纳米材料在增强肿瘤免疫应答中的应用

陈贝贝, 曹萌轩, 郝明强, 赵晓艺, 赵娜娜*, 徐福建*

北京化工大学, 化工资源有效利用国家重点实验室, 北京 100029

* 联系人, E-mail: zhaonn@mail.buct.edu.cn; xufj@mail.buct.edu.cn

2019-12-02 收稿, 2020-01-06 修回, 2020-01-07 接受, 2020-01-10 网络版发表

国家重点研究发展计划(2016YFA0201501, 2017YFA0106100)、国家自然科学基金(51773013, 51733001)和中央高校基本科研业务费专项(BHYC1705A, XK1802-2)资助

摘要 由于癌细胞存在免疫耐受性特征, 包括低免疫原性、弱抗原呈递和低T细胞浸润, 高抑制性受体和细胞因子的表达, 可以轻易逃脱免疫细胞的攻击, 产生免疫逃逸, 使机体无法产生足够强烈的肿瘤特异性免疫应答. 纳米材料由于其独特的性质, 如可调控尺寸、独特的表面性质、易于修饰等, 在免疫治疗中有潜在的重要作用. 本文总结了纳米材料增强肿瘤免疫应答的几种方式, 通过典型示例重点介绍了近年来增强免疫应答的纳米材料, 并讨论其增强机制; 同时对这些纳米材料的发展方向及其在肿瘤免疫治疗中的应用潜力进行了展望.

关键词 免疫应答, 纳米颗粒, 增强方式, 免疫机制, 特异性免疫应答

免疫系统在机体执行免疫应答和发挥免疫功能中起重要作用, 近年来提出的肿瘤免疫疗法利用机体自身免疫系统控制肿瘤生长, 具有治疗和预防癌症复发的巨大潜力^[1], 已经成为肿瘤治疗的重要研究方向. 当机体中出现异己成分或自身成分发生变异时, 机体通过免疫系统(先天性免疫系统和适应性免疫系统)对病原体做出的防御反应, 即为免疫应答, 可分为非特异性免疫应答和特异性免疫应答. 先天性免疫细胞如巨噬细胞和中性粒细胞, 能够引发非特异性免疫应答, 快速识别并吞噬除去入侵的病原体, 提供即时保护^[2]. 适应性免疫细胞如T细胞, 需要识别抗原呈递细胞(如树突细胞)加工处理的抗原, 引发抗原特异性T细胞大量增殖, 直接杀伤靶细胞或通过分泌促炎性细胞因子调节靶细胞生长分化并调控免疫应答, 再次遇到该抗原时能快速响应产生杀伤作用, 提高治疗效果. 在免疫应答发生前后, 巨噬细胞、树突细胞和T细胞状态发生变化, 可通过检测免疫相关细胞表面蛋白表达变化来判断免疫应答的增强.

肿瘤免疫学相关研究表明肿瘤存在免疫耐受性, 其特征包括低免疫原性、弱抗原呈递和低T细胞浸润、高抑制性受体和细胞因子的表达^[3]. 这些特征使肿瘤细胞可以轻易逃脱免疫细胞的攻击, 产生免疫逃逸, 使机体无法产生足够强烈的肿瘤特异性免疫应答. 纳米材料由于其独特的物理化学性质, 如尺寸、结构、表面特性等, 能够规避肿瘤免疫耐受性, 同时由于纳米材料特有的增强渗透与保留(EPR)效应, 能够在肿瘤部位有效富集, 因此将纳米材料应用于肿瘤免疫治疗中具有巨大潜力^[4]. 据报道, 纳米材料的大小、形状、表面电荷、表面易修饰特性影响材料向肿瘤或其他靶器官递送, 并影响后续抗原提呈细胞的摄取^[5]. 当纳米材料尺寸很小(<6 nm)时, 材料易扩散进血管而被清除, 材料尺寸为20~200 nm时, 可被巨噬细胞或树突细胞吞噬, 而40 nm左右的纳米材料被Hubbell课题组^[3]报道可引起最强的免疫应答. 除尺寸外, 免疫应答水平受纳米材料形状的影响, 不同形状的材料诱导树突细胞以不同水平产生不同种类的细胞因子. Sawa课题组^[6]研究发

引用格式: 陈贝贝, 曹萌轩, 郝明强, 等. 纳米材料在增强肿瘤免疫应答中的应用. 科学通报, 2020, 65: 1103–1118

Chen B B, Cao M X, Hao M Q, et al. Application of nanomaterials in antitumor immune response enhancement (in Chinese). Chin Sci Bull, 2020, 65: 1103–1118, doi: 10.1360/TB-2019-0787

现球状与小球状、棒状、立方体状相比,引起的免疫应答更强烈,这与材料的形貌密切相关,纳米颗粒的形状和大小影响细胞对材料的摄取,并对免疫应答方式产生影响.表面电性为正电性或负电性的纳米材料均可以被免疫细胞摄取,但有研究表明阳离子聚合物聚乙烯亚胺(PEI)可以吸附抗原肽,增强树突细胞活化和交叉呈递,刺激促炎性细胞因子的产生^[7].此外,纳米材料表面易于修饰,将靶向分子与纳米颗粒相结合可以增加材料对组织或细胞的靶向性,提高免疫调节的效力及安全性,避免免疫系统失控造成细胞因子风暴.

根据纳米材料增强肿瘤免疫的方式,本文将材料分为三类:(1)材料本身具有固有的免疫调节功能;(2)材料在外源响应刺激下引发免疫原性细胞死亡增强免疫应答;(3)材料用作递送载体将其他免疫激活分子(化学药物、光敏剂、蛋白质、质粒等)运送至肿瘤或免疫细胞,由免疫激活分子激活免疫应答.我们总结了纳米材料用于激起抗肿瘤免疫应答的最新研究进展,通过重点介绍一些典型示例材料,对纳米材料增强免疫应答的机制进行了讨论,还展望了这些用于肿瘤免疫效应的纳米材料的发展方向.

1 材料自身增强免疫应答

近年来,有研究表明纳米材料能够刺激机体产生免疫应答,在癌症免疫疗法中有巨大应用潜力.其中,

一些天然来源纳米颗粒(如黑色素、细胞因子凝胶等)或合成纳米颗粒(如氧化铁、氧化锰、钆复合物等)在不需要外界因素刺激下就具有免疫刺激功能(图1),虽然相关文献验证了这些纳米颗粒自身能通过某些信号通路增强免疫应答,但对其免疫调节机制的研究仍需要进一步探索.

1.1 刺激巨噬细胞极化

在癌症治疗领域,肿瘤相关巨噬细胞(TAM)是肿瘤免疫疗法的一个重要靶标.TAM是肿瘤微环境的主要白细胞,有独特的表型和功能.M1型巨噬细胞分泌促炎性细胞因子并提呈抗原,起到免疫监视功能,促进免疫应答;M2型巨噬细胞分泌抑制性细胞因子,抗原提呈能力较弱,下调免疫应答,M1与M2型巨噬细胞互相调节,维持肿瘤微环境.一些纳米材料通过调节巨噬细胞表型将M2型巨噬细胞极化为M1型巨噬细胞,逆转肿瘤免疫微环境,提高后续的免疫细胞杀伤效果.Zhang课题组^[8]从墨鱼墨汁中提取出纳米颗粒(nanoparticles from cuttlefish ink, CINP),通过将肿瘤相关巨噬细胞从免疫抑制的M2型重新极化为抗肿瘤M1型,从而有效抑制肿瘤生长,其主要通过激活有丝分裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK)发挥作用(图2).该研究深入探索了CINPs造成巨噬细胞再极化的潜在机制,发现这种再极化可能是由CINP介导的MAPK信号通路激活引起的.

图1 (网络版彩色)材料自身增强免疫应答示意图

Figure 1 (Color online) Schematic of nanomaterials enhancing immune response

图2 (网络版彩色)CINP通过诱导巨噬细胞复极化并协同光热疗法抑制肿瘤生长^[8]. Copyright © 2019, American Chemical Society
Figure 2 (Color online) CINP for inhibiting tumor growth by inducing macrophage repolarization and synergizing photothermal therapy^[8]. Copyright © 2019, American Chemical Society

除基于天然来源的纳米颗粒外,一些合成的纳米材料也能引起免疫应答。Daldrop-Link课题组^[9]发现了氧化铁-羧甲基葡聚糖纳米颗粒对早期乳腺癌的生长和肺转移有抑制作用。该研究将癌细胞与巨噬细胞共培养,通过逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测氧化铁纳米材料处理组M1型和M2型巨噬细胞mRNA表达差异,发现暴露于材料中的巨噬细胞上调了M1相关的TNF- α 和CD86标记的mRNA,而M2相关的CD206和IL-10标记的mRNA水平显著降低。酶联免疫吸附测定法(ELISA)证实TNF- α 产量大量增加,表明氧化铁纳米材料引起巨噬细胞极化。这可能是由于氧化铁诱导M2型巨噬细胞向M1型巨噬细胞的表型转变,而M1型巨噬细胞会释放出过氧化氢,引起芬顿反应,诱导癌细胞凋亡。在对动物模型和患者的治疗中,材料不会引起肝毒性,对小鼠乳腺癌肺转移有明显抑制作用,并能预防肿瘤肝转移。这些结果对氧化铁纳米颗粒的诊断和治疗应用具有重大意义。Yu课题组^[10]在相关研究中揭示了这种极化与铁离子诱导的干扰素调节因子5(IRF5)的上调有关。他们认为细胞内铁含量是诱导M1型巨噬细胞极化的关键,铁离子诱导的IRF5负责M1表型极化,有利于促进T细胞激活,增强效应T细胞抗肿瘤活性。Liu课题组^[11]发现MnO₂本身也会引起一定的巨噬细胞极化,但没有对其引起极化的机制进行研究。

1.2 强化杀伤型免疫细胞作用

杀伤型免疫细胞包括自然杀伤细胞(NK细胞)、T

细胞等。具有免疫刺激功能的细胞因子或化合物可以通过刺激T细胞、NK细胞等免疫细胞增殖,增强机体免疫应答能力。Irvine课题组^[12]首次使用交联剂将白介素15(IL-15)交联成蛋白质纳米凝胶,并加入CD45赋予其靶向T细胞的功能,实现了无载体药物递送。白介素可作用于多种细胞,在传递信号、激活与调节免疫细胞、介导免疫细胞增殖分化等方面起重要作用,但大量产生时会引起副反应。IL-15是一种重要的细胞因子,可控制NK细胞、T细胞的各种生物学特性,通过调节JAK、PI3K和MEK信号通路来促进NK细胞的活化和增殖并增强其细胞毒性。他们制备的IL-15纳米凝胶可以响应T细胞受体激活而选择性释放,在肿瘤内迅速大量扩增T细胞,提高抗肿瘤效果。Ahn课题组^[13]用IL-15刺激NK细胞分泌更多强抗肿瘤能力的纳米囊泡(NK-EV),使得囊泡中所含的胞浆蛋白质(FasL、穿孔素及颗粒酶AB)和其他几种受体水平增加,产生针对胶质母细胞瘤的抗肿瘤活性和肿瘤靶向能力。

Chen课题组^[14]研究表明,钌(Ru)复合物能增加树突细胞和细胞毒性T细胞(CTL)的数量,并下调免疫抑制性的调节性T细胞(T_{reg});而硒钌复合纳米颗粒(RuSe)能增强由NK细胞免疫活性,这为调节免疫细胞增殖活化,增强机体抗肿瘤免疫应答提供了新的选择。

1.3 引起免疫原性细胞死亡

经过研究发现,癌细胞凋亡或坏死的同时,细胞表面钙网蛋白(CRT)外翻,发出“吃我”的信号,暴露肿瘤相关抗原,引起抗原呈递细胞(如树突细胞)的吞噬作用,同时高迁移率族蛋白1(HMGB1)释放,促进树突(DC)细胞成熟以及肿瘤抗原的呈递。树突细胞加工处理后将抗原呈递给T细胞,刺激细胞毒性T细胞向肿瘤浸润,产生癌细胞杀伤效果。这种由死亡的癌细胞提供肿瘤相关抗原,引发机体免疫应答的过程,就是免疫原性细胞死亡(ICD)。一些纳米材料依靠其自身电性或肿瘤微环境响应,造成肿瘤细胞免疫原性死亡,也能增强抗肿瘤免疫应答。

Na课题组^[15]开发出基于聚乙烯亚胺(PEI)的生物相容性免疫敏化剂(BCI),构建了具有荧光成像功能、pH响应的纳米胶束。在肿瘤微酸环境中PEI的阳离子电荷得以恢复,导致肿瘤细胞坏死,原位肿瘤破坏释放肿瘤抗原,诱导树突细胞的成熟,从而增强肿瘤抗原特异性CTL的杀伤功能,上调促炎性细胞因子,实现有效抗肿瘤效果。

Yu课题组^[16]则设计了智能纳米反应器,将四硫键和芬顿试剂铜离子共同掺入树枝状介孔氧化硅纳米颗粒(dendritic mesoporous organosilica nanoparticles, DMON)中,得到Cu-DMON纳米反应器.该材料会通过铜离子与 H_2O_2 发生芬顿反应,产生细胞毒性活性氧,导致细胞内氧化应激升高,触发并增强免疫原性细胞死亡,刺激抗原呈递细胞成熟,进而增强T细胞免疫应答杀伤癌细胞.同时,他们还与PD-L1抗体联合使用,对经治疗的原发肿瘤和未治疗的远处肿瘤均表现出出色的抗癌性能.

2 材料在外源响应刺激下增强免疫应答

纳米材料由于其独特的光、电、磁特性,被广泛用于光热治疗、磁热治疗、放射治疗等领域.近来研究发现利用纳米材料自身性质,使肿瘤细胞在死亡时从非免疫原性细胞转变为免疫原性细胞,并增强抗肿瘤免疫应答(即免疫原性细胞死亡),可以进一步增强抗肿瘤效果(图3).与依靠肿瘤微环境特性的内源响应相比,合理设计的外源响应纳米材料可以更加有效地在肿瘤部位增强免疫应答,实现精准可控的治疗.外源响应主要有如下几种.

2.1 近红外光响应

具有优异光热转换效率的纳米材料(如金、碳等)可以通过光热治疗消融肿瘤,引起肿瘤相关抗原释放,进而增强免疫应答. Zhang课题组^[17]通过在细胞内合

成并经胞吐释放出具有免疫功能的金纳米颗粒,将光热治疗和免疫治疗结合起来.他们通过黑色素瘤B16F10细胞将带正电的 Au^{3+} 还原成金纳米颗粒,再被DC细胞进一步内化并分泌为含金纳米颗粒的囊泡($\text{AuNP}@DC_{B16F10}$),改善生物相容性并保持增强免疫应答的能力.由于纳米颗粒具有高效的光热转换效率,在近红外光照射下,材料在肿瘤部位产生高热,导致原发性肿瘤细胞的凋亡和坏死以及肿瘤抗原的释放.被DC细胞内吞和处理,DC细胞活化成熟后可以将抗原呈递给T细胞,并触发随后的抗肿瘤免疫应答.这种纳米颗粒可以实现光热治疗和免疫疗法的有效结合,对消除原发性肿瘤、远端肿瘤及再次攻击的肿瘤细胞具有明显的作用.

Moon课题组^[18]开发了聚多巴胺涂层金纳米颗粒(SGNP)作为新型光热剂.与没有涂层金纳米颗粒相比,具有更好的光热性能,经光热治疗能引起强大的抗肿瘤免疫应答,消除局部肿瘤,并产生免疫记忆效应,在机体再次受到肿瘤细胞攻击时抑制肿瘤的生长.他们将光热治疗与化学治疗联合起来,发现基于抗癌药物阿霉素(DOX)的化学疗法能放大光热治疗引起的免疫应答.该研究通过SGNP负载DOX,由于DOX可诱导免疫原性细胞死亡,促进DC细胞和 CD8^+ T细胞的激活,使T细胞和NK细胞杀伤肿瘤细胞,对原发性和转移性肿瘤产生良好的治疗效果.

除金纳米材料外,碳纳米材料也是优异的光热剂,可用于增强免疫应答. Liu课题组^[19]报道了单壁碳纳米

图3 (网络版彩色)材料在外源响应刺激下增强免疫

Figure 3 (Color online) Nanomaterials enhance immunity in response to exogenous stimuli

管(SWNT)与CTLA-4抗体疗法相结合对原发肿瘤进行光热消融,能够预防小鼠肿瘤转移。近红外光照射下,基于SWNTs的光热治疗会破坏原位肿瘤,为免疫系统提供更多抗原,进而诱导特异性抗肿瘤免疫应答。接触SWNTs和肿瘤细胞碎片后,DC细胞将被刺激并迁移至附近的淋巴结,转变为成熟状态,激活T细胞,并增加促炎细胞因子IL-1 β , IL-12p70, IL-6和TNF- α 的分泌,抑制4T1肿瘤生长。但他们发现,光热引起的免疫应答不足以完全抑制手术切除后继发性肿瘤的生长,而在与一种临床认可的治疗性CTLA-4抗体联合使用后,能够诱导强烈的抗肿瘤免疫应答,从而抑制肿瘤肺转移,在延长动物存活率方面显示出显著的治疗优势。同时,他们还对B16F10黑色素瘤模型进行了实验,结果表明基于SWNTs光热治疗的免疫作用对癌细胞系具有普遍性。Huang和Wang研究组^[20]将碳纳米点(CDs)掺进介孔二氧化硅中,所获得的可生物降解CD@MSNs可以特异性地聚集在肿瘤中,从而增强光热治疗效果。此外,他们发现降解的纳米材料碎片表面积比完整的纳米材料大,增加了蛋白质吸附,因而可以携带更多肿瘤细胞释放的肿瘤相关抗原,进而刺激巨噬细胞增殖活化和NK细胞激活,增强免疫应答并抑制肿瘤转移。该发现为生物可降解纳米材料和肿瘤免疫治疗提供了新思路。

2.2 磁场响应

在外加交变磁场作用下,具有优异磁热转换效率的纳米材料的磁热效应可以引起与光热效应相似的免

疫应答,通过其产生的热量消融肿瘤,肿瘤裂解后释放出肿瘤相关抗原,由免疫细胞识别并激活。Liang课题组^[21]合成了一种铁磁性涡旋氧化铁纳米环(FVIO)(图4)。在交变磁场作用下介导肿瘤内部产生适度的热量,从而诱导肿瘤细胞凋亡和细胞表面CRT暴露,诱导有效的免疫原性细胞死亡,增强肿瘤特异性T细胞应答,有效杀伤癌细胞,抑制肿瘤生长和转移。在与免疫检查点抑制剂PD-L1抗体进行联合治疗后,磁热疗引起的免疫应答有效增强,可以抑制远端肿瘤的生长。为了证明T细胞应答的激活,他们将磁热疗治疗后的肿瘤切除,消化成单细胞悬浮液,通过流式细胞术检测到肿瘤浸润性CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞被上调,骨髓源性抑制细胞被下调,在联合PD-L1抗体后,CD8⁺ T细胞的比例可进一步提高,证明了联合治疗可增强肿瘤特异性T细胞应答,并抑制潜在的转移性扩散以及远处肿瘤的生长。由于磁热疗在临床上已经可用,这种联合治疗技术可能为将来的临床转化带来光明的前景。

Liu课题组^[22]同样设计了一种用于磁热疗的氧化铁纳米颗粒,证明基于氧化铁纳米颗粒的磁热疗与纳米佐剂和免疫检查点阻断剂CTLA-4抗体相结合,可产生抑制肿瘤转移的全身治疗反应。他们用化学还原法合成氧化铁纳米颗粒,经生物相容性聚合物聚乙二醇(PEG)修饰后的氧化铁具有良好的水溶液稳定性并防止氧化铁氧化,是一种高效的磁热疗剂,在低功率交变磁场下就能产生足够的热量。通过磁靶向可以增强这些纳米颗粒在肿瘤处的累积,然后施加交变磁场,实现

图4 (网络版彩色)FVIO介导的磁热疗和免疫检查点疗法的联合可增强抗肿瘤免疫应答^[21]。Copyright © 2019, American Chemical Society
Figure 4 (Color online) Proposed mechanism of FVIO-mediated mild magnetic hyperthermia plus immune checkpoint therapy activates the antitumor immune response^[21]. Copyright © 2019, American Chemical Society

对肿瘤的有效磁热疗消融, 触发免疫原性细胞死亡, 导致肿瘤中 $CD4^+$ T细胞和 $CD8^+$ T细胞的明显浸润, 有效消除原发性肿瘤. 当与聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)修饰的免疫佐剂R837(PLGA-R837)和免疫检查点抑制剂CTLA-4抗体相结合, 引起强大的抗肿瘤免疫应答, 进一步增强远距离肿瘤的全身性抗肿瘤免疫攻击, 还可以产生长期的免疫记忆, 防止肿瘤复发. 在未来临床治疗中, 磁热疗与其他治疗联合增强免疫应答有望解决晚期癌症患者肿瘤远处转移的难题.

2.3 其他外源性响应

纳米材料除了响应近红外光、磁场增强免疫应答外, 其他外源刺激下也能引起免疫原性死亡, 增强免疫应答. Lin课题组^[23]提出了一种基于纳米金属有机框架(nMOF)的放射疗法, 与免疫检查点疗法结合可以实现优异的抗癌效果. 这种nMOF由重原子Hf和卟啉配体组成, Hf团簇可以有效吸收X射线能量产生 $\cdot OH$, 诱导肿瘤细胞死亡, 从而导致 $CD8^+$ T细胞的强烈激活. 此外, 他们发现在与下调肿瘤免疫耐受的检查点抑制剂IDOi联用后, 能够改善肿瘤免疫抑制性微环境, 并引发对远处肿瘤的免疫应答, 有效抑制远处未治疗的肿瘤.

Gasser, Chao和Sadler研究组^[24]合作设计了一种具有高氧化态的Ir(III)复合纳米材料, $[Ir(ppy)(pq)Cl]PF_6$.

在光照射下, 该材料诱导参与维持细胞内氧化还原平衡的辅酶NADH耗竭, 使细胞内氧化还原失衡, 引起细胞凋亡和免疫原性细胞死亡. 这种光催化氧化还原失衡策略为抗癌治疗提供了新方法, 可恢复人体对癌症的防御能力.

3 材料作为载体增强免疫应答

一些用于刺激免疫应答的物质, 如药物、光敏剂、蛋白质、质粒等, 单独使用并不能引起足够强烈的应答, 而且存在损伤正常组织的风险, 往往需要与纳米材料结合, 实现高负载、靶向递送、可控释放等功能, 更安全高效地增强抗肿瘤免疫应答(图5).

3.1 负载化学药物

纳米材料具有比表面积大、负载量大、易与生物标志物结合等优点, 可以用作药物载体. 将抗癌药输送到肿瘤部位, 由化疗药物(DOX、奥沙利铂、吉西他滨等)引起癌细胞免疫原性死亡或下调免疫抑制, 通过引起与光热、磁热治疗等相似的免疫应答机制, 产生一系列的免疫应答以实现化学免疫疗法.

3.1.1 引起肿瘤免疫原性细胞死亡

几种现有的化学治疗药物, 包括蒽环类药物(DOX、伊达比星、表柔比星)、米托蒽醌、奥沙利

图5 (网络版彩色) 纳米材料作为载体, 负载不同成分增强免疫

Figure 5 (Color online) Nanomaterials used as nanocarriers, carrying immune-activating molecules to enhance the immune response

铂、环磷酰胺、硼替佐米和紫杉醇,可以有效杀死肿瘤细胞引发免疫原性细胞死亡,被确定为ICD诱导剂^[25]。常用作靶向载体的负载药物,并且常常搭配合适的免疫佐剂使用,调节肿瘤微环境中相关细胞成分和细胞因子的分泌,可以增强治疗效果。

Zhang课题组^[26]合成了一种由PEG包裹叶酸(FA)修饰的基质金属蛋白酶2(MMP-2)响应性脂质体(PEG-FA-Lip),该材料内部包裹抗癌药DOX后与免疫佐剂CpG联合使用可有效提高抗肿瘤免疫应答的效果。PEG-FA-Lip进入机体后,由于FA受体在乳腺癌细胞与M2肿瘤相关巨噬细胞(M2-TAMs)的表面均有过度表达,因此在FA的靶向作用下负载DOX的脂质体可与癌细胞和M2-TAM双重靶向结合,对MMP-2响应释放DOX。DOX在肿瘤细胞的靶向聚集引发癌细胞免疫原性死亡,为免疫应答提供了大量肿瘤相关抗原。同时,FA携带DOX靶向并杀伤M2型巨噬细胞,提高M1型巨噬细胞占比,改善免疫应答。研究表明,与CpG联合使用可有效增强DC细胞的成熟和免疫刺激因子的分泌,触发更强的效应T细胞活化,而且对于远处肿瘤也有着较好的抑制作用。Han课题组^[27]报道了类似的DOX引起免疫原性细胞死亡增强免疫应答的结果。

Li课题组^[28]构建了一种肿瘤微环境响应的奥沙利

铂前药脂质体MPV-HOAD,递送OXA和光敏剂脱镁叶绿素a,有效地增强了肿瘤的免疫原性,并增强抗肿瘤免疫应答(图6)。囊泡到达肿瘤部位后,酸性环境使脂质体降解,前药囊泡表面负电荷转化为正电荷,便于深入肿瘤细胞。他们发现共递送奥沙利铂前药和光敏剂可以促使肿瘤细胞发生免疫原性细胞死亡,诱导树突细胞成熟。他们联合使用了免疫检查点抑制剂CD47抗体,解除肿瘤免疫抑制状态,改善肿瘤免疫原性,提高DC细胞对肿瘤相关抗原的处理和呈递,并最终促进CD8⁺ T细胞的肿瘤内浸润,实现原位肿瘤和远端转移肿瘤的显著抑制,并具有持久和特异性的抗肿瘤免疫记忆效应,可有效防治肿瘤复发。

3.1.2 调节免疫微环境

肿瘤微环境(TME)中浸润有多种免疫细胞,包括巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T细胞、B细胞等。它们和分泌的细胞因子、代谢物等共同组成了肿瘤免疫微环境,影响肿瘤免疫治疗。无外界因素干扰下,TME处于免疫抑制状态,对免疫应答不敏感,使机体不能及时识别和清除癌变细胞。近年来,许多抗癌药如吉西他滨(GEM)、多西他赛(DTX)等通过调节免疫细胞状态,逆转免疫抑制微环境,将肿瘤变为免疫敏感状态,在化学免疫疗法中取得了显著效果。

图6 (网络版彩色)MPV-HOAD介导的化学免疫疗法和CD47抗体联合阻滞抑制肿瘤生长、复发和转移^[28]. Copyright © 2019, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Figure 6 (Color online) Simplified mechanism of MPV-HOAD-mediated chemo-immunotherapy and CD47 blockade to inhibit tumor growth, recurrence, and distant metastasis^[28]. Copyright © 2019, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

GEM主要通过作用于髓源性抑制细胞(MDSC)来减少TME中的免疫抑制效应,并通过嵌入DNA链来进一步抑制DNA的合成,有效触发肿瘤细胞的死亡,抑制肿瘤生长. Chen课题组^[29]根据该药物的特点,制备了一种脂质包覆的磷酸钙纳米颗粒(LCP),将GEM衍生物GMP包裹在其中,实现GMP介导的髓样细胞和肿瘤细胞中免疫抑制TME的逆转,增强抗肿瘤功效. LCP的使用使LCP-GMP可以避免核苷转运蛋白,通过内吞作用进入细胞,增加了血液循环时间,提高了药物的活性. GMP耗竭MDSC,将巨噬细胞由M2型转化成M1型,显著降低肿瘤相关巨噬细胞的免疫抑制活性,随后增强特异性抗肿瘤免疫应答,促进CD8⁺ T细胞向肿瘤浸润,同时清除免疫抑制性Treg细胞. 这些发现指出了一种简单的方法,有效地调节免疫抑制性TME以增强抗肿瘤反应,可以与其他肿瘤治疗方案相结合以达到改善或协同的治疗效果.

Chen课题组^[30]通过释放NO也可以实现调节巨噬细胞形态和肿瘤微环境的功能. 他们将NO前药DNIC($\text{Fe}(\mu\text{-Set})_2(\text{NO})_4$)封装到脂质PLGA纳米颗粒中,组装得到纳米载体(NanoNO),能够稳定控释NO. 他们发现从NanoNO释放的低剂量NO在肝癌肿瘤血管周围产生梯度浓度,使肿瘤血管正常化,增加血液灌注并缓解肿瘤缺氧. 同时,他们发现NanoNO将肿瘤周围血管正常化后,免疫抑制性M2型巨噬细胞减少,免疫促进性M1型巨噬细胞增加,并显著促进CD8⁺ T细胞向肿瘤浸润. 他们还发现与化疗药物DOX、免疫检查点阻断剂PD-L1抗体、细胞因子cGM-CSF联合,可以取得更好的抗肿瘤效果,并提高小鼠整体生存率. 这种基于NO的癌症免疫治疗具有广阔的应用前景.

3.2 负载光敏剂

光敏剂在受到特定波长激发光照射后,转换能量给周围的氧分子,将其变为羟基自由基或单线态氧等,达到杀伤细胞的目的. 研究发现,一些光敏剂如卟啉^[31]、Ce6^[11,32,33]、花菁540(MC540)^[34]、酞菁锌^[35]、ICG^[36]等在用于光动力治疗时,可以裂解肿瘤细胞释放肿瘤相关抗原,形成“肿瘤疫苗”,增强特异性抗肿瘤免疫应答.

Zhang课题组^[31]设计了一种基于卟啉(PpIX)的自组装纳米颗粒(PpIX-1MT),用来实现光动力治疗诱导癌细胞凋亡,从而促进肿瘤抗原的产生,引发强烈的免疫应答,有效抑制原发性和肺转移性肿瘤. PpIX是一种

有效的光敏剂,经尾静脉注射后由EPR效应积聚在原发肿瘤中,在近红外光照下产生活性氧,诱导肿瘤细胞凋亡. 之后,从肿瘤细胞中释放出肿瘤相关抗原,引发强烈的免疫应答. 同时,肿瘤细胞表达出caspase-3,他们巧妙地将一段caspase-3反应性肽与下调免疫抑制微环境的检查点抑制剂1MT相结合,在释放肿瘤相关抗原的同时,实现了由检查点抑制剂下调免疫抑制性微环境,从而更有效地增强肿瘤相关抗原呈递,激活CD8⁺ T细胞,提高免疫应答效率,抑制和根除原发性和转移性肺肿瘤. Lin课题组^[37]同样选用卟啉作为光敏剂(图7),设计出一种纳米级金属有机框架(nMOFs),以铁-氧簇和卟啉配体构建Fe-TBP新型光敏剂,可以克服肿瘤的缺氧并产生有效的光动力治疗,从而引发癌症免疫治疗. 研究表明,在光照后,大量经Fe-TBP处理的细胞发生凋亡/坏死,钙网蛋白外翻,诱导抗肿瘤免疫应答. 但这种免疫应答较弱,不足以产生足够的抗肿瘤能力,他们将免疫检查点抑制剂PD-L1抗体引入,发现通过减轻免疫抑制,并增加效应T细胞的浸润可以改善肿瘤免疫微环境,实现对原发肿瘤和远端肿瘤的有效抑制.

由于这种常规的光动力治疗穿透深度有限, Liu课题组^[32]将上转换纳米颗粒UCNP负载光敏剂Ce6(UCNP-Ce6),增强组织穿透深度,引起更有效的抗肿瘤免疫应答. 在980 nm NIR激光激发下,UCNP-Ce6纳米颗粒可以触发对小鼠原发肿瘤的光动力破坏,通过触发DC细胞的成熟和细胞因子的分泌来激活免疫应答. 在免疫佐剂R837的辅助下增强抗肿瘤免疫应答,显示出优异的消除肿瘤效果. 同时,通过与检查点抑制剂CTLA-4抗体联用,进一步促进这种效果,从而有效消除原发肿瘤和远端肿瘤. 此外,这种癌症免疫疗法策略显示出强大的长期免疫记忆功能,通过免疫记忆效应保护经治疗的小鼠免于肿瘤细胞的再次攻击.

3.3 负载抗原

免疫应答的激活往往需要抗原的刺激,一种可通过裂解肿瘤细胞,引起免疫原性细胞死亡,释放肿瘤相关抗原刺激免疫细胞应答;另一种则可通过纳米材料负载抗原,实现高效持续抗原释放,增强抗原呈递,诱导强烈有效的免疫应答. 纳米材料所负载抗原可以是模式抗原(卵清蛋白OVA、人黑色素肿瘤抗原HgP100等),自体抗原(肿瘤细胞及其衍生物),也可以由高免疫原性的病毒或细菌提供.

图 7 (网络版彩色) Fe-TBP用于PDT治疗, 引发抗肿瘤免疫应答^[37]. Copyright © 2018, American Chemical Society
 Figure 7 (Color online) Fe-TBP mediated PDT elicited systemic antitumor response^[37]. Copyright © 2018, American Chemical Society

3.3.1 载模式抗原

模式抗原可以在机体内引起CD8⁺ T细胞免疫应答, 但引起的免疫应答较弱, 需要通过一些递送策略增强免疫原性. 有效的模式抗原递送应当具有高负载量、持续稳定释放抗原、有利于抗原呈递细胞摄取等功能, 因此可设计不同的纳米材料, 改善纳米颗粒与抗原呈递细胞的相互作用, 增强对模式抗原的免疫应答, 进而增强免疫治疗效果.

Yu课题组^[38]通过构建具有高表面积和有效OVA载荷的多壳树突状介孔有机硅空心球(DMOHS), 研究了组成与结构对免疫治疗的影响. 他们通过T细胞激活量和细胞因子释放量进行抗原递送效果评估. 结果表明, 与普通二氧化硅球相比, 双壳树枝状介孔二氧化硅空心球可产生更高水平的免疫应答和更好的体内抗肿瘤功效; 而且当有机硅成分相同时, 双壳结构(DMOHS-2S)优于单壳结构. 这可能归因于DMOHS-2S与抗原之间的强疏水相互作用, 以及双壳结构能有效减慢蛋白质分子扩散, 实现OVA持续释放, 刺激免疫应答, 最终产生强大的抗肿瘤免疫效果. 他们^[39]还进一步掺入四硫化物BTES构建了谷胱甘肽(GSH)消耗型树突状介孔

有机二氧化硅纳米颗粒(GDMON), 负载OVA抗原肽和佐剂CPG. 这种新型GSH耗竭策略会诱导高水平ROS产生, 同时释放OVA, 诱导抗原呈递细胞成熟, 改善抗原与免疫系统间的相互作用, 有望成为新的癌症疫苗设计方向.

有意思的是, Zhan课题组^[40]和Chan课题组^[41]进行了类似的研究, 他们都探索了纳米材料的尺寸对抗原保留和引起免疫应答的影响. Zhan课题组^[40]合成了一系列直径在15~80 nm的金纳米颗粒, 将其与OVA抗原偶联. 他们利用流式细胞术研究树突细胞的体内行为, 发现80 nm金纳米颗粒的树突细胞内吞水平中等, 但在溶酶体中含量最高, 有利于材料降解释放抗原和佐剂, 具有最大的促进树突细胞成熟能力, 可以诱导强烈的CD8⁺ T细胞应答, 杀伤肿瘤细胞. Chan课题组^[41]研究了偶联OVA抗原的不同大小的球形金纳米颗粒(OVA-AuNPs)对抗原递送至滤泡的影响, 发现尺寸较大的纳米颗粒免疫应答更强烈. 他们在注射不同大小的材料后, 在不同时间处死小鼠, 通过收集小鼠淋巴结进行组织学分析, 研究纳米颗粒的大小对材料在淋巴结滤泡中累积和清除的影响, 发现淋巴结滤泡清除较小的纳

米颗粒(5~15 nm)而保留较大的纳米颗粒(50~100 nm)。由于尺寸较大, 50~100 nm的OVA-AuNPs能长时间保留在树突细胞上, 不被内吞清除, 从而呈递更多抗原给B细胞, 诱导更强的抗原刺激和B细胞增殖, 实现更好的免疫治疗效果。这些发现将能够指导与树突细胞相互作用有关的抗原偶联纳米颗粒的合理设计, 以更有效地开发疫苗。

除OVA抗原外, 黑色素肿瘤抗原HgP100也能用作纳米材料负载的抗原。Wang课题组^[42]通过双乳化法制备了聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米颗粒, 负载抗原HgP100和促进抗原呈递的药物黄芩苷, 并包覆半乳糖修饰的红细胞膜, 制备仿生纳米颗粒RBC-Gala, 实现肿瘤特异性免疫应答。半乳糖赋予材料良好的肿瘤靶向性, 红细胞膜保护抗原避免被血液循环清除。由于黄芩苷诱导巨噬细胞向M1表型极化, 免疫微环境得以改善, HgP100抗原激活抗肿瘤免疫应答, 诱导肿瘤部位CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞的数量大大增加, 有效地抑制了体内黑色素瘤肿瘤的生长。

3.3.2 载肿瘤自体抗原

肿瘤细胞及其衍生物如细胞膜、囊泡、细胞碎片等可以作为自体抗原, 能够增强免疫原性。Lin课题组^[34]选用肿瘤细胞碎片作为自体抗原, 结合光动力治疗释放的肿瘤相关抗原, 两种抗原联合能有效增强免疫应答。他们设计了包被有上转换纳米材料的中孔氧化硅作为新型纳米免疫佐剂(UCMS), 通过大的中孔结构大量负载肿瘤细胞碎片和光敏剂花青540(MC540)制备纳米疫苗。在980 nm近红外光照下光动力治疗释放出肿瘤相关抗原, 和纳米疫苗负载的肿瘤细胞碎片联合, 刺激树突细胞成熟, 最终导致T细胞活化和增殖, 并释放相关细胞因子, 有效地杀死肿瘤细胞。这种协同抗原供给可以提高免疫治疗效果, 提高荷瘤小鼠存活率, 为开发用于癌症治疗的先进疫苗递送系统提供了新思路。

Chen课题组^[43]开发了基于PLGA的不同大小纳米颗粒, 将PLGA、小鼠癌细胞膜(抗原)、佐剂R837通过聚碳酸酯膜共挤出获得不同大小的核壳纳米颗粒(MANP/R837), 设计了新型肿瘤疫苗。研究结果表明, 直径为83 nm的MANP/R837显示出向引流淋巴结的最有效递送, 而100和122 nm的材料大部分仍停留在注射部位, 可能是由于80 nm的纳米颗粒更容易通过淋巴管聚集在引流淋巴结中。而抗原呈递细胞(如DC细胞)存在于淋巴结中, 因此80 nm材料能够有效将负载的癌细

胞膜抗原刺激DC细胞成熟, 实现向T细胞的最佳抗原呈递, 并进一步增强免疫应答, 有效抑制肿瘤生长和转移。此外, 他们发现与PD-1抗体阻断治疗联合可以显著增强治疗效果, 抑制肿瘤转移。该发现为设计纳米疫苗用于癌症免疫疗法的临床应用开发出新的可能。

3.3.3 载病毒/细菌抗原

其他具有强免疫原性的物质, 如人乳头瘤病毒、富含病原体相关分子的细菌膜, 也可以用作外载抗原并捕获新抗原增强免疫应答。Morris课题组^[44]开发了一种分离自耻垢分枝杆菌、强免疫原性细菌膜包被的纳米颗粒(BNP), 用来与放疗结合用于原位疫苗接种(图8)。BNP的核由干扰素刺激剂PC7A和佐剂CpG组成, 通过挤压工艺进行细菌膜包被, 并在细菌膜表面修饰马来酰亚胺以增强抗原捕获。该研究表明, 局部放疗触发的抗肿瘤免疫应答不足以破坏肿瘤, 在与BNP联用后, 耻垢分枝杆菌膜能够捕获放疗产生的肿瘤相关抗原, 且细菌膜本身具有高免疫原性, 存在可刺激先天免疫的激动剂, BNP-新抗原复合物会经历高效的抗原呈递细胞吸收和免疫应答。BNP被树突细胞内吞后, 在两种佐剂PC7A和CpG刺激下, 树突细胞的成熟被进一步促进, 向T细胞呈递抗原, 并增加CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞向肿瘤浸润, 能够有效消除原发肿瘤, 并显示出优异的免疫记忆效应。但是, 他们的研究也显示了免疫抑制基因表达增加的趋势, 可能会限制放疗和BNP的免疫应答, 并可能导致晚期肿瘤转移性进展。因此还需要与免疫检查点抑制剂结合, 克服这些负面免疫反馈。

3.4 负载抗体

肿瘤细胞自身的免疫原性低, 不足以引发强烈有效的T细胞免疫应答, 这种情况很多是由于肿瘤细胞表面携带一些特殊的蛋白进行伪装, 抑制免疫细胞的杀伤, 逃脱免疫细胞的识别和捕获杀伤。除了增强免疫细胞活化外, 对这些特殊的蛋白进行抑制的检查点阻断疗法也是一种有效的治疗途径。在近年来的研究中, 常用的阻断肿瘤细胞免疫逃逸的检查点抑制剂主要有PD-1抗体、PD-L1抗体、CTLA-4抗体等, 能够有效增强T细胞对肿瘤细胞的识别, 提高免疫治疗效果。

Xie课题组^[45]制备了一种pH响应性磁纳米团簇(NC), 负载PD-1抗体, 用于改善过继性T细胞疗法。该纳米团簇由水热法合成, 由pH敏感的苯甲酸-亚胺键进行连接, 修饰PD-1抗体而成。正常情况下T细胞表面的PD-1可被肿瘤细胞表面的PD-L1识别并结合, 导致浸

图8 (网络版彩色)放疗和BNP组合引起的原位疫苗作用。(a) BNP与TME相互作用增强抗原提呈细胞摄取和激活。(b) 原位疫苗作用示意图。(c) BNP的组成和每个BNP组件的功能^[44]。Copyright © 2019, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Figure 8 (Color online) Schematic of *in situ* vaccine effect elicited by combined RT with BNP. (a) A schematic of how a BNP interacts with the TME to enhance APC uptake and activation. (b) Schematic depiction of the *in situ* vaccine effect elicited by combined RT + BNP. (c) Composition of the BNP and the function of each BNP components^[44]. Copyright © 2019, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

润到肿瘤中的效应T细胞活性受到抑制。该材料通过负载PD-1抗体,在体外与T细胞结合,刺激T细胞大量增殖活化。然后,体外扩增的T细胞被输回患者体内,通过磁靶向富集在肿瘤区域,在酸性微环境下PD-1抗体释放出来,进一步阻断PD-1,使T细胞能够有效杀伤肿瘤细胞。这种经PD-1抗体改善的过继性T细胞疗法在抑制肿瘤再次侵袭和肿瘤转移方面显示出显著的优势。

还有一些研究使用阻断剂作为辅助,与其他治疗方式联合,共同抑制肿瘤生长。Liu课题组^[11]首次合成了一种中空多孔的MnO₂纳米颗粒(图9),构成负载光敏剂Ce6和化学药物DOX的递送系统(H-MnO₂-PEG/C&D),实现化学光动力疗法协同治疗效果,同时引发抗肿瘤免疫应答来抑制远端肿瘤生长和肿瘤转移。这种中空多孔的壳层结构提高了药物的负载效率, MnO₂

在肿瘤部位响应性降解,释放出DOX和Ce6,消除原发性肿瘤细胞并从中释放肿瘤相关抗原,引起ICD,通过T细胞免疫应答杀伤残留的肿瘤细胞。他们还将PD-L1检查点阻断策略运用到治疗中,结果发现PD-L1抗体可以进一步增强肿瘤特异性T细胞的产生。这种联合治疗能有效抑制原发性肿瘤和未经治疗的远端肿瘤生长。

3.5 载细胞因子

特定的细胞因子能够通过活化免疫细胞直接引起机体免疫应答,但单独施用的细胞因子往往全身性扩散,会激起全身性免疫风暴,造成过敏反应等不良后果。因此,将某些细胞因子封装进纳米材料,与其他疗法相结合,能达到安全可控的抗癌效果。

Xie课题组^[46]通过化学交联法制备了一种负载白

图9 (网络版彩色)H-MnO₂-PEG/C&D联合PD-L1抗体疗法诱导的抗肿瘤免疫应答^[11]. Copyright © 2017, Springer Nature
 Figure 9 (Color online) The proposed mechanism of anti-tumor immune responses induced by H-MnO₂-PEG/C&D in combination with anti-PD-L1 therapy^[11]. Copyright © 2017, Springer Nature

介素2(IL-2)的氧化还原响应纳米凝胶. 通过共价键和静电结合实现在T细胞表面的吸附, 控制IL-2响应性释放, 有效促进T细胞分裂和增殖, 将体外扩增的T细胞回输到荷瘤小鼠体内, 实现过继性T细胞转移治疗. 这种持续性低剂量释放药物与全身性游离给药相比, 大幅降低了IL-2的副作用, 还促进了CD8⁺ T细胞的分化, 同时也减缓了其衰老进程. 类似地, Zhang课题组^[47]合成了一种聚乙二醇修饰的承载IL-2细胞因子和CD137抗体的脂质体纳米递送系统. CD137抗体可以实现对T细胞、NK细胞、树突细胞的共刺激; 将其与IL-2结合使用, 使免疫效果大大增强. 脂质体的使用可以通过EPR效应以实现药物在肿瘤部位迅速积累, 降低了IL-2对身体其他部位的细胞毒性, 同时显示出较高的抗癌活性.

Wang课题组^[48]研制了负载DOX和NK细胞趋化因子SDF-1 α 的Ag₂Se量子点, 发展了一种多通道近红外二区荧光活体影像策略. 他们通过细胞迁移侵袭技术证明了Ag₂Se负载的SDF-1 α 可以吸引NK细胞的迁移, NK细胞由于受到SDF-1 α 的趋化效应, 实现了高效的迁移, 很快黏附到人乳腺癌肿瘤细胞, 在与肿瘤细胞接触后, 显著增高颗粒酶表达, 激活肿瘤细胞的杀伤途径. 同时, 与抗癌药物DOX相结合可以协同杀死肿瘤细胞, 实现化学免疫联合疗法.

3.6 负载质粒

基因治疗在免疫治疗中也发挥出独特的作用. 通

过纳米颗粒可以将一些质粒运送到肿瘤部位, 抑制免疫逃逸或免疫抑制信号通路, 或增强抗原及促进免疫的细胞因子表达, 实现更高效快速的抗肿瘤治疗效果.

3.6.1 作用于癌细胞

考虑到癌细胞表面的PD-L1往往与T细胞表面的PD-1结合, 使T细胞失活, 造成免疫逃逸, 影响免疫治疗效果, Liu团队^[49]设计了一种基于CRISPR/Cas13aa的双锁定纳米材料(DLNP), 用于精准控制PD-L1阳性的肿瘤细胞死亡, 打破免疫逃逸, 引起有效的抗肿瘤免疫应答. 该DLNP具有核壳结构, 靶向PD-L1基因的crRNA被编码在CRISPR/Cas13a中, 编码CRISPR/Cas13a系统的质粒DNA(pDNA)被包裹在纳米材料核内, 在肿瘤酸性及高H₂O₂环境中释放pDNA, 激活CRISPR/Cas13a破坏PD-L1表达, 避免肿瘤细胞通过PD-L1/PD-1通路诱导T细胞凋亡. 有效减少T细胞衰竭, 并促进T细胞介导的抗肿瘤免疫应答, 最终重塑免疫抑制性微环境. 研究表明, 凭借对肿瘤微环境和PD-L1高表达细胞的双重特异性, DLNP仅在PD-L1高表达肿瘤细胞中实现CRISPR/Cas13a的特异性激活以及随后的细胞凋亡, 这为在体内安全使用CRISPR/Cas13a提供了坚实的癌症治疗基础.

3.6.2 作用于免疫细胞

纳米颗粒运送质粒到肿瘤部位时, 除直接递送至癌细胞外, 也可以将质粒递送至树突细胞、巨噬细胞、T细胞等免疫细胞中, 诱导相应基因表达, 活化免疫细胞, 改善免疫微环境, 增强抗肿瘤免疫应答.

Chaudhuri课题组^[50]基于金纳米颗粒和模仿甘露糖的草酰化阳离子配体(SL)开发了用于向树突细胞递送DNA疫苗的复合纳米颗粒(AuNPs-SL)。他们将头部含有黑色素瘤抗原编码(MART1)的DNA疫苗,通过静电力与金纳米载体复合(AuNP-DNA),通过SL基团与树突细胞上高表达的甘露糖受体之间的特异性结合,靶向递送含黑色素瘤抗原编码的MART1质粒。一旦AuNP-DNA进入树突细胞,SL配体脱落,引起MART1质粒有效释放,并在树突细胞中表达黑色素瘤抗原,刺激树突细胞成熟,诱导持久的抗黑色素肿瘤免疫应答。

Zhang课题组^[51]制备了对M2型巨噬细胞具有双重靶向作用的核壳脂质纳米颗粒(M2NP),递送与M2型巨噬细胞分化存活有关的集落刺激因子-1(CSF-1)的siRNA(siCD115),阻断M2型巨噬细胞的生存信号CSF-1R并清除黑色素瘤(图10)。材料所传递的siCD115能阻断M2型巨噬细胞中的CSF-1/CSF-1R通路,从而导致M2型巨噬细胞耗竭,逆转免疫抑制微环境,并增强抗肿瘤免疫应答,显著抑制黑色素瘤生长并延长小鼠生存期。依据材料的高度生物相容性和灵活性,这种策略能够为特定基因疗法以及针对巨噬细胞的免疫疗法提供更多的思路。Yin课题组^[52]则研究了与M2型巨噬细胞相关的血管内皮生长因子(VEGF)信号通路。他们合成有

机pH敏感载体,将VEGF siRNA(siVEGF)和调节VEGF信号转导的PIGF siRNA(siPIGF)共传递到M2型巨噬细胞和乳腺癌细胞。研究表明,通过siRNA表现出优异的VEGF和PIGF沉默,抑制M2型巨噬细胞生长,改善免疫抑制微环境并重塑成抗肿瘤状态。这种PIGF与VEGF共同阻断的方法可以有效抑制乳腺癌的生长和肺转移。

4 总结与展望

在过去的几年里,肿瘤免疫疗法已经引起了极大的关注,有望实现现代癌症疗法的突破。然而,肿瘤免疫抑制微环境、肿瘤抗原低应答等因素的存在导致免疫疗法的临床效果并不理想。纳米材料的引入可以显著增强免疫应答,逆转免疫抑制微环境,从而提高治疗效果。

本文根据纳米材料在增强免疫应答过程中所起的作用进行分类。利用其独特的性质,纳米材料可通过自身增强免疫应答,也可以在外源响应条件下利用其光热或磁热等性质增强免疫应答。而更广泛的应用则是纳米颗粒作为载体,通过负载药物、光敏剂、抗原、质粒等增强免疫应答,以提高肿瘤治疗效果。目前对免疫治疗的研究仍大部分停留在实验研究阶段,对于临

图10 (网络版彩色)M2NP递送siRNA用于CSF-1R沉默和免疫微环境调节^[51]. Copyright © 2017, American Chemical Society

Figure 10 (Color online) M2NP-based delivery of siRNA for CSF-1R silencing and immune regulation^[51]. Copyright © 2017, American Chemical Society

床应用而言挑战仍然较大。这些创新的治疗性纳米材料的发展为提高免疫治疗效果提供了巨大潜能,该领域未来的发展方向可能有以下几个方面:(1)在材料设计方面,调整材料大小、表面电荷、形状,合理设计内/外源响应性材料,增加材料在靶点的累积,使毒性最小

化并优化免疫治疗试剂的治疗功效,提高免疫治疗效率;(2)材料合成制备简单化,增大产量,提高其临床大规模应用的潜力;(3)发掘新的肿瘤特异性抗原和检查点,精准分析肿瘤微环境,设计新型纳米材料,增强肿瘤特异性免疫治疗效果。

参考文献

- 1 Yoon H Y, Selvan S T, Yang Y, et al. Engineering nanoparticle strategies for effective cancer immunotherapy. *Biomaterials*, 2018, 178: 597–607
- 2 Irvine D J, Hanson M C, Rakhra K, et al. Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy. *Chem Rev*, 2015, 115: 11109–11146
- 3 Gong N, Zhang Y, Zhang Z, et al. Functional nanomaterials optimized to circumvent tumor immunological tolerance. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1806087
- 4 Li Y, Ayala-Orozco C, Rauta P R, et al. The application of nanotechnology in enhancing immunotherapy for cancer treatment: Current effects and perspective. *Nanoscale*, 2019, 11: 17157–17178
- 5 Jiang H, Wang Q, Sun X. Lymph node targeting strategies to improve vaccination efficacy. *J Control Release*, 2017, 267: 47–56
- 6 Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, et al. Gold nanoparticles as a vaccine platform: Influence of size and shape on immunological responses *in vitro* and *in vivo*. *ACS Nano*, 2013, 7: 3926–3938
- 7 Li A W, Sobral M C, Badrinath S, et al. A facile approach to enhance antigen response for personalized cancer vaccination. *Nat Mater*, 2018, 17: 528–534
- 8 Deng R H, Zou M Z, Zheng D, et al. Nanoparticles from cuttlefish ink inhibit tumor growth by synergizing immunotherapy and photothermal therapy. *ACS Nano*, 2019, 13: 8618–8629
- 9 Zanganeh S, Hutter G, Spitler R, et al. Iron oxide nanoparticles inhibit tumour growth by inducing pro-inflammatory macrophage polarization in tumour tissues. *Nat Nanotechnol*, 2016, 11: 986–994
- 10 Gu Z, Liu T, Tang J, et al. Mechanism of iron oxide-induced macrophage activation: The impact of composition and the underlying signaling pathway. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 6122–6126
- 11 Yang G, Xu L, Chao Y, et al. Hollow MnO₂ as a tumor-microenvironment-responsive biodegradable nano-platform for combination therapy favoring antitumor immune responses. *Nat Commun*, 2017, 8: 902
- 12 Tang L, Zheng Y, Melo M B, et al. Enhancing T cell therapy through TCR-signaling-responsive nanoparticle drug delivery. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 707–716
- 13 Zhu L, Kalimuthu S, Oh J M, et al. Enhancement of antitumor potency of extracellular vesicles derived from natural killer cells by IL-15 priming. *Biomaterials*, 2019, 190: 38–50
- 14 Lai H, Zeng D, Liu C, et al. Selenium-containing ruthenium complex synergizes with natural killer cells to enhance immunotherapy against prostate cancer via activating TRAIL/FasL signaling. *Biomaterials*, 2019, 219: 119377
- 15 Shin H, Na K. *In situ* vaccination with biocompatibility controllable immuno-sensitizer inducing antitumor immunity. *Biomaterials*, 2019, 197: 32–40
- 16 Yang Y, Tang J, Abbaraju P L, et al. Hybrid nanoreactors: Enabling an off-the-shelf strategy for concurrently enhanced chemo-immunotherapy. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 11764–11769
- 17 Zhang D, Wu T, Qin X, et al. Intracellularly generated immunological gold nanoparticles for combinatorial photothermal therapy and immunotherapy against tumor. *Nano Lett*, 2019, 19: 6635–6646
- 18 Nam J, Son S, Ochyl L J, et al. Chemo-photothermal therapy combination elicits anti-tumor immunity against advanced metastatic cancer. *Nat Commun*, 2018, 9: 1074
- 19 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
- 20 Qian M, Chen L, Du Y, et al. Biodegradable mesoporous silica achieved via carbon nanodots-incorporated framework swelling for debris-mediated photothermal synergistic immunotherapy. *Nano Lett*, 2019, 19: 8409–8417
- 21 Liu X, Zheng J, Sun W, et al. Ferrimagnetic vortex nanoring-mediated mild magnetic hyperthermia imparts potent immunological effect for treating cancer metastasis. *ACS Nano*, 2019, 13: 8811–8825
- 22 Chao Y, Chen G, Liang C, et al. Iron nanoparticles for low-power local magnetic hyperthermia in combination with immune checkpoint blockade for systemic antitumor therapy. *Nano Lett*, 2019, 19: 4287–4296
- 23 Lu K, He C, Guo N, et al. Low-dose X-ray radiotherapy-radiodynamic therapy via nanoscale metal-organic frameworks enhances checkpoint blockade immunotherapy. *Nat Biomed Eng*, 2018, 2: 600–610
- 24 Huang H, Banerjee S, Qiu K, et al. Targeted photoredox catalysis in cancer cells. *Nat Chem*, 2019, 11: 1041–1048
- 25 Lv C, Zhou L L, Wang C H, et al. Tumor-targeted drug and CpG delivery system for phototherapy and docetaxel-enhanced immunotherapy with polarization toward M1-type macrophages on triple negative breast cancers. *Adv Mater*, 2019, 31: 1904997

- 26 Deng C, Zhang Q, Jia M, et al. Tumors and their microenvironment dual-targeting chemotherapy with local immune adjuvant therapy for effective antitumor immunity against breast cancer. *Adv Sci*, 2019, 6: 1801868
- 27 Han Y, Ding B, Zhao Z, et al. Immune lipoprotein nanostructures inspired relay drug delivery for amplifying antitumor efficiency. *Biomaterials*, 2018, 185: 205–218
- 28 Zhou F, Feng B, Yu H, et al. Tumor microenvironment-activatable prodrug vesicles for nanoenabled cancer chemoimmunotherapy combining immunogenic cell death induction and CD47 blockade. *Adv Mater*, 2019, 31: 1805888
- 29 Zhang Y, Bush X, Yan B, et al. Gemcitabine nanoparticles promote antitumor immunity against melanoma. *Biomaterials*, 2019, 189: 48–59
- 30 Sung Y C, Jin P R, Chu L A, et al. Delivery of nitric oxide with a nanocarrier promotes tumour vessel normalization and potentiates anti-cancer therapies. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14: 1160–1169
- 31 Song W, Kuang J, Li C X, et al. Enhanced immunotherapy based on photodynamic therapy for both primary and lung metastasis tumor eradication. *ACS Nano*, 2018, 12: 1978–1989
- 32 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
- 33 Xing L, Gong J H, Wang Y, et al. Hypoxia alleviation-triggered enhanced photodynamic therapy in combination with IDO inhibitor for preferable cancer therapy. *Biomaterials*, 2019, 206: 170–182
- 34 Ding B B, Shao S, Yu C, et al. Large-pore mesoporous-silica-coated upconversion nanoparticles as multifunctional immunoadjuvants with ultrahigh photosensitizer and antigen loading efficiency for improved cancer photodynamic immunotherapy. *Adv Mater*, 2018, 30: 1802479
- 35 Yu W, Wang Y, Zhu J, et al. Autophagy inhibitor enhance ZnPc/BSA nanoparticle induced photodynamic therapy by suppressing PD-L1 expression in osteosarcoma immunotherapy. *Biomaterials*, 2019, 192: 128–139
- 36 Chen Q, Xu L, Liang C, et al. Photothermal therapy with immune-adjuvant nanoparticles together with checkpoint blockade for effective cancer immunotherapy. *Nat Commun*, 2016, 7: 13193
- 37 Lan G, Ni K, Xu Z, et al. Nanoscale metal-organic framework overcomes hypoxia for photodynamic therapy primed cancer immunotherapy. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 5670–5673
- 38 Yang Y, Lu Y, Abbaraju P L, et al. Multi-shelled dendritic mesoporous organosilica hollow spheres: Roles of composition and architecture in cancer immunotherapy. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 8446–8450
- 39 Lu Y, Yang Y, Gu Z, et al. Glutathione-depletion mesoporous organosilica nanoparticles as a self-adjuvant and Co-delivery platform for enhanced cancer immunotherapy. *Biomaterials*, 2018, 175: 82–92
- 40 Zhou Q, Zhang Y, Du J, et al. Different-sized gold nanoparticle activator/antigen increases dendritic cells accumulation in liver-draining lymph nodes and CD8⁺ T cell responses. *ACS Nano*, 2016, 10: 2678–2692
- 41 Zhang Y N, Lazarovits J, Poon W, et al. Nanoparticle size influences antigen retention and presentation in lymph node follicles for humoral immunity. *Nano Lett*, 2019, 19: 7226–7235
- 42 Han S, Wang W, Wang S, et al. Multifunctional biomimetic nanoparticles loading baicalin for polarizing tumor-associated macrophages. *Nanoscale*, 2019, 11: 20206–20220
- 43 Li S X, Feng X R, Wang J X, et al. Multiantigenic nanoformulations activate anticancer immunity depending on size. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1903391
- 44 Patel R B, Ye M, Carlson P M, et al. Development of an *in situ* cancer vaccine via combinational radiation and bacterial-membrane-coated nanoparticles. *Adv Mater*, 2019, 31: 1902626
- 45 Nie W, Wei W, Zuo L, et al. Magnetic nanoclusters armed with responsive PD-1 antibody synergistically improved adoptive T-cell therapy for solid tumors. *ACS Nano*, 2019, 13: 1469–1478
- 46 Xie Y Q, Arik H, Wei L, et al. Redox-responsive interleukin-2 nanogel specifically and safely promotes the proliferation and memory precursor differentiation of tumor-reactive T-cells. *Biomater Sci*, 2019, 7: 1345–1357
- 47 Zhang Y, Li N, Suh H, et al. Nanoparticle anchoring targets immune agonists to tumors enabling anti-cancer immunity without systemic toxicity. *Nat Commun*, 2018, 9: 6
- 48 Hao X, Li C, Zhang Y, et al. Programmable chemotherapy and immunotherapy against breast cancer guided by multiplexed fluorescence imaging in the second near-infrared window. *Adv Mater*, 2018, 30: 1804437
- 49 Zhang Z, Wang Q, Liu Q, et al. Dual-locking nanoparticles disrupt the PD-1/PD-L1 pathway for efficient cancer immunotherapy. *Adv Mater*, 2019, 31: 1905751
- 50 Meka R R, Mukherjee S, Patra C R, et al. Shikimoyl-ligand decorated gold nanoparticles for use in *ex vivo* engineered dendritic cell based DNA vaccination. *Nanoscale*, 2019, 11: 7931–7943
- 51 Qian Y, Qiao S, Dai Y, et al. Molecular-targeted immunotherapeutic strategy for melanoma via dual-targeting nanoparticles delivering small interfering RNA to tumor-associated macrophages. *ACS Nano*, 2017, 11: 9536–9549
- 52 Song Y, Tang C, Yin C. Combination antitumor immunotherapy with VEGF and PIGF siRNA via systemic delivery of multi-functionalized nanoparticles to tumor-associated macrophages and breast cancer cells. *Biomaterials*, 2018, 185: 117–132

Summary for “纳米材料在增强肿瘤免疫应答中的应用”

Application of nanomaterials in antitumor immune response enhancement

Beibei Chen, Mengxuan Cao, Mingqiang Hao, Xiaoyi Zhao, Nana Zhao^{*} & Fu-Jian Xu^{*}

State Key Laboratory of Chemical Resource Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

^{*} Corresponding authors, E-mail: zhaonn@mail.buct.edu.cn; xufj@mail.buct.edu.cn

Cancer cells are well recognized by immunotolerance characteristics, which include low immunogenicity, weak antigen presentation, low T cell infiltration, and high expression of inhibitory receptors and cytokines. This typical mechanism allows cancer cells to easily avoid the attack by immune cells, resulting in immune escape. Due to unique properties, such as adjustable size, unique surface properties, and ease of modification, nanomaterials have shown great potential in the field of immunotherapy. In this review, we summarize several ways in which nanomaterials can enhance the immune response against tumor cells. Therefore, we presently discuss the potential mechanisms involved in the induction of immune response by a series of nanomaterials. As a result, we also propose the generation of more advanced and tumor-driven nanomaterials, as well as their potential applications in tumor immunotherapy.

According to the route of tumor immunity, we have currently classified nanomaterials into three categories: (1) Nanomaterials with inherent immunoregulatory functions, (2) nanomaterials that, upon an exogenous response, trigger immunogenic cell death and/or enhance immune responses, and (3) nanomaterials that are used as delivery vehicles to unload other immune-activating molecules (e.g., chemical drugs, photosensitizers, proteins and DNA plasmids) to tumors or immune cells as well as immune-activating molecules that may enhance an immune response. Some natural or synthetic nanomaterials can inherently stimulate macrophage polarization and enhance immune response. As such, nanomaterials may polarize M2 macrophages into M1 macrophages by regulating the cellular phenotype, reversing the tumor immune microenvironment and, ultimately, improving an immune cell killing activity. Cytokines or compounds with immune stimulating functions can enhance an immune response by promoting the proliferation of immune cells such as T lymphocytes and NK cells. Moreover, some nanomaterials rely on their own electrical properties or responsiveness to the tumor microenvironment, leading to tumor cell immunogenic death and/or enhancing anti-tumor immune responses.

Nanomaterials have been widely used in photothermal, magnetocaloric and radiation therapies as well as into other fields, due to their unique optical, electrical, and magnetic properties. Recently, it has been discovered that some of these properties may “switch” tumor cells from non-immunogenic to immunogenic cells (i.e., immunogenic cell death) and, consequently, enhance an anti-tumor immune response. Compared with an endogenous response that mostly relies on characteristics of the tumor microenvironment, rationally designed nanomaterials that are responsive to exogenous responses can more effectively enhance the immune response at the tumor site and then achieve a more precise and tractable treatment. Hence, here we introduce the notion of an enhanced immune response, dependent on the use of nanomaterials co-stimulated by exogenous responses such as near-infrared light response, magnetic field response and others. Lastly, some substances, such as drugs, photosensitizers, proteins, plasmids, are unable to elicit a robust immune response when used without a carrier. In addition, some agents can also cause tissue damage and/or local toxicity when solely used for treatment. Thus, these substances often need to be combined with nanomaterials to achieve high biological loads, targeted delivery, controllable release and other functions to safely and efficiently enhance the anti-tumor immune response.

Nevertheless, current research on nanomaterial-based immunotherapy is still under development, and the translation for clinical application is still challenging. Therefore, advances in the development of innovative therapeutic nanomaterials will offer great potential for improving the effectiveness of immunotherapy.

immune response, nanoparticles, enhancement methods, immune mechanism, specific immune response

doi: [10.1360/TB-2019-0787](https://doi.org/10.1360/TB-2019-0787)