

## 综述

## 靶向CXCR4纳米毒素在肿瘤中的研究进展

侯孟森<sup>1</sup>, 阎于珂<sup>2\*</sup>, 李立群<sup>1</sup>, 全赢<sup>1</sup>, 赵永忠<sup>1</sup>, 田勇<sup>3</sup>, 杨晓军<sup>2\*</sup>

(1甘肃中医药大学第一临床医学院, 兰州 730000;

<sup>2</sup>甘肃省人民医院普外二科, 兰州 730000; <sup>3</sup>宁夏医科大学临床医学院, 银川 750001)

**摘要:** 现有的很多癌症治疗方法常伴有严重的不良反应, 因此, 迫切需要一种新的治疗方法。近年来, 靶向C-X-C趋化因子受体4(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)纳米毒素用于癌症治疗受到广泛关注, 其在治疗癌症的过程中通过靶向肿瘤细胞释放毒素而发挥作用, 改善了其他临床药物治疗的局限性。然而, 这种治疗方法在大多数癌症中尚处于研究阶段。在此, 本文描述了多种新型靶向CXCR4纳米毒素在不同肿瘤中的研究现状, 介绍了靶向CXCR4纳米毒素的结构组成及作用机制, 并简要总结了该治疗方法的优点, 为靶向CXCR4纳米毒素应用于临床肿瘤治疗提供理论依据。

**关键词:** CXCR4; 靶向CXCR4纳米毒素; 细胞凋亡; 细胞焦亡

## Research progress of targeting CXCR4 nanotoxins in tumors

HOU Mengsen<sup>1</sup>, YAN Yuke<sup>2\*</sup>, LI Liqun<sup>1</sup>, QUAN Ying<sup>1</sup>,  
ZHAO Yongzhong<sup>1</sup>, TIAN Yong<sup>3</sup>, YANG Xiaojun<sup>2\*</sup><sup>1</sup>The First Clinical Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;<sup>2</sup>Second Department of General Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China;<sup>3</sup>School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750001, China)

**Abstract:** Many existing cancer treatment methods often come with serious adverse reactions. Therefore, there is an urgent need for a new treatment method. In recent years, targeted C-X-C chemokine receptor 4 (CXCR4) nano toxins have received widespread attention for cancer treatment. They play a role in cancer treatment by targeting tumor cells to release toxins, improving the limitations of other clinical drug treatments. However, this treatment method is still in the research stage in most cancers. This paper describes the research status of various novel targeted CXCR4 nanotoxins in different tumors, introduces the structural composition and mechanism of action of targeted CXCR4 nanotoxins, and briefly summarizes the advantages of this treatment method, providing a theoretical basis for the application of targeted CXCR4 nanotoxins in clinical tumor treatment.

**Key Words:** CXCR4; targeting CXCR4 nanotoxins; apoptosis; pyroptosis

对于绝大多数肿瘤来说, 手术是主要的治疗手段, 从最初的单纯切除肿瘤组织, 到后来演变为

肿瘤根治术<sup>[1]</sup>, 虽然实现了对疾病的控制, 但是这种治疗方式只适用于早期未转移的病人。后来,

收稿日期: 2023-10-10

基金项目: 甘肃省创新基地和人才项目(20JR10RA433); 甘肃省省级科技计划重点研发项目(21YF5WA027); 国家卫健委胃肠肿瘤诊治重点实验室2022年度硕博/博士后基金项目(NHCDP2022001); 甘肃省人民医院博士研究生导师培育项目(22GSSYA-3); 甘肃省自然科学基金项目(20JR10RA378)

第一作者: E-mail: 1271454581@qq.com

\*通信作者: 阎于珂, E-mail: [yanyk14@lzu.edu.cn](mailto:yanyk14@lzu.edu.cn); 杨晓军, E-mail: [yangxjmd@aliyun.com](mailto:yangxjmd@aliyun.com)

随着多种放射性元素的发现, 放射治疗广泛应用于各种癌症<sup>[2]</sup>。此外, 1943年化疗药物氮芥首次应用于治疗霍奇金淋巴瘤的临床试验, 化疗也得到了迅速发展<sup>[3]</sup>。随后, 靶向药物疗法也逐渐发展, 提高了肿瘤治疗效果。但是, 经这些方法治疗后, 常出现耐药、肿瘤复发和转移等情况<sup>[4-6]</sup>。最近, 靶向给药的治疗方式如抗体-药物偶联物以及纳米药物递送系统, 实现了多种化疗药物如多柔比星、多西紫杉醇等的肿瘤靶向递送, 但这种治疗方式存在稳定性差、药物泄露和药物高脱靶性等问题<sup>[7-9]</sup>。因此, 在此基础上迫切需要新的治疗策略。本文介绍了一种新型药物治疗——靶向C-X-C趋化因子受体4(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)纳米毒素, 并简单介绍了其结构组成及作用机制, 还对其在不同肿瘤中的研究现状进行描述, 旨在提高对靶向CXCR4纳米毒素的了解, 为靶向CXCR4纳米毒素应用于临床肿瘤治疗提供理论依据。

## 1 CXCR4

CXCR4也称为融合蛋白, 是一种高度保守的七次跨膜G蛋白偶联受体<sup>[10]</sup>。CXCR4在多种肿瘤中高表达, 包括前列腺癌<sup>[11]</sup>、胰腺癌<sup>[12]</sup>、胸腺瘤<sup>[13]</sup>、头颈鳞状细胞癌<sup>[14]</sup>等。CXCR4与其配体C-X-C基序趋化因子配体12(CXCL12)一起控制下游不同信号通路的转导, 并参与肿瘤的发展、血管生成、转移和肿瘤微环境形成<sup>[15]</sup>。此外, 研究表明CXCR4过表达还与肿瘤耐药性、复发和转移相关<sup>[16]</sup>。因此, CXCR4可作为肿瘤诊断、治疗及评估预后的生物靶标。

## 2 靶向CXCR4纳米毒素的结构组成

在已有的相关研究中, 靶向CXCR4纳米毒素的结构主要包含T22多肽、毒素结构域及六个组氨酸尾部(His6)<sup>[17]</sup>。T22多肽是一种CXCR4配体, 可以特异性结合CXCR4受体<sup>[18]</sup>。毒素片段可来自细菌、植物及人类内源性蛋白, 细菌毒素包括白喉毒素、假单胞菌外毒素和炭疽毒素<sup>[19]</sup>; 植物毒素包括蓖麻毒素、明胶蛋白、皂苷、刺草抗病毒蛋白等; 人类来源的内源性蛋白包括颗粒酶和RNA酶<sup>[20]</sup>。六个组氨酸尾部主要起纯化纳米颗粒的作

用。在T22配体和毒素结构域之间包含一个弗林蛋白酶切割位点。靶向CXCR4纳米毒素与肿瘤细胞上CXCR4受体相互作用后, 被内吞进入细胞内, 并通过高尔基体和内质网运输至细胞质中。在内质网中靶向CXCR4纳米毒素的弗林蛋白酶切割位点断裂, 释放毒素蛋白活性结构域, 而毒素蛋白一旦被递送到胞质中, 就会阻碍细胞蛋白合成, 从而诱导肿瘤细胞死亡<sup>[21]</sup>。靶向CXCR4纳米毒素(T22-PE24-H6)中PE24结构域的羧基末端还存在一个赖氨酸-天冬氨酸-谷氨酸-亮氨酸(KDEL)序列, 可防止PE24被溶酶体降解, 增加了内质网逆行运输及其随后释放到细胞质中的效率。

## 3 靶向CXCR4纳米毒素诱导细胞死亡的机制

细胞死亡分为调节性死亡和意外性死亡。调节性死亡又称为程序性死亡, 其依赖特定的分子机制, 并且可被调节, 主要方式包括细胞凋亡、细胞焦亡和铁死亡<sup>[22]</sup>。意外性死亡是不受控制的细胞死亡过程, 由意外的伤害刺激触发, 这些伤害刺激超出了细胞的可调节能力, 从而导致细胞死亡<sup>[23]</sup>。已有的研究发现, 在黑色素瘤、结直肠癌(colorectal cancer, CRC)和头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)中, 靶向CXCR4纳米毒素以激活细胞焦亡的方式诱导肿瘤细胞死亡<sup>[24-26]</sup>。在这些研究中, 靶向CXCR4纳米毒素处理后的肿瘤细胞不断胀大, 最终发生细胞膜破裂, 并释放出乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)等细胞炎性物质。此外, 包括NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、裂解的半胱氨酸蛋白酶-1(cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)和裂解的GSDMD(gasdermin D)在内的细胞焦亡标志物, 在靶向CXCR4纳米毒素处理后表达量显著增多。

在弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)、子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)、急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)中, 靶向CXCR4纳米毒素则是通过激活细胞凋亡的方式诱导细胞死亡<sup>[27-29]</sup>。经过靶

向CXCR4纳米毒素处理后,肿瘤细胞基因组DNA分解成核小体,且线粒体中释放的细胞色素C和胞质中Caspase-3、蛋白水解DNA修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)表达量明显增多。

已有的研究表明,靶向CXCR4纳米毒素通过细胞焦亡、细胞凋亡等方式诱导细胞死亡,靶向CXCR4纳米毒素与细胞死亡的其他机制是否相关,仍然需要进一步的研究<sup>[24-29]</sup>。另一方面,在不同肿瘤中同种靶向CXCR4纳米毒素诱导细胞死亡的机制不同,而在同一肿瘤中不同的靶向CXCR4纳米毒素诱导细胞死亡的机制相同。这种差异并不是由于装载的毒素不同引起的,更可能是因为肿瘤之间的异质性造成的,这也需要进一步的研究来验证。

## 4 靶向CXCR4的纳米毒素在不同肿瘤中的研究

### 4.1 黑色素瘤

皮肤黑色素瘤是一种起源于皮肤基底层黑色素细胞的恶性肿瘤,且属于免疫细胞抑制型肿瘤,因此选择有效的靶点来激活肿瘤微环境中的免疫细胞是黑色素瘤治疗的关键<sup>[30]</sup>。Zhao等<sup>[24]</sup>自组装了一种靶向CXCR4纳米毒素——T22-PE24,他们发现,T22-PE24处理后的黑色素瘤小鼠肿瘤生长得到明显抑制,且T22-PE24通过Caspase-3/GSDME信号通路诱导黑色素瘤细胞发生焦亡。在肿瘤细胞发生焦亡的过程中,肿瘤细胞肿胀破裂,包括细胞因子和促炎因子在内的细胞内容物释放,进而发挥肿瘤相关抗原作用,最终触发免疫原性细胞死亡。因此,作者又进一步研究了T22-PE24对肿瘤的免疫微环境调节作用,发现T22-PE24处理后的小鼠外周血CD8<sup>+</sup> T细胞以及肿瘤组织中活化的T细胞数量升高。此外,在T22-PE24联合细胞程序性死亡蛋白-1(programmed cell death protein 1, PD-1)抗体治疗后,小鼠肿瘤根除率达60%,CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>双阳性T细胞也明显高于单药治疗组和空白对照组。这也说明了T22-PE24在抑制黑色素瘤细胞生长的同时,还能诱导免疫细胞浸润,且提高抗PD-1及抗细胞程序性死亡-配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)药物重塑肿瘤微环境的功效。因此,靶向CXCR4纳米毒素

联合抗PD-1/PD-L1治疗可能成为黑色素瘤治疗的一种不错的选择。

### 4.2 头颈部鳞状细胞癌

目前,HNSCC患者面临的主要问题是治疗后复发与转移<sup>[31,32]</sup>,因此,迫切需要新的治疗策略。Rioja-Blanco等<sup>[33]</sup>开发了两种靶向CXCR4纳米毒素(T22-PE24-H6、T22-DITOX-H6),二者分别整合了铜绿假单胞菌外毒素和白喉外毒素。在体外细胞实验和小鼠体内实验中,两种靶向CXCR4纳米毒素均表现出高效的抗肿瘤作用,其作用机制也是激活Caspase-3/GSDME信号通路介导细胞焦亡。此外,在HNSCC小鼠模型中,重复剂量给药并不会引起全身毒性。为了评估HNSCC临床样本中CXCR4和GSDME的表达情况,作者对17例HNSCC患者肿瘤组织进行免疫组织化学分析,发现88.2%患者CXCR4受体呈现阳性,90%患者肿瘤组织中表达GSDME,最重要的是,在87.5%的表达GSDME患者样本中CXCR4的免疫染色呈阳性。这一结果说明,大多数HNSCC患者可能受益于能够激活GSDME的靶向CXCR4治疗。此外,越来越多的证据表明,HNSCC化疗和放疗耐药的产生主要是由抗凋亡通路的激活引起的<sup>[34]</sup>。所以,能够触发HNSCC细胞焦亡的靶向CXCR4纳米毒素有望克服HNSCC患者对化疗和放疗反应率低的问题。

### 4.3 急性髓性白血病

近年来,关于AML的药物治疗方式取得了飞速进展,但大多数患者仍会出现早期复发等问题<sup>[35]</sup>。因此,有必要开发新的治疗方法。Núñez等<sup>[29]</sup>发现,靶向CXCR4纳米毒素(T22-PE24-H6)可显著抑制高表达CXCR4的AML细胞增殖,并且T22-PE24-H6在AML小鼠模型中显著降低了AML细胞的传播。此外,在5例CXCR4表达升高的AML患者骨髓样本中,T22-PE24-H6抑制了肿瘤细胞活性,而在低表达CXCR4的骨髓样品中并未起作用,进一步说明了T22-PE24-H6对CXCR4表达升高的AML患者的高度选择性。Pallarès等<sup>[36]</sup>的另一项研究证明了另一种靶向CXCR4纳米毒素(T22-DITOX-H6)具有与T22-PE24-H6相同的作用及机制。Díaz等<sup>[37]</sup>开发了另一种靶向CXCR4纳米毒素(T22-mRTA-H6),其装载植物毒素蓖麻蛋白。作者发现,T22-

mRTA-H6通过凋亡途径介导肿瘤细胞死亡, 且T22-mRTA-H6表现出比等剂量的化疗药物更强的细胞毒性。已有的研究表明, CXCR4在50%的AML患者中高表达, 其表达与患者预后不良相关, 可作为AML的潜在治疗靶点<sup>[38]</sup>。因此, 靶向CXCR4纳米毒素可作为一种新的CXCR4靶向疗法, 改善AML患者的预后。

#### 4.4 子宫内膜癌

晚期EC患者预后不佳, 肿瘤转移是关键原因。已有的研究发现, 大多数EC患者在肿瘤组织中显著表达CXCR4, 尤其是在不可治愈的晚期阶段, 这为开发靶向CXCR4+EC细胞的新疗法开辟了一条途径<sup>[39]</sup>。Medina-Gutiérrez等<sup>[28]</sup>发现, T22-DITOX-H6和T22-PE24-H6对CXCR4+EC细胞具有更高的细胞毒性效应。且根据4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色的结果, 证明了T22-DITOX-H6和T22-PE24-H6诱导细胞凋亡的机制。在皮下和原位EC小鼠模型中, 重复T22-DITOX-H6或T22-PE24-H6治疗后, 肿瘤生长速度明显减缓, 且小鼠生存期得到了提升。更重要是, 作者对T22-DITOX-H6处理后的EC小鼠组织切片进行免疫组织化学检测, 发现与未给予靶向CXCR4纳米毒素的小鼠对比, 33.3%接受治疗的小鼠没有肝和肺转移, 肝脏中EC转移病灶数量以及病灶大小显著减少。这些结果肯定了靶向CXCR4纳米毒素在EC中的抗癌和抑制转移作用。因此, 靶向CXCR4纳米毒素未来有可能用于EC的临床研究。

#### 4.5 弥漫性大B细胞淋巴瘤

DLBCL是非霍奇金淋巴瘤中最常见的亚型, R-CHOP是DLBCL的常用治疗方法, 但是这种治疗方法给患者带来严重的副作用<sup>[40]</sup>。因此, 迫切需要开发新的治疗方法。Falgàs等<sup>[27]</sup>发现, T22-DITOX-H6对人类及小鼠CXCR4+ DLBCL细胞产生杀伤作用, 这种细胞毒性作用在半胱天冬酶抑制剂(z-VAD)以及CXCR4拮抗剂(AMD3100)的预处理下得到逆转。这说明了T22-DITOX-H6对CXCR4的高度选择性, 以及诱导细胞凋亡的作用机制。此外, 在皮下DLBCL小鼠模型中重复给予T22-DITOX-H6后肿瘤生长及肿瘤细胞传播得到抑制, 且在免疫缺陷或免疫正常小鼠的非淋巴瘤浸润器

官中没有观察到任何组织病理学变化。Falgàs等<sup>[41]</sup>的另一项研究则证明了T22-PE24-H6具有与T22-DITOX-H6相似的结果。总之, T22-PE24-H6、T22-DITOX-H6在体内和体外高效的抗肿瘤作用, 使靶向CXCR4纳米毒素治疗方式可能成为一种治疗转移性DLBCL的良好策略。

#### 4.6 结直肠癌

与其他肿瘤相似, 转移性播散是CRC的主要死亡原因。近年来, CRC的全身治疗取得了快速发展, 但全身毒性、耐药性限制了其临床应用<sup>[42]</sup>。因此, 需要开发新的治疗方式来克服这些限制。Sala等<sup>[25]</sup>发现了T22-PE24-H6的CXCR4依赖性细胞毒性效应, 且在皮下CRC小鼠模型中, 和对照组相比, T22-PE24-H6处理后的小鼠肿瘤体积明显减小, 肿瘤细胞死亡数增加了3倍。此外, 在原位CRC小鼠模型中反复注射低剂量T22-PE24-H6, 与未给予靶向CXCR4纳米毒素的小鼠对比, 小鼠淋巴和血液转移灶的数量明显减少, 原发肿瘤和转移灶的大小也呈现减小的趋势。这些结果证明了T22-PE24-H6在抑制肿瘤生长的同时可阻止淋巴和血液转移。因此, 靶向CXCR4纳米毒素治疗方式未来可能是结直肠癌的一种更有效的治疗方法。

### 5 靶向CXCR4纳米毒素的优点

#### 5.1 高度选择性

与正常组织相比, 肿瘤细胞中CXCR4高表达。在CXCR4特异性配体T22的作用下, 靶向CXCR4纳米毒素能够精确找到并作用于高表达CXCR4的肿瘤细胞。此外, 靶向CXCR4纳米毒素作为一种自组装的寡聚体, 可融合多个T22配体, 形成多价分子复合物。这样不仅增加了药物的稳定性, 也进一步增强了靶向CXCR4的作用<sup>[25]</sup>。另一方面, 在上述相关肿瘤的研究中, 作者通过使用CXCR4抑制剂AMD3100预处理肿瘤细胞, 证明了靶向CXCR4纳米毒素对CXCR4<sup>+</sup>肿瘤细胞的高度选择性<sup>[24-29]</sup>。

#### 5.2 高效抗肿瘤作用

在HNSCC、CRC、DLBCL、AML、EC等动物实验模型中, 经过T22-PE24-H6和T22-DITOX-H6处理的小鼠肿瘤体积明显缩小, 肿瘤生长速

度、细胞播散范围明显降低,并且小鼠的生存期更长<sup>[25-29]</sup>。此外,T22-PE24-H6和T22-DITOX-H6在显示出有效抗肿瘤作用时,其半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为5~7 nmol/L之间,此浓度处于较低状态。在AML细胞实验中,同等剂量下,T22-mRTA-H6对AML细胞的杀伤作用远大于化学药物(阿糖胞苷)的细胞毒性作用<sup>[37]</sup>。这些结果足以证明靶向CXCR4纳米毒素的高效抗肿瘤作用。

### 5.3 对非靶器官无毒性

在已有的研究中,靶向CXCR4纳米毒素处理后,小鼠的肝脏细胞保持正常的形态与结构,并未发现脂肪变性和其他组织学改变。小鼠的肾小球和周围肾小管清晰可见,没有细胞质空泡形成和嗜酸性蛋白积累。小鼠的肺组织没有充血、水肿等情况。此外,骨髓、脾脏、心脏、胰腺和大脑中也未观察到组织病理学改变<sup>[24-29]</sup>。另一方面,在重复剂量给药后,小鼠体重并未发生明显变化,且小鼠血细胞计数在健康裸鼠的正常范围内<sup>[27]</sup>。小鼠的转氨酶活性、血浆中的肌酐及尿酸浓度无明显变化<sup>[29]</sup>。此外,在没有全身毒性的情况下,T22-DITOX-H6可抑制HNSCC原位小鼠模型中肿瘤细胞的转移播散,并减少颈部以及宫颈淋巴结肿瘤细胞浸润<sup>[26]</sup>。这意味着靶向CXCR4纳米毒素治疗将给肿瘤患者带来更少的不良反应。

## 6 总结

手术、放疗和化疗是肿瘤治疗的首选,但这些治疗方法并未有效改善患者的预后。靶向CXCR4纳米毒素在临床前实验中表现出的高效抗癌作用、高度选择性和较低的全身毒性等优点,使其有望成为一种不错的癌症治疗方案。但是,关于靶向CXCR4纳米毒素的研究只停留在基础实验阶段,并且局限于部分肿瘤,而在其他高表达CXCR4的肿瘤中的作用尚不清楚。此外,这种治疗方法还面临纳米颗粒大小难以控制、制备方法难以普及等挑战。总之,已有的研究结果还不足以支撑靶向CXCR4纳米毒素应用于肿瘤的临床治疗。未来仍然需要对靶向CXCR4纳米毒素进一步研究,探究其在其他肿瘤中的作用及机制,并且有必要开展靶向CXCR4纳米毒素或联合其他治疗的临床相关试验。

## 参考文献

- [1] Halsted WS. The results of radical operations for the cure of carcinoma of the breast. *Ann Surg*, 1907, 46(1): 1-19
- [2] Brady LW, Markoe AM, Micaily B, et al. Clinical treatment planning in gynecologic cancer. *Front Radiat Ther Oncol*, 1987, 21: 302-332
- [3] Farber S, Diamond LK, Mercer RD, et al. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin). *N Engl J Med*, 1948, 238(23): 787-793
- [4] Benedict WF, Baker MS, Haroun L, et al. Mutagenicity of cancer chemotherapeutic agents in the *Salmonella*/microsome test. *Cancer Res*, 1977, 37(7 Pt 1): 2209-2213
- [5] Gubin MM, Zhang X, Schuster H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581
- [6] Szakács G, Paterson JK, Ludwig JA, et al. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(3): 219-234
- [7] Colombo R, Rich JR. The therapeutic window of antibody drug conjugates: a dogma in need of revision. *Cancer Cell*, 2022, 40(11): 1255-1263
- [8] Salomon PL, Singh R. Sensitive ELISA method for the measurement of catabolites of antibody-drug conjugates (ADCs) in target cancer cells. *Mol Pharm*, 2015, 12(6): 1752-1761
- [9] Zeng J, Sun Y, Sun S, et al. Leveraging nanodrug delivery system for simultaneously targeting tumor cells and M2 tumor-associated macrophages for efficient colon cancer therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(45): 50475-50484
- [10] Wang W, Zhang Y, Liu W, et al. CXCR4 induces cell autophagy and maintains EBV latent infection in EBVaGC. *Theranostics*, 2020, 10(25): 11549-11561
- [11] Hirata H, Hinoda Y, Kikuno N, et al. CXCL12 G801A polymorphism is a risk factor for sporadic prostate cancer susceptibility. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17): 5056-5062
- [12] Gao Z, Wang X, Wu K, et al. Pancreatic stellate cells increase the invasion of human pancreatic cancer cells through the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis. *Pancreatology*, 2010, 10(2-3): 186-193
- [13] Wang W, Liu D, Yang L, et al. CXCR4 overexpression correlates with poor prognosis in myasthenia gravis-associated thymoma. *Hum Pathol*, 2016, 49: 49-53
- [14] De-Colle C, Menegakis A, Mönnich D, et al. SDF-1/CXCR4 expression is an independent negative prognostic biomarker in patients with head and neck cancer after primary radiochemotherapy. *Radiother Oncol*, 2018, 126(1): 125-131
- [15] Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(11): 2927-2931
- [16] León X, Díez S, García J, et al. Expression of the

- CXCL12/CXCR4 chemokine axis predicts regional control in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2016, 273(12): 4525-4533
- [17] Rioja-Blanco E, Arroyo-Solera I, Álamo P, et al. Self-assembling protein nanocarrier for selective delivery of cytotoxic polypeptides to CXCR4<sup>+</sup> head and neck squamous cell carcinoma tumors. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(5): 2578-2591
- [18] Serna N, Carratalá JV, Conchillo-Solé O, et al. Antibacterial activity of T22, a specific peptidic ligand of the tumoral marker CXCR4. *Pharmaceutics*, 2021, 13(11): 1922
- [19] Frankel AE. Reducing the immune response to immunotoxin. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(1): 13-15
- [20] Hall PD, Willingham MC, Kreitman RJ, et al. DT388-GM-CSF, a novel fusion toxin consisting of a truncated diphtheria toxin fused to human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, prolongs host survival in a SCID mouse model of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 1999, 13(4): 629-633
- [21] Sánchez-García L, Serna N, Álamo P, et al. Self-assembling toxin-based nanoparticles as self-delivered antitumoral drugs. *J Control Release*, 2018, 274: 81-92
- [22] Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun*, 2005, 73(4): 1907-1916
- [23] Warnes G. Flow cytometric detection of hyper-polarized mitochondria in regulated and accidental cell death processes. *Apoptosis*, 2020, 25(7-8): 548-557
- [24] Zhao Z, Huang Y, Wang J, et al. A self-assembling CXCR4-targeted pyroptosis nanotoxin for melanoma therapy. *Biomater Sci*, 2023, 11(6): 2200-2210
- [25] Sala R, Rioja-Blanco E, Serna N, et al. GSDMD-dependent pyroptotic induction by a multivalent CXCR4-targeted nanotoxin blocks colorectal cancer metastases. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 1384-1397
- [26] Rioja-Blanco E, Gallardo A, Arroyo-Solera I, et al. A novel CXCR4-targeted diphtheria toxin nanoparticle inhibits invasion and metastatic dissemination in a head and neck squamous cell carcinoma mouse model. *Pharmaceutics*, 2022, 14(4): 887
- [27] Falgàs A, García-León A, Núñez Y, et al. A diphtheria toxin-based nanoparticle achieves specific cytotoxic effect on CXCR4<sup>+</sup> lymphoma cells without toxicity in immunocompromised and immunocompetent mice. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 112940
- [28] Medina-Gutiérrez E, García-León A, Gallardo A, et al. Potent anticancer activity of CXCR4-targeted nanostructured toxins in aggressive endometrial cancer models. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(1): 85
- [29] Núñez Y, García-León A, Falgàs A, et al. T22-PE24-H6 nanotoxin selectively kills CXCR4-high expressing AML patient cells *in vitro* and potently blocks dissemination *in vivo*. *Pharmaceutics*, 2023, 15(3): 727
- [30] Neagu M, Constantin C, Longo C. Chemokines in the melanoma metastasis biomarkers portrait. *J Immunoassay Immunochem*, 2015, 36(6): 559-566
- [31] Govindan SV, Kulsum S, Pandian RS, et al. Establishment and characterization of triple drug resistant head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 3025-3032
- [32] Yang XH, Feng ZE, Yan M, et al. XIAP is a predictor of cisplatin-based chemotherapy response and prognosis for patients with advanced head and neck cancer. *PLoS One*, 2012, 7(3): e31601
- [33] Rioja-Blanco E, Arroyo-Solera I, Álamo P, et al. CXCR4-targeted nanotoxins induce GSDME-dependent pyroptosis in head and neck squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 49
- [34] Kanno Y, Chen CY, Lee HL, et al. Molecular mechanisms of chemotherapy resistance in head and neck cancers. *Front Oncol*, 2021, 11: 640392
- [35] Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, et al. Prognostic significance of the european leukemianet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*, 2012, 30(36): 4515-4523
- [36] Pallarès V, Núñez Y, Sánchez-García L, et al. Anti-neoplastic effect of a diphtheria toxin-based nanoparticle targeting acute myeloid leukemia cells overexpressing CXCR4. *J Control Release*, 2021, 335: 117-129
- [37] Díaz R, Pallarès V, Cano-Garrido O, et al. Selective CXCR4<sup>+</sup> cancer cell targeting and potent antineoplastic effect by a nanostructured version of recombinant ricin. *Small*, 2018, 14(26): 1800665
- [38] Cao T, Ye Y, Liao H, et al. Relationship between CXCR4 chemokine receptor 4 expression and prognostic significance in acute myeloid leukemia. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(23): e15948
- [39] Gelmini S, Mangoni M, Castiglione F, et al. The CXCR4/CXCL12 axis in endometrial cancer. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(3): 261-268
- [40] Wilson WH, Wright GW, Huang DW, et al. Effect of ibrutinib with R-CHOP chemotherapy in genetic subtypes of DLBCL. *Cancer Cell*, 2021, 39(12): 1643-1653.e3
- [41] Falgàs A, Pallarès V, Serna N, et al. Selective delivery of T22-PE24-H6 to CXCR4<sup>+</sup> diffuse large B-cell lymphoma cells leads to wide therapeutic index in a disseminated mouse model. *Theranostics*, 2020, 10(12): 5169-5180
- [42] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674