输送,具有防止药物突释、避免脱靶效应、改善药代动力学特征、灵活控制药物释放等优势。此外,对纳米药物递送载体修饰具有靶向作用的配体,可以介导药物精确递送到靶部位(如病变组织、局部

淋巴结或黏膜),从而增强药效,降低不良反应<sup>[10]</sup>。因此,将肿瘤免疫疗法与纳米药物递送技术联合将是具有潜力的发展方向。纳米药物递送载体可以将免疫调节因子精准递送到靶组织或特定免疫细胞,从而实现有效的、增强的免疫反应,获得更好的治疗效果。近年来,已有大量研究构建纳米药物递送载体用于调控肿瘤免疫,并在动物模型上取得较好的治疗效果。本文将从肿瘤免疫调控策略的角度,对近几年纳米药物递送载体在肿瘤免疫治疗领域取得的成果进行综述,并对该领域的主要挑战和发展方向进行展望。

## 1 提高疫苗摄取率和作用效率

根据触发特异性抗肿瘤免疫的抗原不同,肿瘤治疗疫苗主要分为细胞载体疫苗、蛋白疫苗、多肽疫苗和核酸疫苗等<sup>[11]</sup>。纳米药物递送载体可以将肿瘤抗原和佐剂共同包封到同一载体中,将二者共同递送到相同的APC中,避免了那些在没有佐剂的情况下摄入抗原的APC产生免疫耐受<sup>[12]</sup>。同时,纳米药物递送载体也会明显增强APC对肿瘤抗原的摄取效率,从而提高抗肿瘤免疫应答效力。有研究表明<sup>[13]</sup>,为了获得较强的免疫应答效力,纳米颗粒疫苗需要满足多个条件,包括有效的抗原负载能力、高淋巴引流效率、增强的APC摄取能力等。树突状细胞(dendritic cells, DC)是一种重要的APC,能摄取、加工及呈递抗原,产生细胞因子和趋化因子,启动T细胞介导的免疫反应。因此DC是纳米疫苗的重要靶细胞。

目前,已经有大量研究报道,纳米颗粒疫苗表面修饰上特异性配体,靶向DC表面的受体,可以通过特定的内吞途径增加DC摄取效率。如甘露糖片段可以与DC表面过表达的甘露糖受体特异性结合,Chen等<sup>[14]</sup>构建了一种甘露糖片段修饰的甲苯磺酰精氨酸-聚赖氨酸(Man-PLL-RT)聚合物,然后通过静电吸附作用与抗原卵清蛋白(OVA)和佐剂胞嘧啶-磷酸鸟嘌呤(CpG)形成纳米疫苗。研究表明,与抗原蛋白OVA和佐剂CpG的物理混合溶液相比,该纳米疫苗明显提高了抗原在注射部位的滞留时间和淋巴管内的DC细胞摄取效率,并增加了成熟DC细胞的比例。该纳米疫苗与包载沉默PD-L1的短发夹RNA(shPD-L1)纳米颗粒联合给药,进一步激活了细胞毒性T淋巴细胞



**Figure 1** Mechanism of T cell - mediated antitumor immune response activation

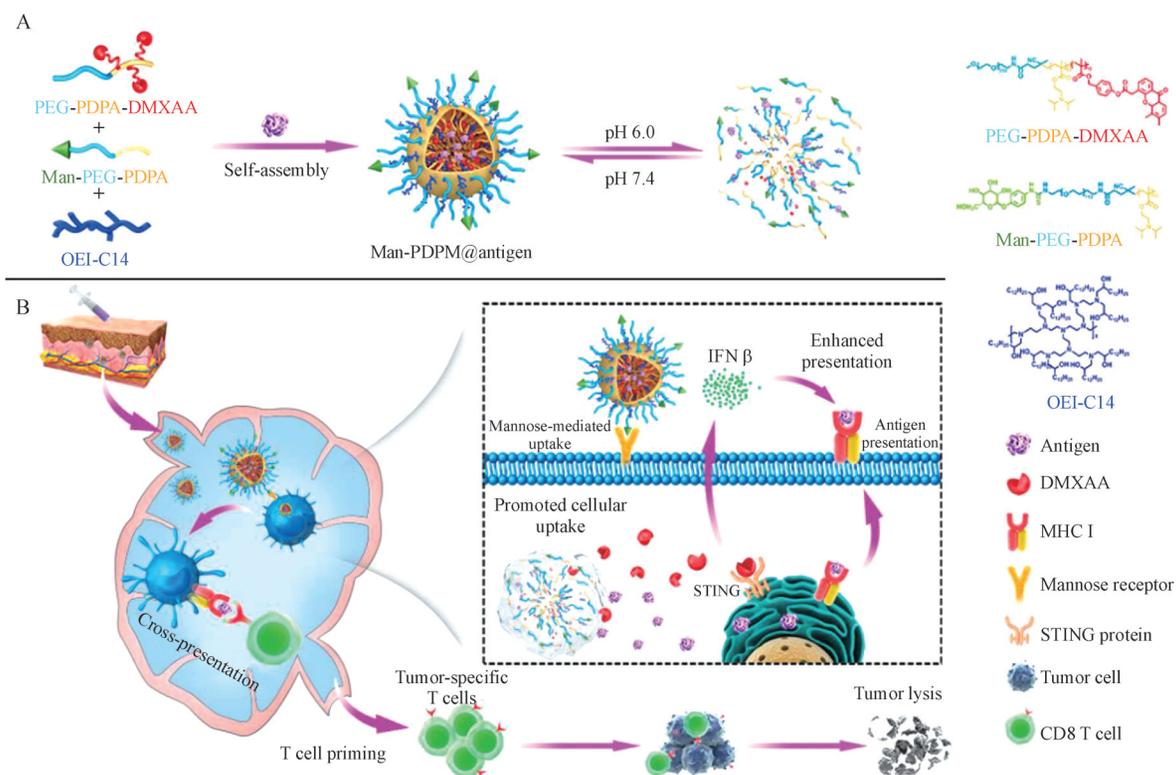
(CTL)的免疫杀伤能力。干扰素基因刺激因子(STING)通路的活化可以增强DC的抗原提呈效能,从而促进T细胞的抗肿瘤免疫应答。Zhou等<sup>[15]</sup>将STING激动剂(5,6-二甲基黄蓍酮-4-乙酸,DMXAA)通过酯酶降解的化学链接枝到酸响应的两亲性二嵌段共聚物(PEG-b-PDPA)的主链上得到一种前药聚合物,并包载肿瘤抗原形成纳米疫苗。体内外实验证实,该聚合物纳米疫苗可以有效地聚集在淋巴结,增强DC摄取,促进抗原在细胞质的释放。同时在DC细胞质中广泛分布的酯酶作用下,前药聚合物降解,释放出STING激动剂,促使STING通路激活,诱导干扰素- $\beta$ 分泌,增强DC的抗原提呈效能,从而促进抗肿瘤T细胞免疫应答。在具有免疫活性的小鼠模型中,纳米疫苗显著抑制了B16-OVA黑色素瘤和4T1乳腺肿瘤的生长。由于不同患者的肿瘤抗原谱存在差异性,这些肿瘤疫苗对不同的肿瘤患者可能显示出显著不同的疗效。为解决该问题,Yang等<sup>[16]</sup>利用肿瘤细胞膜作为肿瘤特异性抗原开发出一种新型肿瘤纳米疫苗。该纳米疫苗是通过在PLGA纳米粒表面包覆一层甘露糖修饰的肿瘤细胞膜构建而成。同时,PLGA纳米粒的内核还包载了一种抗Toll样受体7(TLR-7)的激动剂作为佐剂。由于甘

露糖可以与DC等APC上的受体特异性结合,该纳米疫苗显示出增强的DC摄取效率,促使DC成熟,从而触发强烈的肿瘤特异性免疫反应。此外,作者还将该纳米疫苗与抗程序性死亡-1(anti-PD-1)检查点阻断剂联合使用,可以进一步为治疗B16-OVA黑色素瘤提供良好的治疗效果。

除了利用受体介导的内吞作用来增加DC对纳米疫苗的摄取效率外,基于大胞饮作用的策略也可以用于提高DC的内化效率。大胞饮作用是一种短暂的、肌动蛋白驱动的内吞作用,伴随着膜皱褶将外源性液体和颗粒大规模吞噬到细胞中<sup>[17]</sup>。与其他细胞不同,DC通过大胞饮作用对外源性抗原具有高效的摄取能力,可以有效弥补DC上表达的特异性受体的不足,提高其摄取抗原的效率。由于CXC-趋化因子受体4型(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)途径在免疫细胞吞噬病毒的过程中起到重要作用,基于仿生原理,Yang等<sup>[18]</sup>构建一种靶向CXCR4的纳米疫苗,以期通过大胞吞途径直接将抗原和佐剂共传递到DC细胞质中。该纳米疫苗是以活性氧(reactive oxygen species, ROS)响应的纳米粒为核心,以融合巨胞饮诱导肽的肿瘤细胞膜为外壳共同构建而成的一种双层结构纳米粒。研究结果证实,该纳米疫

苗可以通过 CXCR4 介导的大胞饮途径直接进入 DC 细胞质中,显著增强了 DC 的摄取。在 DC 细胞质中,纳米疫苗在 ROS 作用下发生降解,释放出共递送的肿瘤细胞膜相关抗原和 STING 激动剂 cGAMP,并通过激活 STING 通路共同促进 DC 成熟

和 T 细胞启动。在 B16-F10 黑色素瘤小鼠模型中,该仿生纳米疫苗不仅会产生较强的抗肿瘤免疫反应,而且当与抗 PD-1 检查点抑制剂联合使用时,显著抑制了肿瘤的生长。



**Figure 2** Schematic illustration of the nanovaccine targeting the STING pathway for personalized immunotherapy for cancer<sup>[15]</sup>

**A:** Fabrication of the nanovaccine; **B:** Schematic illustration of the nanovaccine boosting the STING pathway and augmenting the T-cell immune response for improved cancer immunotherapy

## 2 增强肿瘤细胞免疫原性

低免疫原性和免疫抑制肿瘤微环境是肿瘤免疫治疗应用的主要障碍。目前,一些免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)诱导剂如化疗药物、放疗等已被报道通过触发ICD来促进肿瘤免疫治疗<sup>[19]</sup>。肿瘤细胞发生ICD时,会释放肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)和损伤相关分子模式(damage associated molecule pattern, DAMP),如三磷酸腺苷(adenosine-triphosphate, ATP)、高迁移率族蛋白(high mobility group protein, HMGB1)、钙网蛋白(calreticulin, CRT)和热休克蛋白(heat shock protein, HSP90)等。DAMP会促进抗原提呈细胞活化,诱导抗原特异性T细胞的活

化,促进免疫细胞的瘤内浸润,进而增强实体肿瘤中的免疫应答。与其他疗法相比,ICD诱导剂可以在实现肿瘤化学治疗的同时,调动免疫刺激损伤相关分子模式,促进树突细胞的成熟,激活T细胞,从而实现肿瘤化学-免疫治疗<sup>[20]</sup>。

根据激活细胞死亡现象或释放DAMP的能力,ICD诱导剂可分为I型和II型两类不同的类别<sup>[21]</sup>。I型ICD诱导剂不通过内质网应激诱导肿瘤细胞死亡,而是诱发侧性内质网应激效应,产生免疫原性;II型ICD诱导剂选择性靶向内质网,通过ROS依赖的内质网应激释放危险信号和凋亡信号。大部分化疗药物如阿霉素(DOX)、米托蒽酮、奥沙利铂(OXA)和环磷酰胺等属于I型诱导剂<sup>[22]</sup>。放射治疗和光动力疗法等属于II型ICD诱

导剂。然而由于较强的不良反应和低肿瘤靶向效率,ICD 诱导剂的应用受到了限制。纳米药物递送载体与 ICD 诱导剂相结合,可以为促进 ICD 诱导剂在肿瘤免疫治疗中的临床应用提供了一种很有前途的策略。Song 等<sup>[23]</sup>研究者将奥沙利铂与磷脂分子(DSPE)通过化学偶联构建了两亲性奥沙利铂前药分子,并以此为材料构建了脂质体。随后采用薄膜分散法将二甲双胍包载至脂质体的水溶性空腔内部,得到 met-oxa(IV)-liposome。静脉注射后的 met-oxa(IV)-liposome 可通过被动靶向作用累积到肿瘤组织,释放出二甲双胍和奥沙利铂。二甲双胍可以调节肿瘤细胞的代谢,减少其耗氧量,缓解肿瘤缺氧,而奥沙利铂通过诱导肿瘤免疫原性细胞死亡(ICD),促进肿瘤组织中的细胞毒性 T 淋巴细胞浸润,激发抗肿瘤免疫,从而对 CT26 肿瘤产生较高的抑制作用。除了奥沙利铂外,其他化疗药物如紫杉醇、阿霉素等也被证实可以诱导肿瘤细胞免疫原性死亡。Qiu 等<sup>[24]</sup>构建了 ATN 肽修饰的还原敏感纳米胶束,用作递送紫杉醇(PTX)治疗三阴乳腺癌。基于 ATN 肽与肿瘤细胞高表达的整合素受体  $\alpha 5\beta 1$  的特异性结合,该纳米胶束通过主动靶向作用进入肿瘤组织,诱导三阴乳腺癌产生强的 ICD 效应。当与 nano-STING 激动剂联合使用时,明显增加了肿瘤和脾脏中 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的含量,同时减少调节性 T 细胞(regulatory T, Treg)的含量。体内抗肿瘤研究证实,联合给药组不仅显著抑制了 4T1 原发肿瘤的生长,而且还可以发挥远端效应,杀伤肺转移的癌细胞。

放射治疗(radiotherapy, RT)、光动力治疗(photodynamics therapy, PDT)和声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)等通过 ROS 诱导内质网应激诱发肿瘤细胞 ICD 效应。然而肿瘤是一个缺氧的环境,严重影响了 ROS 产生,导致 ICD 免疫反应不足。因此缓解肿瘤缺氧是提高 ICD 效应的关键。一些金属氧化物,如氧化铜、氧化锰和氧化铁,经常被用来催化过氧化氢( $H_2O_2$ )产生氧。例如 Liang 等<sup>[25]</sup>制备了一种核壳结构的金纳米笼@二氧化锰(AuNC@MnO<sub>2</sub>, AM)纳米粒子。二氧化锰外壳在肿瘤微环境的 pH 和  $H_2O_2$  作用下,发生降解,并产生大量的氧气。同时氧气的产生增强了金纳米笼内核的 PDT 效应,促进了强大的 ROS 的产生。荧光(FL)/光声(PA)/磁共振(MR)多模态成像证实了该

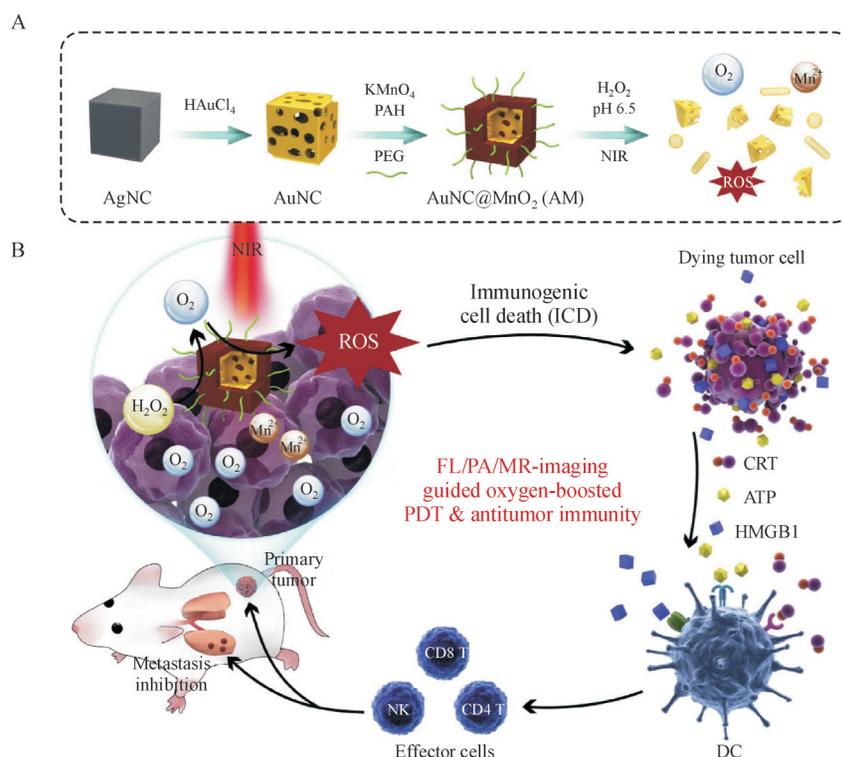
纳米粒子在肿瘤部位的有效积累,并改善了局部缺氧。体内药效实验验证纳米粒子不仅有效地破坏了原发肿瘤,而且还引起了强烈的 ICD 效应和损伤相关分子模式(DAMPs)的释放,随后诱导 DC 成熟和效应 T 细胞的激活,从而有力地激起对转移性三阴性乳腺癌(mTNBC)的系统性抗肿瘤免疫反应。除了 ROS 外,内质网应激也是激活 ICD 的关键因素。采用内质网靶向策略将有助于增强 ICD 的效果。Li 等<sup>[26]</sup>构建了一种 PTT/PDT 组合纳米系统。该纳米系统由两种靶向内质网的纳米粒子构成,即 FAL-ICG-HAuNS 和 FAL-Hb-lipo。FAL-ICG-HAuNS 是在空心金纳米球(HAuNS)上共价偶联钆光敏剂 ICG,并通过进一步修饰内质网靶向肽 FAL 肽构建而成。FAL-Hb-lipo 是将血红蛋白(Hb)封装在 FAL 肽修饰的脂质体中得到。研究结果证实 FAL-ICG-HAuNS 和 FAL-Hb-lipo 在细胞内化后都显示出较强的内质网特异性累积。FAL-Hb-lipo 能够释放氧气,缓解缺氧环境,增强 FAL-ICG-HAuNS 介导的 PTT/PDT,进而产生强大的基于 ROS 的内质网应激。特定的内质网压力导致 CRT 有效地转移到细胞表面。CRT 暴露作为一个“eat me”的信号,刺激新生的 DC 成熟并诱导增强的免疫反应。

### 3 调节肿瘤微环境

肿瘤微环境的组成是肿瘤与免疫相互作用的关键决定因素。肿瘤相关微环境(tumour-associated microenvironment, TME)是肿瘤细胞存在的周围微环境,由中性粒细胞、DC 细胞、T 细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、微血管、各种信号及分子细胞因子等构成<sup>[27]</sup>。肿瘤细胞可以释放各种细胞信号分子,进而影响其免疫微环境,诱导免疫耐受,抑制抗肿瘤免疫反应。此外,肿瘤微环境中 Treg 细胞、肿瘤相关巨噬细胞、肿瘤相关成纤维细胞以及髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs),可以增加免疫抑制和肿瘤细胞的逃避,进一步增加了肿瘤免疫微环境的复杂性<sup>[28]</sup>。因此,针对免疫抑制肿瘤相关微环境造成的障碍,灵活设计纳米药物递送系统来靶向免疫抑制细胞或通路,降低肿瘤微环境的免疫抑制作用,有望增强肿瘤免疫治疗效果。

#### 3.1 调节肿瘤相关巨噬细胞

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macro-



**Figure 3** Schematic illustration of the design and function of AuNC@MnO<sub>2</sub> (AM) as tumor microenvironment responsive oxygen producer for oxygen-boosted immunogenic photodynamic therapy (PDT)<sup>[25]</sup>

A: Preparation procedure of core-shell AM nanoparticles and the applications in acid/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-responsive oxygen-boosted PDT; B: Therapeutic mechanism of AM for multimodal imaging guided oxygen-boosted PDT

phages, TAMs)是肿瘤微环境中的一种重要的间质细胞,由两种类型构成,分别对肿瘤细胞起到抑制或促进作用。M1型巨噬细胞具有抗肿瘤作用,可以分泌经典的炎症细胞因子,通过促进肿瘤细胞坏死和免疫细胞浸润到肿瘤微环境中来杀死肿瘤。M2型巨噬细胞主要发挥促进肿瘤生长、侵袭和转移的作用,包括降解肿瘤细胞外基质、破坏基底膜、促进血管生成和招募免疫抑制细胞等<sup>[29]</sup>。因此,通过纳米药物递送系统调节 TAMs,将有利于增强抗肿瘤免疫反应。总体策略包括3个方面,即阻断巨噬细胞募集,干扰 TAMs 存活,将 M2 型 TAMs 重塑为 M1 型。例如, Han 等<sup>[30]</sup>使用超声波双乳技术制造了包载黄芩苷和黑色素瘤抗原 Hgp 肽的 PLGA 纳米颗粒。该纳米颗粒进一步装载了 CpG 片段,并在其表面共价修饰了 M2pep 和  $\alpha$ -pep 肽,以构建得到双重靶向 M2 型 TAMs 的新型纳米复合物。结果显示该纳米复合物可以有效靶向 M2 型 TAMs,并在细胞内释放 CpG。CpG 作为一种免疫刺激物,可以将 M2 型 TAMs 逆转为 M1 型 TAMs,

从而实现重塑肿瘤微环境,诱导免疫细胞浸润。肿瘤细胞分泌多种刺激因子,例如巨噬细胞集落刺激因子(MCSF),可以与巨噬细胞上的酪氨酸激酶受体 CSF-1R 结合,导致 M2 极化。因此阻断 CSF-1R 信号通路可以将 M2 表型重塑到 M1 型。Liaw 等<sup>[31]</sup>采用羟基化的聚酰胺-胺(PAMAM)树枝状大分子包载 CSF-1R 抑制剂 BLZ-945,得到一种粒径为 5.3 nm 的纳米粒。由于该纳米粒的粒径小、中性的表面电荷和高密度的表面羟基,因此能够穿过血脑屏障,并定位在活化的小胶质细胞/巨噬细胞内,而无需额外的靶向配体。释放的 BLZ-945 将 M2 表型重塑到 M1 型,逆转肿瘤免疫微环境,提高了肿瘤免疫治疗效果。

### 3.2 干扰肿瘤相关中性粒细胞

中性粒细胞是先天免疫的重要组成部分,是对抗微生物感染的重要战斗免疫细胞。在肿瘤中,中性粒细胞占浸润肿瘤组织中的免疫细胞的很大一部分,被称为肿瘤相关中性粒细胞(tumor-associated neutrophils, TANs)。TANs 对肿瘤具有

双重作用,即抗肿瘤(N1亚群)和促肿瘤活性(N2亚群)。N1亚群TANs通过直接杀瘤活性和抗体依赖的细胞毒性等机制实现抗肿瘤活性,而N2-TANs通过增强肿瘤细胞转移、促进血管生成和抑制适应性免疫细胞等机制达到促进肿瘤生长的作用<sup>[32]</sup>。因此采用纳米药物策略干扰中性粒细胞发育和功能,破坏其免疫抑制功能和恢复其抗癌特性也逐渐成为了一种有前景的治疗策略<sup>[33-34]</sup>。例如,中性粒细胞释放的白三烯,可促进循环癌细胞在肺部的生存和转移,并最终形成肺转移。通过设计中性粒细胞靶向纳米粒,可以抑制中性粒细胞(促炎白三烯)的促转移活性。Tang等<sup>[35]</sup>制备了含有两个5-羟色胺(5-HT)末端的聚(乳酸-聚乙二醇)-聚(乙二醇)聚合物(PLGA-PEG-bis-5HT),封装光敏剂HPPH和5-脂氧化酶抑制剂Zileuton,得到治疗性纳米药物。该纳米粒到达肿瘤组织后,在高表达的髓过氧化物酶(MPO)催化下,可以发生交联形成粒径较大的纳米聚集体,增强了在肿瘤组织中的滞留。近红外光照下,光敏剂HPPH产生PDT,引起急性炎症,促进靶向中性粒细胞的纳米药物在4T1肿瘤中的积累和滞留,有效地抑制肿瘤生长。更重要的是,该纳米粒通过持续释放Zileuton,抑制了白三烯的产生,同时也阻止了中性粒细胞介导的肺转移。

### 3.3 靶向肿瘤相关成纤维细胞

肿瘤微环境中肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)通过与癌细胞的细胞相互交流,对肿瘤具有促进作用。同时CAFs也可以通过分泌细胞外基质(ECM)等成分构成坚实的物理屏障,阻碍纳米药物在肿瘤组织内的渗透和扩散,削弱肿瘤浸润性淋巴细胞(TILs)的浸润。此外,CAFs也通过分泌细胞因子,诱导免疫耐受的微环境<sup>[36]</sup>。因此,CAFs作为一种潜在治疗靶点得到了广泛的研究。可以通过调节CAFs的形成、消除CAFs、重塑CAFs等策略改善药物的递送效率和缓解免疫抑制,达到增强抗肿瘤免疫治疗的目的。Panagi等<sup>[37]</sup>采用聚乙二醇-b聚(苜基谷氨酸)共聚物(PEG-PBLG)与曲尼司特自组装形成纳米胶束。曲尼司特是一种抗纤维化药物,可以通过抑制TGF- $\beta$ 信号通路,达到重塑CAFs的目的。当载曲尼司特的纳米胶束与免疫疗法联合使用后,T细胞在肿瘤组织的浸润明显增强,同时产生有效的抗

肿瘤免疫效果。相似地,另一项研究<sup>[38]</sup>将肿瘤细胞膜包覆在IR780修饰的脂质纳米粒表面,得到一种多功能的膜纳米颗粒平台(M/IR NPs),用于装载PD-1/PD-L1抑制剂BMS202。该纳米颗粒通过同源靶向机制到达原发肿瘤和转移病灶,并在激光照射下响应性地释放BMS202。一方面BMS202显著减弱了肿瘤相关的免疫抑制信号,并协同诱导T细胞免疫以抑制肿瘤的生长和转移;另一方面纳米颗粒也明显降低了肿瘤微环境中的CAFs,增加了TIL在肿瘤组织中的渗透率。

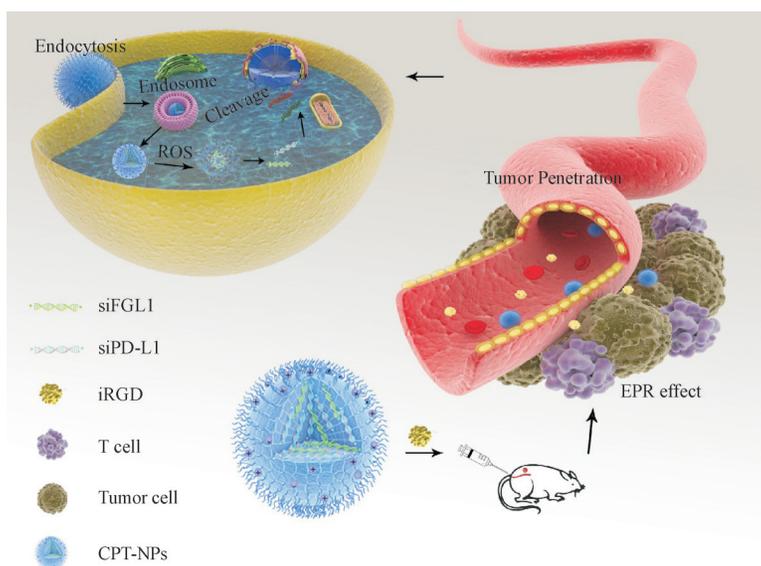
## 4 直接干扰肿瘤免疫逃逸通路

肿瘤微环境中存在着大量的免疫抑制信号。首先肿瘤细胞本身或肿瘤浸润淋巴细胞可异常表达多种免疫检查点,如PD-1/PD-L1、LAG-3、TIM3和TIGIT等<sup>[39-40]</sup>,抑制抗原特异性T细胞的激活,协助肿瘤实现免疫逃逸。此外,肿瘤细胞释放的免疫调节分子,如TGF- $\beta$ <sup>[41]</sup>、吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)<sup>[42]</sup>等,可以阻止效应T细胞功能,甚至导致肿瘤内T细胞耗竭。耗竭的T细胞会发生功能失调,无法产生细胞毒作用,同时也失去了产生抗肿瘤细胞因子如IL-2、TNF $\alpha$ 等能力,导致肿瘤免疫治疗效率降低<sup>[43]</sup>。因此,灵活设计纳米药物递送系统阻断肿瘤免疫逃逸通路,可以激活抗肿瘤免疫应答。

肿瘤微环境中免疫检查点的高表达有助于肿瘤免疫逃逸,而阻断该通路可以增强机体内源性抗肿瘤免疫效应。大量研究表明采用免疫检查点抑制剂阻断PD-1/PD-L1信号通路,可逆转免疫抑制肿瘤微环境,恢复T细胞的抗肿瘤活性,增强肿瘤免疫治疗<sup>[44]</sup>。Gao等<sup>[45]</sup>制备了丙磺酸接枝的聚(酰胺)(PAMAM)树状大分子,并将其包被在金纳米粒子表面,形成纳米粒。该纳米粒通过电荷作用与PD-1 siRNA(siPD-1)形成纳米复合物,用于沉默T细胞中的PD-1基因,恢复抗肿瘤功能。Yang等<sup>[46]</sup>采用PEI阳离子脂质纳米颗粒包载PD-L1-siRNA和表皮生长因子受体EGFR短肽疫苗,从而通过协同疗法增强对EGFR突变的非小细胞肺癌的抗肿瘤能力。实验结果证明该纳米颗粒可以有效下调A549癌细胞表面的PD-L1水平,恢复T细胞的抗肿瘤活性,同时也增加了CD8<sup>+</sup>T细胞的活化和浸润。

然而由于仅仅阻断单一的免疫逃逸信号通路,不足以实现更强的抗肿瘤免疫效应。FGL1/LAG-3是一种新的免疫逃逸机制,与PD-1/PD-L1信号通路类似,对T细胞具有多种生物学调控作用<sup>[47]</sup>。通过对FGL1/LAG-3和PD-1/PD-L1信号通路的双重阻断,将极大地提高T细胞对肿瘤细胞的杀伤能力。Wan等<sup>[48]</sup>以聚阳离子材料聚赖氨酸(PLL)为骨架,共价接枝上ROS敏感基团硫缩酮和顺乌头酸。将该聚合物可以通过电荷相互作用与FGL1 siRNA和PD-L1 siRNA形成纳米颗粒。然后将其与细胞穿透肽iRGD共同给药,促使基因药物穿透肿瘤组织。在肿瘤细胞高表达的ROS作用下,纳米颗粒解体,释放FGL1 siRNA和PD-L1 siRNA,干扰FGL1和PD-L1蛋白的表达,解除免疫抑制。体内动物评价发现FGL1/LAG-3和PD-1/PD-L1信号通路的双重阻断,有助于改善肿瘤免疫抑制微环境,促进杀伤性T细胞的免疫应答,同时也

增加了效应CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞的浸润。IDO是一种含亚铁血红素的氧化还原酶,可以将色氨酸降解为犬尿氨酸。犬尿氨酸可直接抑制细胞毒性T淋巴细胞的功能,并增强Treg活性,发挥免疫抑制的作用<sup>[49]</sup>。因此,IDO介导的色氨酸代谢通路是促使肿瘤免疫逃逸的重要因素,通过抑制IDO可以避免肿瘤微环境中T细胞增殖受抑制,激活或增强自身免疫功能。Mei等<sup>[50]</sup>采用脂质体作为纳米载体,用于共递送ICD诱导剂米托蒽醌和IDO-1抑制剂吡啶莫德,实现针对实体瘤的化疗-免疫联合疗法。研究结果证实该脂质体在CT26结肠癌小鼠模型中明显下调了IDO-1表达,干预免疫逃逸机制,并协同放大了米托蒽醌诱导的ICD效应。同时,该脂质体也诱发了较强的免疫反应,并降低了Foxp3<sup>+</sup>Treg的数量,增加穿孔蛋白的释放。激活的免疫系统不仅抑制了肿瘤增长,而且明显延长荷瘤小鼠的生存期。



**Figure 4** Schematic of co-delivering siFGL1 and siPD-L1 with ROS-sensitive nanoparticles facilitated by tumor-penetrating peptide iRGD for efficient cancer therapy<sup>[48]</sup>

## 5 结语与展望

肿瘤免疫治疗给患者带来了革命性的治疗模式。但是由于复杂的肿瘤免疫逃逸机制,肿瘤免疫疗法仍存在着个体差异大,阳性效率率低以及不良反应等难题亟待解决。纳米药物递送载体改善免疫治疗药物的药代动力学特征,提高生物利用度,降低不良反应,为肿瘤免疫治疗提供了新思路。

根据激活抗肿瘤免疫应答的机制进行分类,纳米药物递送载体主要从以下4方面提供了可行的策略:1)增强疫苗对DC细胞的靶向性和摄取效率,从而增强免疫应答效力;2)增强肿瘤细胞免疫原性;3)调节肿瘤微环境,如调控肿瘤相关巨噬细胞极化、干扰肿瘤相关中性粒细胞、重塑肿瘤相关成纤维细胞等;4)直接干扰肿瘤免疫逃逸通路,如PD-1/PD-L1、FGL1/LAG-3和IDO等。然而,肿瘤组

织具有高度异质性的微环境,不同患者或者同一患者不同时期的肿瘤均存在差异。肿瘤异质性的广泛存在为肿瘤免疫治疗带来了极大的困难。随着基因组学及肿瘤病理机制的广泛研究,研究者可以深入研究筛选出肿瘤相关标志物,从分子水平制定个性化治疗方案,从而实现最佳的治疗效果。此外,纳米递药载体也存在着制备工艺复杂、质量不稳定、批间差异大等难题仍需解决。相信随着纳米技术、生物医学和肿瘤免疫研究的深入发展,纳米药物递送载体有望为肿瘤免疫疗法领域产生有效的推动作用。

## References

- [1] Kruger S, Ilmer M, Kobold S, *et al.* Advances in cancer immunotherapy 2019—latest trends[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, **38**(1):268.
- [2] Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle[J]. *Immunity*, 2013, **39**(1):1-10.
- [3] Li QQ, Shi ZQ, Zhang F, *et al.* Symphony of nanomaterials and immunotherapy based on the cancer-immunity cycle[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, **12**(1):107-134.
- [4] Starzner AM, Preusser M, Berghoff AS. Immune escape mechanisms and therapeutic approaches in cancer: the cancer-immunity cycle [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2022, **14**: 17588359221096219.
- [5] Schlake T, Thess A, Thran M, *et al.* mRNA as novel technology for passive immunotherapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, **76**(2): 301-328.
- [6] Ma S, Li XC, Wang XY, *et al.* Current progress in CAR-T cell therapy for solid tumors[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, **15**(12):2548-2560.
- [7] Chen LP, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future[J]. *J Clin Invest*, 2015, **125**(9):3384-3391.
- [8] Saxena M, van der Burg SH, Melief CJM, *et al.* Therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, **21**(6):360-378.
- [9] Yu MH, Yang W, Yue WW, *et al.* Targeted cancer immunotherapy: nanoformulation engineering and clinical translation [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, **9**(35):e2204335.
- [10] Liu ZG, Jiang W, Nam J, *et al.* Immunomodulating nanomedicine for cancer therapy [J]. *Nano Lett*, 2018, **18**(11): 6655-6659.
- [11] Francis MJ. Recent advances in vaccine technologies [J]. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2018, **48**(2):231-241.
- [12] Davodabadi F, Sarhadi M, Arabpour J, *et al.* Breast cancer vaccines: new insights into immunomodulatory and nano-therapeutic approaches[J]. *J Control Release*, 2022, **349**:844-875.
- [13] Mi Y, Hagan CT 4th, Vincent BG, *et al.* Emerging nano-/ micro-approaches for cancer immunotherapy [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, **6**(6):1801847.
- [14] Chen J, Fang HP, Hu YY, *et al.* Combining mannose receptor mediated nanovaccines and gene regulated PD-L1 blockade for boosting cancer immunotherapy [J]. *Bioact Mater*, 2022, **7**: 167-180.
- [15] Zhou L, Hou B, Wang DG, *et al.* Engineering polymeric prodrug nanoplatform for vaccination immunotherapy of cancer [J]. *Nano Lett*, 2020, **20**(6):4393-4402.
- [16] Yang R, Xu J, Xu LG, *et al.* Cancer cell membrane-coated adjuvant nanoparticles with mannose modification for effective anti-cancer vaccination[J]. *ACS Nano*, 2018, **12**(6):5121-5129.
- [17] Lim JP, Gleeson PA. Macropinocytosis: an endocytic pathway for internalising large gulps [J]. *Immunol Cell Biol*, 2011, **89**(8):836-843.
- [18] Yang C, Zhang F, Chen FM, *et al.* Biomimetic nanovaccines potentiating dendritic cell internalization via CXCR4-mediated macropinocytosis [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, **12**(5): e2202064.
- [19] Guo JF, Zou YF, Huang L. Nano delivery of chemotherapeutic ICD inducers for tumor immunotherapy [J]. *Small Methods*, 2023:e2201307.
- [20] Li YH, Liu XH, Zhang X, *et al.* Immunogenic cell death inducers for enhanced cancer immunotherapy [J]. *Chem Commun*, 2021, **57**(91):12087-12097.
- [21] 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.
- [22] Zhou JY, Wang GY, Chen YZ, *et al.* Immunogenic cell death in cancer therapy: present and emerging inducers [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, **23**(8):4854-4865.
- [23] Song L, Hao Y, Wang CJ, *et al.* Liposomal oxaliplatin prodrugs loaded with metformin potentiate immunotherapy for colorectal cancer[J]. *J Control Release*, 2022, **350**:922-932.
- [24] Qiu XY, Qu Y, Guo BB, *et al.* Micellar paclitaxel boosts ICD and chemo-immunotherapy of metastatic triple negative breast cancer[J]. *J Control Release*, 2022, **341**:498-510.
- [25] Liang RJ, Liu LL, He HM, *et al.* Oxygen-boosted immunogenic photodynamic therapy with gold nanocages@manganese dioxide to inhibit tumor growth and metastases [J]. *Biomaterials*, 2018, **177**:149-160.
- [26] Li W, Yang J, Luo LH, *et al.* Targeting photodynamic and photothermal therapy to the endoplasmic reticulum enhances immunogenic cancer cell death [J]. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 3349.
- [27] Emens LA, Silverstein SC, Khleif S, *et al.* Toward integrative cancer immunotherapy: targeting the tumor microenvironment [J]. *J Transl Med*, 2012, **10**:70.
- [28] Cao J, Yan Q. Cancer epigenetics, tumor immunity, and immu-

- notherapy[J]. *Trends Cancer*, 2020, **6**(7):580-592.
- [29] Xiang XN, Wang JG, Lu D, *et al.* Targeting tumor-associated macrophages to synergize tumor immunotherapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, **6**(1):75.
- [30] Han SL, Wang WJ, Wang SF, *et al.* Tumor microenvironment remodeling and tumor therapy based on M2-like tumor associated macrophage-targeting nano-complexes [J]. *Theranostics*, 2021, **11**(6):2892-2916.
- [31] Liaw K, Reddy R, Sharma A, *et al.* Targeted systemic dendrimer delivery of CSF-1R inhibitor to tumor-associated macrophages improves outcomes in orthotopic glioblastoma [J]. *Bioeng Transl Med*, 2021, **6**(2):e10205.
- [32] Zhao Y, Rahmy S, Liu ZM, *et al.* Rational targeting of immunosuppressive neutrophils in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, **212**:107556.
- [33] Zhang YT, Guoqiang L, Sun MM, *et al.* Targeting and exploitation of tumor-associated neutrophils to enhance immunotherapy and drug delivery for cancer treatment [J]. *Cancer Biol Med*, 2020, **17**(1):32-43.
- [34] Que HY, Fu QM, Lan TX, *et al.* Tumor-associated neutrophils and neutrophil-targeted cancer therapies [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022, **1877**(5):188762.
- [35] Tang LG, Wang ZT, Mu QC, *et al.* Targeting neutrophils for enhanced cancer theranostics [J]. *Adv Mater*, 2020, **32**(33):e2002739.
- [36] Mao XQ, Xu J, Wang W, *et al.* Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives [J]. *Mol Cancer*, 2021, **20**(1):131.
- [37] Panagi M, Mpekris F, Chen PW, *et al.* Polymeric micelles effectively reprogram the tumor microenvironment to potentiate nano-immunotherapy in mouse breast cancer models [J]. *Nat Commun*, 2022, **13**(1):7165.
- [38] Tan YN, Huang JD, Li YP, *et al.* Near-infrared responsive membrane nanovesicles amplify homologous targeting delivery of anti-PD immunotherapy against metastatic tumors [J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, **11**(6):e2101496.
- [39] Tang XY, Luo ZL, Xiong YL, *et al.* The proliferative role of immune checkpoints in tumors: double regulation [J]. *Cancers*, 2022, **14**(21):5374.
- [40] Archilla-Ortega A, Domuro C, Martin-Liberal J, *et al.* Blockade of novel immune checkpoints and new therapeutic combinations to boost antitumor immunity [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, **41**(1):62.
- [41] Yang L, Pang YL, Moses HL. TGF- $\beta$  and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression [J]. *Trends Immunol*, 2010, **31**(6):220-227.
- [42] Liu M, Wang X, Wang L, *et al.* Targeting the IDO1 pathway in cancer: from bench to bedside [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, **11**(1):100.
- [43] Haist M, Mailänder V, Bros M. Nanodrugs targeting T cells in tumor therapy [J]. *Front Immunol*, 2022, **13**:912594.
- [44] Xue S, Hu M, Iyer V, *et al.* Blocking the PD-1/PD-L1 pathway in glioma: a potential new treatment strategy [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, **10**(1):81.
- [45] Gao Y, Ouyang ZJ, Yang C, *et al.* Overcoming T cell exhaustion via immune checkpoint modulation with a dendrimer-based hybrid nano complex [J]. *Adv Healthc Mater*, 2021, **10**(19):e2100833.
- [46] 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.
- [47] Huo JL, Wang YT, Fu WJ, *et al.* The promising immune checkpoint LAG-3 in cancer immunotherapy: from basic research to clinical application [J]. *Front Immunol*, 2022, **13**:956090.
- [48] Wan WJ, Huang G, Wang Y, *et al.* Coadministration of iRGD peptide with ROS-sensitive nanoparticles co-delivering siFGL1 and siPD-L1 enhanced tumor immunotherapy [J]. *Acta Biomater*, 2021, **136**:473-484.
- [49] Selvan SR, Dowling JP, Kelly WK, *et al.* Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO): biology and target in cancer immunotherapies [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2016, **16**(9):755-764.
- [50] Mei KC, Liao YP, Jiang JH, *et al.* Liposomal delivery of mitoxantrone and a cholesteryl indoximod prodrug provides effective chemo-immunotherapy in multiple solid tumors [J]. *ACS Nano*, 2020, **14**(10):13343-13366.