多功能纳米探针用于医学影像引导下的肿瘤免疫治疗

宣扬^{1,2}, 侯效林¹, 刘波¹, 赵元弟^{1,3*}

1. 华中科技大学武汉光电国家研究中心-生命科学与技术学院, 生物医学工程系, Britton Chance生物医学光子学研究中心, 武汉 430074;

2. 大连民族大学, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 大连 116600;

3. 华中科技大学, 生物医学光子学教育部重点实验室, 武汉 430074

* 联系人, E-mail: zydi@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2021-05-01; 接受日期: 2021-06-05; 网络版发表日期: 2021-09-20

国家重点研发计划(批准号: 2017YFA0700402)、国家自然科学基金(批准号: 81771878, 81971658, 91959109)、辽宁省-沈阳材料科学国家研究中心联合研发基金(批准号: 2019JH3/30100011)和华中科技大学自主创新研究基金(批准号: 2016YXMS253, 2017KFXKJC002, 2018KFYXKJC048)资助

摘要 除了手术、放疗和化疗等传统手段外, 免疫治疗作为一种新型的肿瘤治疗方法已引起人们的广泛关注. 大量研究表明, 多功能纳米探针可以实现肿瘤的成像与治疗, 同时利用纳米探针诱导肿瘤细胞死亡还可导致肿瘤抗原的释放, 引起肿瘤免疫治疗的特异性免疫反应, 因此将免疫治疗与多功能纳米探针相结合, 可实现肿瘤的早期诊断与治疗. 本文主要综述了多功能纳米探针用于荧光成像、CT成像以及磁共振成像等引导下的免疫治疗的研究进展, 并对其前景进行了展望.

关键词 多功能纳米探针, 多模态成像, 免疫治疗, 肿瘤治疗

癌症严重威胁着人类的健康与生命. 特别是在发展中国家, 有效筛查技术少、早期诊断技术水平低等因素导致癌症发现时多已发展为中晚期肿瘤, 再加上肿瘤治疗效果差且副作用大、复发转移率高和精准性差等原因导致治疗难度更大. 因此探索安全、简便的诊疗技术对提高癌症患者的生存率有非常重要的意义^[1].

肿瘤的早期诊断和治疗不仅可以减轻患者痛苦和减少经济负担, 而且能大大提高癌症的治愈率. 除了现有的芯片检测、基因检测等手段外, 医学影像技术, 如

CT、磁共振和荧光成像等也是肿瘤检测的重要手段. 另外, 精确靶向治疗也开始逐渐取代副作用较大的化学治疗. 同时具有成像功能和精确靶向治疗的多功能纳米探针能够实现肿瘤的诊疗一体化, 从而实现肿瘤的早期诊断和精准治疗^[2].

随着纳米技术的发展, 具有成像功能的纳米探针被广泛应用到生物医学领域中, 在肿瘤的早期诊断、活性药物筛选以及实时评价治疗效果等方面发挥着重要的作用. 纳米探针具有检测灵敏度高和能提供实时影像数据等特点, 可大大提高早期诊断的准确率, 降

引用格式: 宣扬, 侯效林, 刘波, 等. 多功能纳米探针用于医学影像引导下的肿瘤免疫治疗. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1532–1541

Xuan Y, Hou X L, Liu B, et al. Application of multifunctional nanoprobes in tumor immunotherapy guided by medical imaging (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1532–1541, doi: 10.1360/SSV-2019-0208

低误诊风险,进而为肿瘤的早期诊断治疗提供依据.因此,将纳米探针运用于肿瘤的早期诊断与疗效监测成为发展的必然趋势^[3,4].

肿瘤治疗的根本目的是阻断原发肿瘤的生长,抑制癌细胞转移和预防肿瘤复发.然而,多组分肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的存在使传统治疗手段的疗效受限,往往无法实现肿瘤的彻底治愈^[5~7].目前现有的肿瘤治疗手段仍存在各种问题,如手术切除治疗会带来较大创伤与创口,并且转移性的肿瘤手术切除很难根除肿瘤病灶;放射性治疗具有靶向性差以及高辐射等缺点;化学治疗容易引起肿瘤组织的耐药性;基因治疗是将治疗基因片段导入肿瘤细胞中杀伤癌细胞,对正常组织损伤较小,但基因治疗也存在转染效率低、可控性差等问题,并且基因治疗改变了细胞的基因表达,存在伦理道德问题;内分泌治疗需要在治疗前对激素受体状态进行检测,且起效慢、容易产生耐药性,副作用较为明显,仅对肿瘤有抑制作用,一般来说不能杀死肿瘤,需要配合手术、化疗、靶向或者放疗.2018年诺贝尔生理学或医学奖颁发给了美国科学家詹姆斯·艾利森和日本科学家本庶佑,以表彰他们在肿瘤免疫治疗方面所作出的贡献.肿瘤的免疫治疗是通过一些特有手段激活人体免疫系统,依靠自身免疫机能杀灭癌细胞和肿瘤组织.肿瘤的免疫治疗通常分为4类,包括特异型主动免疫治疗、特异性被动免疫治疗、非特异性过继免疫治疗以及非特异性免疫增强治疗.相对传统治疗手段,免疫治疗针对的是自身免疫系统而非癌细胞,因此免疫治疗不仅可以有效避免传统疗法的多数缺点,而且还具有传统治疗不具备的优点,如免疫细胞除对原发肿瘤有强烈的杀伤力,还能够识别循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)实现单细胞层面的杀伤,从而抑制转移灶的形成.许多研究显示,通过激活免疫系统治疗晚期或转移性肿瘤表现出显著效果,这促进了肿瘤免疫治疗在临床上的广泛应用.目前已有许多研究提出了一系列的免疫治疗方法,如细胞因子疗法^[8,9]、检查点阻断治疗^[10,11]、癌症纳米疫苗^[12~14]和嵌合抗原受体T细胞免疫疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)等^[15,16].同时多个肿瘤免疫治疗药物已经获得美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于临床.肿瘤免疫治疗由于其卓越的疗效和创新性,在2013年被*Science*评为年度最重

要的科学突破之一^[17].但临床试验结果显示,通过单一的免疫治疗很难起到理想的治疗效果,例如程序性死亡配体-1/程序性死亡受体-1(programmed cell death 1/programmed cell death ligand 1, PD-1/PD-L1)检查点阻断治疗响应率仅为20%.主要原因是肿瘤发育过程中形成了免疫抑制性的肿瘤微环境.同时,肿瘤细胞利用细胞表面高表达的“免疫刹车”受体(PD-L1)进行免疫逃逸,使人体的免疫系统无法正常识别肿瘤细胞,从而使肿瘤细胞在抗肿瘤免疫应答的各阶段得以幸存^[18,19].

随着纳米技术的快速发展,多功能纳米探针受到人们的广泛关注.多功能纳米探针因其具有快速、高灵敏、高分辨等成像特点,在肿瘤的早期诊断中发挥了巨大作用.多功能纳米探针可以实现对免疫治疗可视化指导与实时监测,对了解肿瘤免疫治疗的发展过程有重要的意义.本文针对用于成像引导下免疫治疗的多功能纳米探针进行了综述,并对该类型纳米探针的应用前景进行了展望.

1 医学影像引导下的免疫治疗

金纳米颗粒(gold nanoparticles)具有无毒性、可控性(大小和形状)和良好的CT造影能力等特点,被广泛应用于生物医学领域.Meir等人^[20]将金纳米颗粒包裹于葡萄糖内以增加金纳米颗粒的稳定性(包被葡萄糖的金纳米颗粒更容易被T细胞吞入),最后利用纳米金的CT造影能力对T细胞进行追踪(图1).利用T细胞吞噬金纳米颗粒进行CT成像的方法,可有效提升金纳米颗粒在体内的长效循环性和稳定性,有助于实现长时程的免疫治疗可视化指导与实时监测.结果表明,表达黑色素瘤受体的T细胞可以聚集在肿瘤部位,人们利用高分辨CT可以清晰观测到T细胞在肿瘤部位的迁移和富集过程.体外的细胞因子分泌和增殖实验表明,金纳米颗粒的装载并不会影响T细胞的功能.标记了金纳米颗粒的T细胞被注入荷黑色素瘤裸鼠体内,7天后的肿瘤体积大小与对照组差异极其显著,证明标记了金纳米颗粒的T细胞仍然拥有较好的抑瘤效果.这项工作首次利用实时CT成像技术追踪标记后的免疫细胞,评估其生物分布、迁移以及最终命运,并且提供了详细的肿瘤解剖信息,有助于阐明免疫细胞和肿瘤细胞之间的相互作用,为免疫治疗提供理论基础.

图1 体外金纳米颗粒标记T细胞后注射到小鼠体内, 利用CT成像技术在体内追踪T细胞

Figure 1 T-cells were labeled with gold nanoparticles *in vitro* before being injected into mice and tracked *in vivo* using computed tomography imaging

除了CT造影成像外, 磁性氧化铁纳米颗粒也被广泛应用在磁共振成像方面. Cai等人^[21]将pH敏感的N-(2-羟基)-环己亚胺与支链聚乙烯亚胺(polyethyleneimine, PEI)偶联, 用来紧密包裹超顺磁氧化铁, 形成具有核磁成像的PEI-C₇-SPIO纳米胶束(图2), 并利用纳米胶束表面的正电荷在胶束表面静电吸附特定的微环DNA(这些微环DNA可转染T细胞, 使其功能化, 产生特异性抗体, 激发免疫治疗), 形成最终的探针(polymer-inorganic hybrid nanocomposites PEI-C₇-SPIO/MC.DNA/CaP, PIHN), 然后利用氧化铁纳米颗粒进行核磁成像. 实验结果表明, 当氮磷比(N/P)在5~25之间时, 探针展现出低毒性, 细胞存活率均超过95%. 当N/P=25时, 探针的转染效率最高, 表达的双特异性抗体最多, 加之其氧化铁纳米颗粒优异的磁共振成像能力, 使其在诊疗中具有广阔的应用前景.

除了用多功能纳米探针作为成像试剂外, 有些研究直接用放射性同位素标记免疫检查点抑制剂, 如PD-L1和PD-1^[22-29]. 免疫检查点阻断是近年来公认的一种很有潜力的抗肿瘤免疫治疗方法. PD-L1是一种免疫抑制分子, 当其与PD-1结合时, 可抑制T细胞的活化^[30]. PD-1/PD-L1通路是免疫耐受的主要机制. PD-L1被认为是乳腺癌的治疗靶点, 约20%的乳腺癌患者表达PD-L1^[31-33]. 乳腺癌预后不良与PD-L1表达相关, PD-L1单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)已被FDA批准用于多种癌症的治疗^[34,35]. Natarajan等人^[22,23]开发了一种抗PD-1抗体, 并使用铈⁸⁹(⁸⁹Zr)或铜⁶⁴(⁶⁴Cu)进行标记, 实现了小鼠体内的表达PD-1受体的T细胞和淋巴组织成像. Heskamp等人^[25]开发了一种铟¹¹¹(¹¹¹In)标记的抗PD-L1抗体, 通过SPET/CT非侵入式成像技术检测了小鼠体内肿瘤细胞表面高表达的PD-L1受体. 以上研究通过放射性同位素成像检测

了肿瘤细胞表面PD-L1和T淋巴细胞表面PD-1受体的丰度, 为临床免疫治疗方案的制定提供了理论依据. 尽管这些放射性标记抗体作为显像剂具有亲和力高、抗原特异性强和易于生产等优点, 但其存在循环时间长、背景信号高、非特异性摄取和肿瘤渗透能力差等缺点^[24]. 这些缺点导致注射示踪剂后超过24 h才能实现观测目的.

为了克服放射性同位素标记抗体成像的这些局限性, Maute等人^[36]开发了一种具有高度竞争性的PD-L1非抗体拮抗剂, 其显示出较好的肿瘤穿透性. 将拮抗剂与⁶⁴Cu-DOTA(四氮杂环十二烷四乙酸)偶联, 作为PET示踪剂进行实验. 结果显示, 接种了PD-L1阳性肿瘤的小鼠在注射示踪剂1 h后就能观察到较高的肿瘤摄取(而且在24 h内持续强烈摄取)和良好的肿瘤信噪比. 除了利用同位素标记PD-1/PD-L1检查点抗体外, 细胞因子表达丰度可视化标记对研究临床治疗引起的免疫反应高低有重要的意义. 颗粒酶B是CD8⁺ T细胞和自然杀伤细胞在细胞免疫反应过程中释放的一种丝氨酸蛋白酶. Larimer等人^[37]实现了颗粒酶B的体内可视化. PET显像剂镓⁶⁸(⁶⁸Ga)-NOTA-GZP是一种放射性标记肽, 可用于检测免疫细胞释放颗粒酶B的含量, 通过颗粒酶B含量高低确定临床治疗是否能够引起免疫效应, 并确定下一阶段的免疫治疗方案. 实验结果表明, 在接受检查点阻断治疗的荷瘤小鼠中, ⁶⁸Ga-NOTA-GZP的摄取量反映了肿瘤颗粒酶B的表达量. 治疗12天后, 可根据⁶⁸Ga-NOTA-GZP的摄取量预测接受PD-1抑制剂和CTLA-1抑制剂治疗的荷瘤小鼠随后的肿瘤体积变化. 该结果为其进一步的临床研究及转化奠定了坚实的基础, 可弥补当前人体成像的不足, 为进一步优化患者选择、反应评估和治疗决策提供依据.

荧光成像因其检测快捷、灵敏度高和非侵入式

图2 聚合物-无机杂化纳米复合材料的制备及双特异性抗体免疫治疗

Figure 2 The preparation of polymeric-inorganic hybrid nanocomposites and the bispecific antibody (BsAb)-based immunotherapy

检测方式等特点受到了研究人员的青睐。通过对PD-L1抗体直接进行荧光标记以监测肿瘤细胞表面PD-L1的表达高低。Chatterjee等人^[28]将近红外荧光染料Licor800与PD-L1-mAb偶联合成探针NIR-PD-L1-mAb以检测不同乳腺癌细胞中PD-L1的表达, 结果发现, 更高的荧光信号强度出现在MDA-MB-231肿瘤细胞中(PD-L1阳性细胞), 相比而言, SUM149肿瘤细胞荧光很弱(PD-L1阴性细胞)。该结果表明, 表达PD-L1的阳性细胞可以通过该荧光探针精准检测。利用PD-L1阳性细胞和阴性细胞之间荧光信号的强弱, 可对治疗效果进行预测, 也可对PD-L1抗体治疗过程进行监测。

为了弥补单一成像方式的不足, Du等人^[38]开发了一种PD-L1-mAb靶向性且标记有磁共振成像造影剂Gd-DOTA和荧光染料NIRF的新型诊疗一体化纳米探针(PD-L1-PCI-Gd), 并对乳腺肿瘤中PD-L1的表达进行了磁共振和荧光双模成像。荧光成像显示, 与非靶向对照组相比, PD-L1靶向纳米颗粒在4T1肿瘤中的荧光强度不断升高, 最终荧光强度比背景高约2倍。同样, 与对照组相比, 4T1肿瘤的磁共振成像也显示出更高的信号强度。这种多功能纳米探针用于双模式的成像监测提高了检测的准确率, 适用于肿瘤的早期诊断。

2 医学影像引导下的多模式联合治疗

肿瘤的复发和转移及相应的并发症是造成患者死亡的主要原因。由于肿瘤微环境的复杂性, 单一治疗, 如手术治疗、化疗、放疗、免疫治疗、光热和光动力疗法等很难完全治愈癌症。目前, 联合治疗因其显著的疗效而受到越来越多的关注^[39-41]。它可以减少单一治疗的毒副作用或部分不良反应, 通过联合多种疗法达到不同治疗机制的协同作用^[42,43]。与传统治疗方式相比, 局部和非侵入式的治疗方式(光动力治疗、光热治疗)降低了系统治疗的毒副作用, 受到了很多关注。大量的研究表明, 光动力/光热治疗与免疫治疗相结合的联合治疗显示出优良的杀伤效果, 是目前肿瘤联合治疗最有效的策略之一^[34,44]。与手术切除不同, 光动力治疗和光热治疗不仅可以直接杀死肿瘤细胞以清除原发肿瘤^[45-47], 同时肿瘤细胞的死亡导致肿瘤相关抗原的释放, 在免疫佐剂的刺激下增强了抗原呈递细胞对抗原的摄取^[48], 产生了特异性的抗肿瘤免疫效应。因此, 光动力/光热治疗和免疫佐剂联合可以达到更有效的免疫治疗效果, 显著提高对残余肿瘤细胞的免疫治疗效率, 防止肿瘤复发。

经光动力治疗引起的肿瘤细胞死亡会释放损伤

相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs), 其中包含大量的肿瘤特异性抗原, 在抗原呈递细胞(如树突状细胞)的作用下有效地将肿瘤特异性抗原呈递给免疫细胞(如 $CD4^+$ T细胞和 $CD8^+$ T细胞等)^[49-51], 产生抗肿瘤的免疫效应. Yu等人^[52]采用装载了光敏剂光克洛(2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide- α , HPPH)的氧化石墨烯纳米复合材料(GO(HPPH)-PEG-HK)来产生光动力治疗作用, 并通过连接靶向整合素 $\alpha_v\beta_6$ 的特异性多肽实现了对肿瘤特异性光动力学治疗. 同时, 他们利用 $CD8^+$ T细胞设计了放射性核素和光学染料双重标记的分子影像探针. 在这个体系中, 研究人员利用Dy-Light755的光谱宽度广、荧光强度高、光学稳定性好、对pH不敏感、分子较小渗透性好等优点对 $CD8^+$ T细胞进行标记, 最后通过在体单光子发射计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT)和近红外荧光成像, 实现了对肿瘤靶向光动力学治疗后原位和远端的 $CD8^+$ T细胞浸润肿瘤可视化无创监测, 从而在机制上证实了 $CD8^+$ T细胞在肿瘤光动力学治疗免疫效应中的关键作用. 研究发现, 无论是使用该纳米材料对原位肿瘤进行杀伤, 还是将其杀死的肿瘤细胞制成“疫苗”接种, 均能有效抑制肿瘤的转移, 从而证实了该方法可激活机体的抗肿瘤免疫效应并产生长效免疫记忆.

除利用多功能探针杀伤肿瘤细胞释放相关抗原引起免疫反应外, 利用免疫佐剂提高免疫反应同样是肿瘤免疫治疗的重要方式. 水凝胶因其良好的生物相容性, 被广泛地应用到生物医学领域. 水凝胶的缓慢的药物释放特性, 改变了传统的给药方式.

胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(cytidine-phosphate-guanine, CpG)寡脱氧核苷酸作为一种新型的免疫佐剂, 在提高肿瘤治疗效果方面受到了广泛关注^[53]. Dong等人^[54]利用CpG自交联形成的纳米颗粒与IR820水凝胶相结合以提高佐剂对黑色素瘤的免疫反应. IR820水凝胶具有光热效应, 可诱导肿瘤抗原释放, 在免疫佐剂CpG的作用下激发特异性抗肿瘤免疫响应, 增强免疫治疗效果, 达到比单纯光热治疗或免疫治疗更有效的全身治疗效果. 此外, 双荧光复合水凝胶系统为免疫治疗和光热治疗提供了有效的成像指导, 有望揭示光热治疗和免疫治疗在联合治疗中各自发挥的重要作用.

对病人产生尽可能小的伤害并实现癌症的早期诊断和靶向治疗是肿瘤治疗的最终目标. 目前肿瘤的临床治疗主要包括手术治疗、放疗、化疗等. 其中化疗的效果显著, 但其对正常组织显示出很大的毒性和严重的毒副作用. 因此, 设计具有缓释功能的多功能探针, 实现化疗药物的缓慢释放和针对肿瘤的靶向分布, 不仅可以提高治疗效率, 还可以减少对正常组织的损伤^[55].

喜树碱可以有效杀死处于细胞S期和G2期的肿瘤细胞, 但其较高的毒性一直是一个亟待解决的问题. Sun等人^[56]使用具有CD44靶向性的透明质酸与喜树碱偶联形成的纳米颗粒包裹聚吡咯并在表面附有近红外荧光染料IRDye800CW, 形成具有靶向性的多功能纳米探针P@CH, 该探针不仅具有喜树碱的化疗功能、聚吡咯的光声与光热功能, 还具有IR-Dye800CW的近红外荧光成像能力, 而近红外荧光成像可以实现活体实时监测, 有助于人们了解探针在动物体内的分布, 进而指导光热治疗(图3). 在注射P@CH并进行激光照射后, 每3天注射一次抗PD-L1免疫药, 注射5次, 对接种了乳腺癌的小鼠进行观察. 结果表明, 该纳米颗粒既有效地避免了喜树碱对于正常组织细胞的毒性问题, 又同时利用光热治疗或化疗杀伤肿瘤释放出的抗原产生了抗肿瘤的免疫响应^[57]. 因此, 该纳米探针不仅可以促进原发肿瘤细胞的清除, 而且与免疫治疗联合使用可以有效防止肿瘤的复发和转移^[58,59].

Jin等人^[60]利用蜂毒肽制备了装载抗肿瘤药物阿霉素的melittin-RADA₃₂-DOX(MRD)多肽水凝胶(图4). 该水凝胶可负载DOX、姜黄素、紫杉醇以及光学显像剂(如Cy7和吡啶菁绿等), 并且药物的装载率几乎为100%. 水凝胶表现出了良好的生物相容性和可控的药物释放特性, 人们可通过负载近红外荧光小分子Cy7监测其分布与代谢情况. Cy7具有摩尔吸光系数高、特异性和灵敏度高以及毒性小等特点, 因此是非常适合应用于小鼠实验的荧光染料. 实验表明, 负载黑色素瘤的小鼠经单次注射后, 小鼠肿瘤抑制率高达95%, 缓释的药物释放特性降低了药物毒性. 蜂毒肽和DOX对肿瘤细胞的杀伤所释放的抗原被引流淋巴结(drain-ing lymphnode)中的树突细胞摄取, 随后激活的毒性T淋巴细胞攻击残余肿瘤细胞, 实现了化疗和免疫的联合治疗.

图 3 P@CH纳米颗粒的制备和主动靶向肿瘤细胞中高度表达CD44蛋白的示意图

Figure 3 Schematic illustration of the formation of P@CH nanoparticles to actively target CD44 protein, which is highly expressed in tumor cells

图 4 MRD水凝胶对黑色素瘤的抗肿瘤作用机制原理图

Figure 4 Mechanism of melittin-RADA32-DOX (MRD) hydrogel-mediated antitumor effects against melanoma

3 展望

相对于临床上的传统疗法, 免疫治疗被看做是一种温和的“人本主义”治疗方式, 其具有特异性强、持久性好、安全性高等优点, 被称为肿瘤治疗的“绿色疗法”, 为早中晚期癌症患者提供了新的治疗模式. 对于不能手术或忍受放化疗痛苦的癌症患者, 免疫治疗通过增强患者的免疫功能, 实现对肿瘤的治疗, 大大减轻了患者的痛苦. 并且和传统治疗方式相比, 免疫细胞的杀伤作用能在细胞水平上有效抑制肿瘤转移, 延长患者生存期, 提高生存质量.

然而, 作为新兴的治疗手段, 免疫治疗目前仍有许多问题亟待解决: (i) 效率较低, 如目前单药免疫治疗肺癌有效率一般只有20%~30%(PD-L1和PD-1); (ii) 毒副作用, 尽管免疫治疗的副反应非常小, 但是嵌合抗原受体T细胞免疫疗法会引起“细胞因子风暴”等严重副作用, 并且这些严重副反应表现多种多样, 这些副作用甚至可能会危及生命; (iii) 延迟应答, 临床上将治疗12周之后出现治疗疗效的现象归类为延迟应答, 相

较于其他治疗方法的快速起效, 免疫治疗因其独特的作用机制, 在治疗后可能不会立即引起可测量的肿瘤缩小, 而是在数周至数月后才生效. 此外, 免疫治疗大多有一定的局限性, 如治疗反应的个体差异大、成本极高、全身给药的副作用显著、体内药代动力学特征差等, 这些都需要进一步改进和完善. 目前, 大部分研究都是将免疫治疗与其他治疗手段相结合, 用来解决效率低和延迟应答这两个问题. 令人惊喜的是, 免疫治疗诸多优点已经被充分利用, 通过与其他材料的结合使用, 可达到扬长避短、优势互补的目的. 尤其是与多功能纳米探针的结合应用, 实现了多模态成像与多模态治疗一体化. 纳米探针作为造影剂, 既可以在肿瘤的早期对其进行检测, 又可有效实时监测肿瘤变化, 再配合光热/光动力学等治疗手段, 可大大提高免疫治疗效率, 在充分杀死原发肿瘤的同时, 利用免疫治疗的持久性应答特点, 亦可有效避免肿瘤的复发与迁移. 随着时间的推移, 人们对免疫治疗机制的理解会越来越透彻, 加之免疫治疗功能越来越多样化, 安全性越来越高, 其应用范围也必将越来越广.

参考文献

- Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA-A Cancer J Clin*, 2016, 66: 115–132
- Xuan Y, Zhang R Y, Zhao D H, et al. Ultrafast synthesis of gold nanosphere cluster coated by graphene quantum dot for active targeting PA/CT imaging and near-infrared laser/pH-triggered chemo-photothermal synergistic tumor therapy. *Chem Eng J*, 2019, 369: 87–99
- Xuan Y, Yang X, Song Z, et al. High-security multifunctional nano-bismuth-sphere-cluster prepared from oral gastric drug for CT/PA dual-mode imaging and chemo-photothermal combined therapy *in vivo*. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1900017
- Xuan Y, Zhang R Y, Zhang X S, et al. Targeting N-doped graphene quantum dot with high photothermal conversion efficiency for dual-mode imaging and therapy *in vitro*. *Nanotechnology*, 2018, 29: 355101
- Chen D S, Mellman I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*, 2013, 39: 1–10
- Danhier F, Feron O, Prat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release*, 2010, 148: 135–146
- Taube J M, Klein A, Brahmer J R, et al. Association of PD-1, PD-L ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 5064–5074
- Atkins M B. Cytokine-based therapy and biochemotherapy for advanced melanoma. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 2353s–2358s
- Lin W W, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*, 2007, 117: 1175–1183
- Hahn A W, Gill D M, Pal S K, et al. The future of immune checkpoint cancer therapy after PD-1 and CTLA-4. *Immunotherapy*, 2017, 9: 681–692
- Sharma P, Allison J P. The future of immune checkpoint therapy. *Science*, 2015, 348: 56–61
- Qian Y, Jin H, Qiao S, et al. Targeting dendritic cells in lymph node with an antigen peptide-based nanovaccine for cancer immunotherapy. *Biomaterials*, 2016, 98: 171–183
- Shi G N, Zhang C N, Xu R, et al. Enhanced antitumor immunity by targeting dendritic cells with tumor cell lysate-loaded chitosan nanoparticles vaccine. *Biomaterials*, 2017, 113: 191–202
- Zhu G, Zhang F, Ni Q, et al. Efficient nanovaccine delivery in cancer immunotherapy. *ACS Nano*, 2017, 11: 2387–2392

- 15 Han E Q, Li X, Wang C, et al. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for cancer immunotherapy: Progress and challenges. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 47
- 16 Jin H, Qian Y, Dai Y, et al. Magnetic enrichment of dendritic cell vaccine in lymph node with fluorescent-magnetic nanoparticles enhanced cancer immunotherapy. *Theranostics*, 2016, 6: 2000–2014
- 17 Berndt J D, Gough N R. 2013: Signaling breakthroughs of the year. *Sci Signal*, 2014, 7: eg1
- 18 Van Parijs L, Abbas A K. Homeostasis and self-tolerance in the immune system: Turning lymphocytes off. *Science*, 1998, 280: 243–248
- 19 Marshall J S, Warrington R, Watson W, et al. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2018, 14: 49
- 20 Meir R, Shamalov K, Betzer O, et al. Nanomedicine for cancer immunotherapy: Tracking cancer-specific T-cells *in vivo* with gold nanoparticles and CT imaging. *ACS Nano*, 2015, 9: 6363–6372
- 21 Cai J, Chen G, Jin R, et al. A core-shell polymeric-inorganic hybrid nanocomposite system for MRI-visible gene delivery application in cancer immunotherapy. *J Ind Eng Chem*, 2019, 76: 188–196
- 22 Natarajan A, Mayer A T, Xu L, et al. Novel radiotracer for immunopet imaging of PD-1 checkpoint expression on tumor infiltrating lymphocytes. *Bioconjugate Chem*, 2015, 26: 2062–2069
- 23 Natarajan A, Mayer A T, Reeves R E, et al. Development of novel immunopet tracers to image human PD-1 checkpoint expression on tumor-infiltrating lymphocytes in a humanized mouse model. *Mol Imag Biol*, 2017, 19: 903–914
- 24 Mayer A T, Natarajan A, Gordon S R, et al. Practical immuno-PET radiotracer design considerations for human immune checkpoint imaging. *J Nucl Med*, 2017, 58: 538–546
- 25 Heskamp S, Hobo W, Molkenboer-Kuenen J D M, et al. Noninvasive imaging of tumor PD-L1 expression using radiolabeled anti-PD-L1 antibodies. *Cancer Res*, 2015, 75: 2928–2936
- 26 Josefsson A, Nedrow J R, Park S, et al. Imaging, biodistribution, and dosimetry of radionuclide-labeled PD-L1 antibody in an immunocompetent mouse model of breast cancer. *Cancer Res*, 2016, 76: 472–479
- 27 Nedrow J R, Josefsson A, Park S, et al. Imaging of programmed cell death ligand 1: Impact of protein concentration on distribution of anti-PD-L1 spect agents in an immunocompetent murine model of melanoma. *J Nucl Med*, 2017, 58: 1560–1566
- 28 Chatterjee S, Lesniak W G, Gabrielson M, et al. A humanized antibody for imaging immune checkpoint ligand PD-L1 expression in tumors. *Oncotarget*, 2016, 7: 10215–10227
- 29 Lesniak W G, Chatterjee S, Gabrielson M, et al. PD-L1 detection in tumors using [^{64}Cu]atezolizumab with PET. *Bioconjugate Chem*, 2016, 27: 2103–2110
- 30 Fay A P, Signoretti S, Callea M, et al. Programmed death ligand-1 expression in adrenocortical carcinoma: an exploratory biomarker study. *J Immunother Cancer*, 2015, 3: 3
- 31 Mittendorf E A, Philips A V, Meric-Bernstam F, et al. PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2: 361–370
- 32 Bedognetti D, Maccalli C, Al Bader S B J, et al. Checkpoint inhibitors and their application in breast cancer. *Breast Care*, 2016, 11: 108–115
- 33 Topalian S L, Taube J M, Anders R A, et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 275–287
- 34 Xu J, Xu L, Wang C, et al. Near-infrared-triggered photodynamic therapy with multitasking upconversion nanoparticles in combination with checkpoint blockade for immunotherapy of colorectal cancer. *ACS Nano*, 2017, 11: 4463–4474
- 35 Xing Y, Zhao J, Conti P S, et al. Radiolabeled nanoparticles for multimodality tumor imaging. *Theranostics*, 2014, 4: 290–306
- 36 Maute R L, Gordon S R, Mayer A T, et al. Engineering high-affinity PD-1 variants for optimized immunotherapy and immuno-PET imaging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E6506–E6514
- 37 Larimer B M, Wehrenberg-Klee E, Dubois F, et al. Granzyme b PET imaging as a predictive biomarker of immunotherapy response. *Cancer Res*, 2017, 77: 2318–2327
- 38 Du Y, Liang X, Li Y, et al. Liposomal nanohybrid cerasomes targeted to PD-L1 enable dual-modality imaging and improve antitumor treatments. *Cancer Lett*, 2018, 414: 230–238
- 39 Guo L, Yan D D, Yang D, et al. Combinatorial photothermal and immuno cancer therapy using chitosan-coated hollow copper sulfide nanoparticles. *ACS Nano*, 2014, 8: 5670–5681
- 40 Da Silva C G, Rueda F, Löwik C W, et al. Combinatorial prospects of nano-targeted chemoimmunotherapy. *Biomaterials*, 2016, 83: 308–320

- 41 Zheng Q, Lin D, Lei L, et al. Engineered non-viral gene vectors for combination cancer therapy: A review. *J Biomed Nanotechnol*, 2017, 13: 1565–1580
- 42 Yata T, Takahashi Y, Tan M, et al. DNA nanotechnology-based composite-type gold nanoparticle-immunostimulatory DNA hydrogel for tumor photothermal immunotherapy. *Biomaterials*, 2017, 146: 136–145
- 43 Tian G, Zhang X, Gu Z, et al. Recent advances in upconversion nanoparticles-based multifunctional nanocomposites for combined cancer therapy. *Adv Mater*, 2015, 27: 7692–7712
- 44 Wang C, Xu L, Liang C, et al. Immunological responses triggered by photothermal therapy with carbon nanotubes in combination with anti-CTLA-4 therapy to inhibit cancer metastasis. *Adv Mater*, 2014, 26: 8154–8162
- 45 Tao Y, Ju E, Ren J, et al. Immunostimulatory oligonucleotides-loaded cationic graphene oxide with photothermally enhanced immunogenicity for photothermal/immune cancer therapy. *Biomaterials*, 2014, 35: 9963–9971
- 46 Peng J, Xiao Y, Li W, et al. Photosensitizer micelles together with IDO inhibitor enhance cancer photothermal therapy and immunotherapy. *Adv Sci*, 2018, 5: 1700891
- 47 Hu C, Fan F, Qin Y, et al. Redox-sensitive folate-conjugated polymeric nanoparticles for combined chemotherapy and photothermal therapy against breast cancer. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, 14: 2018–2030
- 48 Tao Y, Ju E, Liu Z, et al. Engineered, self-assembled near-infrared photothermal agents for combined tumor immunotherapy and chemophotothermal therapy. *Biomaterials*, 2014, 35: 6646–6656
- 49 Green D R, Ferguson T, Zitvogel L, et al. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 353–363
- 50 Krysko O, Løve Aaes T, Bachert C, et al. Many faces of DAMPs in cancer therapy. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e631
- 51 Kepp O, Senovilla L, Vitale I, et al. Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e955691
- 52 Yu X, Gao D, Gao L, et al. Inhibiting metastasis and preventing tumor relapse by triggering host immunity with tumor-targeted photodynamic therapy using photosensitizer-loaded functional nanographenes. *ACS Nano*, 2017, 11: 10147–10158
- 53 Ruiz-de-Angulo A, Zabaleta A, Gómez-Vallejo V, et al. Microdosed lipid-coated ⁶⁷Ga-magnetite enhances antigen-specific immunity by image tracked delivery of antigen and CpG to lymph nodes. *ACS Nano*, 2016, 10: 1602–1618
- 54 Dong X, Liang J, Yang A, et al. Fluorescence imaging guided CpG nanoparticles-loaded IR820-hydrogel for synergistic photothermal immunotherapy. *Biomaterials*, 2019, 209: 111–125
- 55 Zhang Y, Shen T T, Kirillov A M, et al. NIR light/H₂O₂-triggered nanocomposites for a highly efficient and selective synergistic photodynamic and photothermal therapy against hypoxic tumor cells. *Chem Commun*, 2016, 52: 7939–7942
- 56 Sun W, Du Y, Liang X, et al. Synergistic triple-combination therapy with hyaluronic acid-shelled PPy/CPT nanoparticles results in tumor regression and prevents tumor recurrence and metastasis in 4T1 breast cancer. *Biomaterials*, 2019, 217: 119264
- 57 Chen Y L, Chang M C, Cheng W F. Metronomic chemotherapy and immunotherapy in cancer treatment. *Cancer Lett*, 2017, 400: 282–292
- 58 Duan X, Chan C, Guo N, et al. Photodynamic therapy mediated by nontoxic core-shell nanoparticles synergizes with immune checkpoint blockade to elicit antitumor immunity and antimetastatic effect on breast cancer. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 16686–16695
- 59 Gao L, Zhang C, Gao D, et al. Enhanced anti-tumor efficacy through a combination of integrin αvβ6-targeted photodynamic therapy and immune checkpoint inhibition. *Theranostics*, 2016, 6: 627–637
- 60 Jin H, Wan C, Zou Z, et al. Tumor ablation and therapeutic immunity induction by an injectable peptide hydrogel. *ACS Nano*, 2018, 12: 3295–3310

Application of multifunctional nanoprobe in tumor immunotherapy guided by medical imaging

XUAN Yang^{1,2}, HOU XiaoLin¹, LIU Bo¹ & ZHAO YuanDi^{1,3}

1 Britton Chance Center for Biomedical Photonics at Wuhan National Laboratory for Optoelectronics-Hubei Bioinformatics & Molecular Imaging Key Laboratory, Department of Biomedical Engineering, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

2 Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization, Ministry of Education, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China;

3 Key Laboratory of Biomedical Photonics (HUST), Ministry of Education, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

Immunotherapy has attracted extensive attention as an effective means for tumor treatment instead of traditional methods such as surgery, radiotherapy, and chemotherapy. The combination of immunotherapy and multifunctional nanoprobe can realize the early diagnosis and treatment of tumors. Various studies have shown that multifunctional nanoprobe can achieve multi-mode imaging and the multi-mode treatment of tumors. Meanwhile, tumor cell death induced by some nanoprobe can lead to the release of tumor antigen to promote specific immune response to tumor immunotherapy. In this paper, we review the application and development prospect of multifunctional nanoprobe for immunotherapy combined with fluorescence imaging, computed tomography imaging, and magnetic resonance imaging.

multifunctional nanoprobe, multi-mode imaging, immunotherapy, oncotherapy

doi: [10.1360/SSV-2019-0208](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0208)