

纳米金用于肿瘤免疫治疗的研究进展

丁 笠, 张新跃

(扬州大学生物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要:肿瘤免疫疗法作为一种高效高安全性的抗肿瘤策略,主要通过激活人体免疫系统发挥抗肿瘤效应。多种纳米材料在肿瘤免疫治疗研究中被用于免疫佐剂和疫苗的肿瘤靶向递送。该文主要综述了纳米金作为免疫药物和药物载体在抗肿瘤研究中的应用。纳米金不仅能通过自身的独特优势发挥免疫调节作用,还能够特异性地在体内将免疫制剂运送至效应部位,降低药物的不良反应,提升了免疫药物的作用效果,保障了免疫疗法的安全实施,为肿瘤治疗提供了新思路和新策略。

关键词:纳米金;肿瘤;免疫治疗;靶向递送;免疫调节

中图分类号:R730.51 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2021)01-0058-09

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2021.01.A007

Advances in Application of Gold Nanoparticles for Cancer Immunotherapy

DING Li, ZHANG Xin-yue

(College of Biological Sciences and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: As an anticancer strategy with high efficacy and security, tumor immunotherapy aims to activate the immune system for the recognizing and killing cancer cells. To acquire efficient immune activation, various nanomaterials have been developed for tumor-targeted delivery of immunologic adjuvant and vaccine. In this article, the application of gold nanoparticles as immune agents or drug carriers for anticancer treatment are summarized. Gold nanoparticles not only can play a role of immune regulator, but also can induce a targeted delivery of immune drugs *in vivo* with a high-efficiency and safe manner.

Key words: gold nanoparticles; tumor; immunotherapy; targeted delivery; immune regulator

肿瘤免疫疗法通过激活人体免疫系统,恢复其对肿瘤细胞的识别和杀灭,是一种具有较高应用前景的抗肿瘤策略。但肿瘤细胞狡猾的生长调控机制和复杂多变的肿瘤微环境为免疫系统的激活设置了重重阻碍,增加了其逃脱免疫监视的概率^[1-6]。为克服癌细胞免疫逃逸机制,研究者们做了许多尝试以激活免疫细胞对癌细胞的识别和杀伤,实现理想的抗癌效果。抗原等免疫佐剂以及外源性细胞因子是早期研究中激活免疫细胞、抑制肿瘤生长的常用制剂^[7]。随着人们对肿瘤免疫相关机理研究的不断深入以及免疫技术的迅速发展,过继性免疫细胞疗法

(adoptive cellular immunotherapy, ACI) 和肿瘤免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors) 逐渐成为当前肿瘤免疫治疗的主流手段^[8-10]。已有多个基于该类技术的药物进入临床^[11-13]。

尽管免疫疗法的不断创新为攻克癌症带来了一线曙光,但是传统免疫制剂缺乏对肿瘤组织的靶向性,通常会在使用剂量过大时导致全身性免疫反应,限制了它们的作用效果^[14]。而纳米技术的引入能够有效提升免疫药物的靶向递送效率和治疗功效^[14-16]。Riley 等^[17]的综述性研究揭示,纳米粒子能够通过“EPR 效应”(高渗透长滞留效应, enhanced permeability and retention effect) 特异性积聚于肿瘤组织和细胞中,高度适用于肿瘤疫苗和免疫佐剂的靶向递送。据报道^[17-18],聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA)、

收稿日期:2020-03-22;修回日期:2020-07-06

基金项目:江苏省自然科学基金青年项目(BK20160478);国家自然科学基金基金青年项目(81802765)

通信作者:张新跃, E-mail: zhangxinyue@yzu.edu.cn

脂质体、纳米胶束、纳米金 (AuNPs) 等多种纳米材料已被用于肿瘤免疫治疗药物的递送研究。该类材料不仅能够通过改进合成工艺、增加聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 等分子的修饰,提升其在生物分布、药代动力学、生物安全等方面的性能,而且还能够通过精氨酸—甘氨酸—天冬氨酸三肽 (RGD) 等主动靶向分子的修饰进一步提高自身的肿瘤靶向性,将免疫激动剂特异性递送至肿瘤部位,在诱导增强机体抗肿瘤免疫反应的同时,降低全身性炎症反应的发生概率。其中,纳米金由于其独特的优势受到了人们更为广泛的关注^[19]。除了对肿瘤组织和免疫系统的良好靶向性之外,纳米金还具有其它纳米载体所不具备的优点^[20-21]。首先,纳米金是一种非常适合于医学应用的生物惰性材料,可塑性极强。对纳米金尺寸和形状的小幅度调整即可导致其体内分布、代谢、细胞毒性、免疫原性等特性的变化。其次,纳米金具有高度的可修饰性,其表面能够容纳的分子密度高于大多数其它纳米材料,能够在通过多种方式偶联不同类型和功能的分子的同时,避免这些分子间的相互干扰。人们可以通过同时修饰 PEG、RGD、免疫佐剂等不同功能的分子,改善纳米金多方面的性能,全面提升其靶向递送免疫药物、激活免疫系统的功效。更为重要的是,纳米金独特的光动力学性质,使其能够在特定波长激光的照射下产热,一方面通过热相关信号途径刺激肿瘤组织中免疫因子、炎症递质的分泌,另一方面在癌组织中释放免疫激动药物,协同诱导针对癌细胞的免疫应答,实现高效低毒的抗肿瘤免疫疗效^[22]。

近年来的研究^[18,23]表明,纳米科学技术不断交叉渗透于肿瘤免疫治疗相关领域。以纳米金为代表的纳米材料不仅能够用于靶向递送肿瘤相关抗原和免疫细胞因子等传统抗肿瘤免疫佐剂,还能够被应用于过继性免疫细胞疗法和免疫检查点抑制疗法等当前研究热点,展现了优秀的潜在临床价值^[23]。本文综述了近年来对纳米金用于肿瘤免疫疗法的研究进展,并阐述了其广阔的应用前景。

1 纳米金材料的体内分布及其介导的非特异性免疫调节作用

纳米金在体内的分布和代谢特性与自身的尺寸大

小、形状、所携带电荷以及表面修饰等密切相关^[24-26]。目前研究表明,粒径大小以及表面的 PEG 修饰是影响纳米金代谢参数的两大主要因素:粒径较小的纳米金相较于大尺寸纳米金拥有更长的血液半衰期以及更高的生物利用度;而 PEG 修饰则能够降低网状内皮系统 (RES) 对纳米金的摄取,进一步延长纳米粒子的血液循环时间^[27-29]。修饰于纳米金表面的 PEG 分子量越大、数量越多,这种增强效果越明显。Takeuchi 等^[29]证实 PEG 修饰后的粒径为 20~30nm 和 50nm 的纳米金相比于无修饰材料,在肝脾等组织内的分布率显著下降,而在肿瘤组织中浓度分别提升了 3.6 倍和 2.7 倍。

除此之外,很多团队也针对表面电荷对纳米金体内代谢的影响进行了深入的研究。Liu 等^[30]证实,携带正电荷的纳米粒子相比于带负电荷的粒子更容易被非吞噬细胞摄取;而吞噬细胞对纳米粒子的摄取几乎不受电荷影响。这证明吞噬细胞和非吞噬细胞具有不同的粒子摄取机制。Franca 等^[31]进一步的研究表明,非吞噬细胞主要通过网格蛋白摄取 30nm 尺寸的小尺寸纳米金,却不能够摄取直径 150 nm 的大尺寸粒子;而吞噬细胞则能通过清道夫受体吞噬大尺寸纳米粒子。这也解释了为何小尺寸纳米金相比于大尺寸粒子更容易逃避吞噬细胞介导的血液清除。然而对网格蛋白和清道夫受体途径的抑制却不能完全封闭细胞对纳米粒子的摄取,这表明了细胞中除了这两种机制外还存在其它摄取机制以待研究^[31]。更进一步的研究表明,大尺寸纳米粒子被吞噬细胞摄取后并不会马上被排泄出体外,而是会在肝、脾保留一段时间(最长可达 6 个月)^[32]。与之相反的是,主要从肾脏代谢的小尺寸纳米金更容易被清除出人体内,从而降低其在代谢器官积蓄导致的机体毒性^[33-34]。Zhang 等^[35]的研究发现,谷胱甘肽修饰使得金纳米簇更容易通过尿路排泄,减少其在肝脾积累,可在一定程度上缓解纳米金的不良反应。

尽管 PEG、谷胱甘肽等修饰方案能够在一定程度上降低纳米金对器官的伤害,但随着给药剂量的增加和疗程的延长,纳米金仍不可避免地会通过细胞吞噬逐步积蓄于肝脏和脾脏,从而引起机体非特异性的免疫应答。因此,对纳米金和免疫系统相互作用的研究也是目前人们关注的焦点之一。Ibrahim 等^[36]的研究表明,粒径为 5nm、20nm 和 50nm 的纳米金在

一定剂量下均能够上调小鼠肝、脾、肾中白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等免疫细胞因子的表达水平。而Yen等^[37]的研究同样也证实,纳米金能够诱导巨噬细胞分泌促炎症细胞因子,其诱导能力与粒子尺寸正相关。与之相反的是,其它一些研究^[38-39]表明,较大尺寸的纳米金能够抑制IL-1 β 和Toll样受体9(TLR9)介导的炎症反应,粒径在2~5nm范围内的纳米金相比于粒径为5~5nm的粒子更容易诱导免疫应答。Kim团队^[40]同样发现修饰了核酸药物的纳米金(直径13nm)能够在人外周血单核细胞中上调免疫相关基因的表达并诱导炎症反应和免疫应答,但这种现象并没有出现于人肾上皮细胞293T中。上述相互矛盾的现象表明,免疫原性并不一定与纳米粒子的尺寸相关,亟需全面的考察和验证。而Moyano等^[41]的研究证实,纳米金的疏水性相比其尺寸更有可能是导致体内炎症因子表达上调的主要原因,亲水基团的修饰能够有效降低纳米金的免疫原性。

这种免疫原性从传统意义上来说对于生物材料是一种缺陷,但却从另一个角度给了研究者新的启发:利用纳米金的免疫原性激活免疫系统杀伤肿瘤。Taratummarat等^[42]证实纳米金能够在小鼠体内诱导巨噬细胞分泌TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-10等多种炎症免疫因子。而Niikura等^[43]的研究表明纳米金的这种免疫激活作用与其尺寸和形状密切相关:粒径为40nm的球形和立方体纳米金在包被抗原后能够诱导树突状细胞分泌TNF- α 、IL-12、IL-6等免疫因子抑制癌细胞生长;而粒径为20nm的球形粒子和金纳米棒(36nm $\times$ 10nm)并没有体现这一作用。Dykman等^[44]的研究进一步证实了不同尺寸、形状的纳米金免疫调节功能的差别:球形金纳米粒(直径50nm)>球形金纳米粒(直径15nm)>中空金纳米壳>金纳米星>金纳米棒。这些纳米金材料在修饰了免疫激动剂CpG寡核苷酸后,展现了更为强大的激活免疫杀伤肿瘤的效果^[44]。

上述研究表明形状、尺寸、表面电荷、表面分子修饰的调整是提升纳米金免疫激活能力的有效手段。尽管这种非特异性的全身免疫效应会在体内导致炎症或其它不良反应,但我们可以通过RGD多肽以及EGFR抗体等肿瘤靶向分子的修饰,加强针对肿瘤组织的免疫应答,避免全身性的炎症反应,以有

效发挥纳米金在免疫疗法中的独特优势,达到高效低毒的抗肿瘤免疫疗效^[45]。

2 纳米金的光热效应诱导的免疫激活作用

纳米金具有独特的光学性质,其表面的自由电子可被特定波段的激光激发,导致表面等离子共振、电子集体震荡等物理学现象,从而将光能转化为热能等其他能量形式^[46]。尺寸、形状、结构等多种因素综合决定了纳米金不同的光敏特性。其中,中空金纳米壳、金纳米棒、金纳米星、硅核金纳米壳、金纳米笼等具有优秀的光热转换效率,使得它们常常被应用于肿瘤的光热疗法(PTT)和靶向光热释药^[22,47-49]。研究者们一般通过调节上述粒子的粒径、壳层厚度,增加这些粒子对于近红外波段激光能量的吸收和转化。该波段的激光相比于其它波段更容易穿透健康组织到达肿瘤部位,激发纳米金产热,通过多种信号途径诱导肿瘤细胞死亡^[22,50]。除此之外,光热疗法通常还能够诱导免疫系统对癌细胞的特异性杀伤。研究^[22,51-53]表明,在热处理中濒死的肿瘤细胞所释放的抗原和热休克蛋白能够被树突状细胞(DC细胞)和其他抗原呈递细胞捕获,随之激发免疫系统对癌细胞的免疫级联反应。这种反应不仅局限于激光照射部位,通常会向未照射肿瘤组织蔓延,有助于免疫系统识别并杀死癌组织附近的转移病灶。

Bear团队^[54]考察了光热疗法在黑色素瘤小鼠模型中的作用效果,并发现光热效应能够活化CD4⁺和CD8⁺T细胞,并导致全身炎症细胞因子IL-6、IL-1的大量产生以及免疫抑制性细胞的(MDSCs)的负反馈性增长。这种基于纳米金光热效应的免疫反应与嵌合抗原受体T细胞免疫疗法在此研究中表现出良好的协同效应^[54]。其他团队的研究也陆续证实光热效应的免疫调节作用能够改善抗癌药物的疗效。Lima等^[55]将免疫调节药物甲氨蝶呤偶联至金纳米微球,利用金纳米微球的光热效应诱导富集于癌组织中的免疫细胞释放多种细胞因子,联合甲氨蝶呤展现了高效的协同抗肿瘤作用。而Jin^[56]和Feng^[57]等团队则利用装载了阿霉素的金纳米壳、金纳米笼等光敏粒子,在激活抗肿瘤免疫应答的同时利用光热效应靶向释放细胞毒药物,起到了1+1>2的抗肿

瘤效果。

除此之外,光敏型纳米金还可以与多种免疫激动剂如 TNF- α 以及 TLR 受体激动剂(如 CpG 寡核苷酸)等偶联,利用其光热效应增强药物的免疫调节效果^[47,58-59]。这也表明纳米金除了自身拥有的免疫调节活性之外,还能够利用其易修饰性和靶向释药特性成为一种优秀的免疫佐剂递送载体。

3 基于纳米金—免疫佐剂复合物的肿瘤疫苗

纳米金是一种优秀的纳米载体,能够保护自身所携带的药物(如抗原、细胞因子、核酸等)在复杂的体内环境下免于被降解^[60-61]。其与免疫佐剂的复合物,能够通过多种途径激活 DC 细胞、T 细胞以及体液免疫^[62-63]。Mocan 等^[64]证实,装载了肿瘤表面抗原 MUC-1 黏蛋白的纳米金能够诱导巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-6、IL-10、IL-12 等多种细胞因子,活化小鼠免疫系统。

纳米金对免疫佐剂高效的靶向递送效率激发了人们将其用于癌症疫苗开发的决心。Cao 等^[65]的研究表明,表面修饰了主要组织相容性复合物 I 抗原(MHC Class-I)的纳米金在进入肿瘤组织后,能够将所携带抗原呈递于 T 细胞,激活其对癌细胞的免疫应答。与此相类似的是,Li^[66]和 Guasch^[45]课题组分别利用纳米金将肿瘤相关抗原 HPA 或 CD3 抗体递送至肿瘤组织,使其与 T 细胞表面受体相互作用,激活 T 细胞对癌细胞的识别和杀伤。除 T 细胞外,DC 细胞和巨噬细胞也是目前肿瘤免疫治疗研究的热点^[67]。据报道,Calderon-Gonzalez 等^[68]利用溶血素多肽—纳米金偶联复合物激活 DC 细胞,成功抑制了黑色素瘤的生长。而 Yue 等^[69]则使用纳米金载体将寡聚 DNA 序列 CpG 靶向至肿瘤部位,使其被富集于肿瘤组织的巨噬细胞所吞噬,在胞内溶酶体中释放 CpG 激活 Toll 样受体 TLR9,诱导巨噬细胞分泌 TNF- α 和 IL-6 等细胞因子杀灭癌细胞。Luo 等^[70]后续的研究表明,CpG-纳米金疗法与化疗和热疗的联用能够显著提升细胞毒药物和光热对小鼠肿瘤的杀伤作用。

不同于诱导免疫细胞释放炎症因子,直接将这些炎性细胞因子修饰至纳米金是另一种实现肿瘤免

疫治疗的有效手段。近期,Gasparri 等^[71]利用纳米金载体靶向递送重组白介素 IL-12,获得了良好的抑瘤效果。此外,美国 CytImmune Sciences 公司将重组人肿瘤坏死因子(rhTNF)- α 与巯基化 PEG 共修饰于纳米金(粒径 33nm)表面,成功构建了一种高效抗肿瘤药物,并将其命名为 CYT-6091(AurimuneTM)^[72-73]。研究表明,纳米金-TNF 复合物能够最大限度地逃避 RES 的摄取,并在给药后 4h 内迅速靶向至肿瘤组织^[72]。相比于游离态的 TNF,纳米金装载的 TNF 能够在更低的剂量下获得更好的抗肿瘤活性以及更低的不良反应。临床 I 期研究数据证实,3 倍于有效剂量的 CYT-6091 不会导致受试者出现明显不良反应,具有较高的临床安全性^[73]。目前该药物已进入 II 期临床试验阶段,有望成为首个应用于临床的纳米金肿瘤疫苗。

除了对免疫佐剂的改进以外,多价疫苗的构建是提升疫苗抗肿瘤效果的另一项主要手段。研究者们做出了一系列尝试提升偶联于纳米金表面的免疫佐剂效价,并取得了良好的成效。Wang 等^[74]的研究表明,同时装载重组流感血凝素抗原和鞭毛蛋白的纳米金能够诱导 γ 干扰素的分泌以及 CD4⁺ T 细胞的增殖,进而激活 CD8⁺ T 细胞,获得比单一抗原修饰更好的免疫调节效应。Zhou 团队^[62]将 CpG 寡核苷酸和 OVA 多肽抗原共修饰于纳米金,上调肿瘤组织中辅助性 T 细胞因子(Th1 cytokines)和趋化因子受体 7(chemokine receptor 7)的分泌,激活 DC 细胞和 CD8⁺ T 细胞介导的免疫应答,获得相比单一佐剂更强的免疫治疗效果。与此相类似的是,Liang 等^[75]将装载了 DC 细胞抗体 aCD11c 和黑色素瘤抗原肽 TRP2 的金纳米笼修饰于脂质体表面,通过激活 DC 细胞和 T 细胞达到增强癌细胞杀伤的目的。

4 纳米金材料用于过继性免疫细胞抗癌治疗的研究

过继性免疫细胞疗法(adoptive cellular immunotherapy,ACI)是临床上实现高效肿瘤免疫治疗的主要手段之一。依据靶免疫细胞和所采用技术的差异,过继性免疫细胞疗法主要分为以下几类:淋巴因子激活的杀伤细胞技术(LAK)、DC、细胞因子诱导的杀伤细胞技术(CIK)、DC-CIK、T 细胞受体嵌合

抗原受体T细胞技术(CAR-T)、嵌合型T细胞技术(TCR-T)、自然杀伤细胞技术(NK)、嵌合抗原受体NK细胞技术(CAR-NK)、肿瘤浸润淋巴细胞技术(TILs)^[76]。受益于良好的抗肿瘤效果和日趋成熟的技术手段,CAR-T、CAR-NK和TCR-T从中脱颖而出,成为了当前过继性免疫细胞治疗研究的主流^[8-9]。目前,已有两个基于CAR-T技术的抗肿瘤新药Kymriah和Yescarta经FDA批准上市^[11-12]。这些极具临床价值的成果吸引了纳米医学领域的研究者尝试将纳米技术与过继性免疫细胞疗法相结合,进一步提升过继性免疫细胞疗法的免疫激活效应^[23]。

目前,纳米金对过继性免疫细胞疗法的贡献主要集中在CAR-T研究领域。Bhatnagar等^[77]将编码CD19嵌合抗原的质粒装载于纳米金后,电转入T淋巴细胞,并将细胞输入至荷瘤小鼠。结果表明,转染后T细胞能够过表达嵌合抗原受体,并依赖自身的肿瘤趋向性聚集至癌组织,发挥出远强于野生型T细胞的抗癌效果。而Bear等^[54]则首次将纳米金介导的光热治疗与CAR-T疗法联合应用于抗肿瘤研究,并发现了光热效应对CAR-T疗效的增强作用。Fishler团队^[78]则通过考察过表达TNP特异性受体的工程化T细胞与TNP-纳米金复合物的相互作用,尝试开发一种在体外模拟T细胞表面抗原与肿瘤标志物相互作用的研究体系。与上述研究不同,Li课题组^[79]作出了一个新颖的尝试:将标记了放射性同位素⁶⁴Cu的纳米金装载于T细胞内部,并将其给药至荷瘤小鼠,利用同位素示踪法考察外源T细胞在体内的行进路线、在肿瘤部位的细胞密度。该方法有助于对基因工程改造后T细胞的肿瘤靶向、作用途径、作用效果、代谢途径等参数和性能进行实时监控和全面评估。

纳米金材料的易修饰性、易改造性、高递送效率及其对表面修饰分子高效的保护作用使其高度适用于质粒DNA等CAR-T疗法相关功能单位的运载^[80-81]。其与CAR-T技术的交叉融合也将为肿瘤免疫治疗的研究发展给以新的推动。

5 基于纳米金材料的肿瘤免疫检查点抑制疗法

PD-1、CTLA-4、Tim-3和LAG-3等分子是肿瘤

相关的主要免疫检查点^[82]。它们表达于免疫细胞,能够与肿瘤微环境内癌细胞或免疫调节细胞中表达的相应配体相互作用,抑制细胞免疫应答,造成癌细胞的免疫逃逸。免疫检查点抑制剂是除了过继性免疫细胞疗法之外另一类已进入临床的主流免疫抗癌手段^[10]。该类药物能够阻断免疫检查点与其配体的相互作用,恢复免疫细胞对癌细胞的识别和杀伤。

程序性死亡受体1(PD-1)是目前临床抗癌研究中最受关注的免疫检查点^[83-85]。其通常表达于T细胞并与癌细胞或免疫抑制细胞表面过表达的PD-L1受体相互作用,抑制T细胞对肿瘤细胞的免疫应答,并诱导T细胞的凋亡。目前,已获准用于临床的PD-1/PD-L1疗法主要通过使用Nivolumab、Pembrolizumab、Cemiplimab、Atezolizumab、Durvalumab和Avelumab等抗体药物,竞争性抑制PD-1与PD-L1的结合,阻止癌细胞的免疫逃逸,有效提升了出现化疗、靶向药物耐受的癌症患者的生存期和生存质量^[13]。尽管具有无数的优点,但这些抗体药物仍然具有使用成本较高、临床有效率(约为20%)受个体差异影响较大、所需治疗剂量较大、引起免疫副反应的概率较高、有产生耐药性的案例等多种不足^[86]。为了克服这些缺点,Luo等^[86]研究者利用了多肽类药物分子量小、无免疫原性、导致不良反应概率低的优势,将与PD-1受体具有高亲和力的多肽修饰至中空金纳米壳用于肿瘤免疫治疗。结果表明,金纳米壳可将PD-1亲和性多肽靶向运送至肿瘤部位,并通过近红外激光诱导的光热效应将多肽释放于肿瘤组织,于小鼠体内获得了不逊于PD-1/PD-L1抗体的治疗效果。其显著低于同类抗体药物的不良反应则凸显了纳米金—多肽药物在此疗法中的重要优势。该课题组后续的研究也进一步证实PD-1特异性多肽与光敏型纳米金的联合不仅能够杀死肿瘤细胞,还能够抑制肿瘤的转移^[87],进一步凸显了纳米金—PD-1/PD-L1在肿瘤免疫治疗中的应用价值。

除此之外,利用纳米金靶向递送PD-1/PD-L1抗体或siRNA也是另一条抑制PD-1肿瘤免疫检查点的有效途径。Meir团队^[88]将PD-L1抗体修饰至纳米金表面,利用纳米金的高效的靶向释药能力有效提升了肿瘤部位的抗体药物浓度。Liu等^[89]则将PD-L1的siRNA装载于纳米金载体以敲低肿瘤细胞中PD-L1表达,同样获得了良好的抑瘤效果。目前,还有多

个课题组尝试了利用纳米金共递送 PD-1/PD-L1 抑制剂与其它抗癌药物,以期发掘基于 PD-1/PD-L1 靶点的联合用药策略。结果表明:相比于单独用药,纳米金介导的 PD-L1 抗体和阿霉素的联合用药不仅能够增强对癌细胞凋亡的诱导作用,还能够通过抑制癌细胞自噬来抑制肿瘤干细胞介导的血管生成,进而抑制肿瘤的复发^[90-91]。这也将为纳米金在肿瘤免疫治疗中的应用研究开启新的篇章。

6 总结与展望

纳米金的众多优势使其可有效应用于恶性肿瘤免疫治疗。其中,易于积聚于肿瘤部位的特性和光热性能对于纳米金在该领域的应用尤其重要,使其能够高效靶向递送 DNA、多肽、细胞因子、免疫佐剂等多种免疫治疗相关元件^[22,47]。其与当前肿瘤免疫疗法的热门领域(如 CAR-T、PD-1/PD-L1 等)的结合在研究中获得了优秀的疗效,展现了巨大的潜在临床应用价值^[77-81,86-91]。研究证实,纳米金对免疫调节分子的靶向递送不仅能够清除杀灭的原发肿瘤组织,还能够促进全身免疫反应以治疗转移病灶,并预防肿瘤复发^[53]。Jackaman^[92]和 Fransen^[93]等多个研究团队发现纳米金装载的细胞因子 IL-2 和 CD40 激动剂/抗体能够通过细胞间的传递和扩散效应,向远端转移灶传播,诱导肿瘤特异性的免疫反应。

但是纳米金在其应用上也存在某些缺点^[94]。首先,纳米金无法在生物体内降解,容易在长期应用中积聚于体内造成一定的毒副作用。其二,纳米金光热效应的应用往往受制于近红外激光的机体穿透深度,其发热强度会随着激光穿深的增加而下降,限制纳米粒子的定向释药效果和免疫调节活性。更重要的是,纳米金表面修饰的改变会导致其一系列药代动力学和组织相容性参数的改变^[95]。因此,每次对金粒子表面基团、配体的改造都需要重新评价其药理、毒理效应,增加了相关药物研发工作的工程量和周期。但瑕不掩瑜,纳米金的这些不足并不能够打消人们利用其提升肿瘤免疫治疗效果的工作热情。未来将会有一系列的工作对纳米金的各个特性加以改造以克服上述缺点。

综上所述,纳米金是一类潜力巨大、前景可观的抗肿瘤载体。其在体内的生物分布表征已被研究透

彻,但其在免疫疗法中的巨大价值在近年的研究中才逐渐显现。纳米金复合物作为抗肿瘤免疫激动剂的功效已在多项研究中被证实。未来的研究工作将着重于将纳米金介导的免疫疗法与其他疗法相结合,以诱导全身性的免疫激活为出发点,提高免疫细胞对残留微小转移病灶和低分化、未分化、休眠状态肿瘤细胞(如肿瘤干细胞)的敏感性,帮助人类解决极具困扰性的两大肿瘤治疗难题,即治疗转移病灶和抑制肿瘤复发。

参考文献:

- [1] Dermani FK, Samadi P, Rahmani G, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: potential target for cancer therapy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1313-1325.
- [2] Ahmad N, Ammar A, Storr SJ, et al. IL-6 and IL-10 are associated with good prognosis in early stage invasive breast cancer patients [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(4): 537-549.
- [3] Smith LK, Boukhaled GM, Condotta SA, et al. Interleukin-10 directly inhibits CD8 (+) T cell function by enhancing n-glycan branching to decrease antigen sensitivity [J]. *Immunity*, 2018, 48(2): 299-312.e5.
- [4] Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF-beta and the TGF-beta family: context-dependent roles in cell and tissue physiology [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(5): a021873.
- [5] Djiadeu P, Kotra LP, Sweezey N, et al. Surfactant protein D delays Fas- and trail-mediated extrinsic pathway of apoptosis in T cells [J]. *Apoptosis*, 2017, 22(5): 730-740.
- [6] Li F, Kitajima S, Kohno S, et al. Retinoblastoma inactivation induces a protumoral microenvironment via enhanced CCL2 secretion [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(15): 3903-3915.
- [7] Yang Y. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3335-3337.
- [8] Liu D. CAR-T "the living drugs", immune checkpoint inhibitors, and precision medicine: a new era of cancer therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 113.
- [9] Schuldt NJ, Binstadt BA. Dual TCR T cells: identity crisis or multitaskers? [J]. *J Immunol*, 2019, 202(3): 637-644.
- [10] Darvin P, Toor SM, Sasidharan Nair V, et al. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(12): 1-11.
- [11] Ali S, Kjeeken R, Niederlaender C, et al. The European medicines agency review of kymriah (tisagenlecleucel) for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Oncologist*, 2020, 25(2): e321-e327.
- [12] Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory

- large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(1): 31–42.
- [13] Lee HT, Lee SH, Heo YS. Molecular interactions of antibody drugs targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in immuno-oncology [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1190.
 - [14] Jin Z, Gao S, Cui X, et al. Adjuvants and delivery systems based on polymeric nanoparticles for mucosal vaccines [J]. *Int J Pharm*, 2019, 572: 118731.
 - [15] Li S, Yang Y, Lin X, et al. Biocompatible cationic solid lipid nanoparticles as adjuvants effectively improve humoral and T cell immune response of foot and mouth disease vaccines [J]. *Vaccine*, 2020, 38(11): 2478–2486.
 - [16] Yan S, Xu K, Li L, et al. The pathways for layered double hydroxide nanoparticles to enhance antigen (cross)-presentation on immune cells as adjuvants for protein vaccines [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1060.
 - [17] Riley RS, June CH, Langer R, et al. Delivery technologies for cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(3): 175–196.
 - [18] Surendran SP, Moon MJ, Park R, et al. Bioactive nanoparticles for cancer immunotherapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3877.
 - [19] Salazar-Gonzalez JA, Gonzalez-Ortega O, Rosales-Mendoza S. Gold nanoparticles and vaccine development [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015, 14(9): 1197–1211.
 - [20] Mioc A, Mioc M, Ghiulai R, et al. Gold nanoparticles as targeted delivery systems and theranostic agents in cancer therapy [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(35): 6493–6513.
 - [21] Lopez-Campos F, Candini D, Carrasco E, et al. Nanoparticles applied to cancer immunoregulation [J]. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2019, 24(1): 47–55.
 - [22] Liu Y, Crawford BM, Vo-Dinh T. Gold nanoparticles-mediated photothermal therapy and immunotherapy [J]. *Immunotherapy*, 2018, 10(13): 1175–1188.
 - [23] Savitsky K, Yu X. Combined strategies for tumor immunotherapy with nanoparticles [J]. *Clin Transl Oncol*, 2019, 21(11): 1441–1449.
 - [24] Talamini L, Violatto MB, Cai Q, et al. Influence of size and shape on the anatomical distribution of endotoxin-free gold nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(6): 5519–5529.
 - [25] Lopez-Chaves C, Soto-Alvaredo J, Montes-Bayon M, et al. Gold nanoparticles: distribution, bioaccumulation and toxicity. In vitro and in vivo studies [J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(1): 1–12.
 - [26] Elci SG, Jiang Y, Yan B, et al. Surface charge controls the suborgan biodistributions of gold nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2016, 10(5): 5536–5542.
 - [27] Takeuchi I, Nobata S, Oiri N, et al. Biodistribution and excretion of colloidal gold nanoparticles after intravenous injection: effects of particle size [J]. *Biomed Mater Eng*, 2017, 28(3): 315–323.
 - [28] Chien CC, Cheng CC, Chen HH, et al. X-ray microscopy and tomography detect the accumulation of bare and PEG-coated gold nanoparticles in normal and tumor mouse tissues [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404(5): 1287–1296.
 - [29] Takeuchi I, Onaka H, Makino K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous injection: effects of pegylation at the same particle size [J]. *Biomed Mater Eng*, 2018, 29(2): 205–215.
 - [30] Liu X, Huang N, Li H, et al. Surface and size effects on cell interaction of gold nanoparticles with both phagocytic and nonphagocytic cells [J]. *Langmuir*, 2013, 29(29): 9138–9148.
 - [31] Franca A, Aggarwal P, Barsov EV, et al. Macrophage scavenger receptor a mediates the uptake of gold colloids by macrophages in vitro [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2011, 6(7): 1175–1188.
 - [32] Sadauskas E, Danscher G, Stoltenberg M, et al. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver [J]. *Nanomedicine*, 2009, 5(2): 162–169.
 - [33] Hirn S, Semmler-Behnke M, Schleh C, et al. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 77(3): 407–416.
 - [34] Balasubramanian SK, Jittiwat J, Manikandan J, et al. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(8): 2034–2042.
 - [35] Zhang XD, Wu D, Shen X, et al. In vivo renal clearance, biodistribution, toxicity of gold nanoclusters [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(18): 4628–4638.
 - [36] Ibrahim KE, Bakhiet AO, Awadalla ME, et al. A priming dose protects against gold nanoparticles-induced proinflammatory cytokines mRNA expression in mice [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2018, 13(3): 313–323.
 - [37] Yen HJ, Hsu SH, Tsai CL. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes [J]. *Small*, 2009, 5(13): 1553–1561.
 - [38] Sumbayev VV, Yasinska IM, Garcia CP, et al. Gold nanoparticles downregulate interleukin-1 β -induced proinflammatory responses [J]. *Small*, 2013, 9(3): 472–477.
 - [39] Tsai CY, Lu SL, Hu CW, et al. Size-dependent attenuation of TLR9 signaling by gold nanoparticles in macrophages [J]. *J Immunol*, 2012, 188(1): 68–76.
 - [40] Kim EY, Schulz R, Swantek P, et al. Gold nanoparticle-mediated gene delivery induces widespread changes in the expression of innate immunity genes [J]. *Gene Ther*, 2012, 19(3): 347–353.
 - [41] Moyano DF, Goldsmith M, Solfiell DJ, et al. Nanoparticle hydrophobicity dictates immune response [J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(9): 3965–3967.
 - [42] Taratummarat S, Sangphech N, Vu CTB, et al. Gold nanoparticles attenuates bacterial sepsis in cecal ligation

- and puncture mouse model through the induction of M2 macrophage polarization[J]. *BMC Microbiol*, 2018, 18(1):85.
- [43] 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 [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(5):3926–3938.
- [44] Dykman LA, Staroverov SA, Fomin AS, et al. Gold nanoparticles as an adjuvant: influence of size, shape, and technique of combination with CPG on antibody production[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 54:163–168.
- [45] Guasch J, Muth CA, Diemer J, et al. Integrin-assisted T-cell activation on nanostructured hydrogels [J]. *Nano Lett*, 2017, 17(10):6110–6116.
- [46] Yang Y, Ren L, Wang H. Strategies in the design of gold nanoparticles for intracellular targeting: opportunities and challenges[J]. *Ther Deliv*, 2017, 8(10):879–897.
- [47] Riley RS, Day ES. Gold nanoparticle-mediated photothermal therapy: applications and opportunities for multimodal cancer treatment [J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, 9(4):10.
- [48] Silva CO, Rijo P, Molpeceres J, et al. Bioproduction of gold nanoparticles for photothermal therapy [J]. *Ther Deliv*, 2016, 7(5):287–304.
- [49] Grosjes T, Barchiesi D. Gold nanoparticles as a photothermal agent in cancer therapy: the thermal ablation characteristic length[J]. *Molecules*, 2018, 23(6):1316.
- [50] Kennedy LC, Bickford LR, Lewinski NA, et al. A new era for cancer treatment: gold-nanoparticle-mediated thermal therapies[J]. *Small*, 2011, 7(2):169–183.
- [51] Li W, Yang J, Luo L, et al. Targeting photodynamic and photothermal therapy to the endoplasmic reticulum enhances immunogenic cancer cell death [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):3349.
- [52] Chen WH, Luo GF, Lei Q, et al. Overcoming the heat endurance of tumor cells by interfering with the anaerobic glycolysis metabolism for improved photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(2):1419–1431.
- [53] Zhang D, Wu T, Qin X, et al. Intracellularly generated immunological gold nanoparticles for combinatorial photothermal therapy and immunotherapy against tumor [J]. *Nano Lett*, 2019, 19(9):6635–6646.
- [54] Bear AS, Kennedy LC, Young JK, et al. Elimination of metastatic melanoma using gold nanoshell-enabled photothermal therapy and adoptive T cell transfer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):e69073.
- [55] Costa Lima SA, Reis S. Temperature-responsive polymeric nanospheres containing methotrexate and gold nanoparticles: a multi-drug system for theranostic in rheumatoid arthritis[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 133:378–387.
- [56] Jin R, Yang J, Zhao D, et al. Hollow gold nanoshells-incorporated injectable genetically engineered hydrogel for sustained chemo-photothermal therapy of tumor[J]. *J Nanobiotechnol*, 2019, 17(1):99.
- [57] Feng Y, Cheng Y, Chang Y, et al. Time-staggered delivery of erlotinib and doxorubicin by gold nanocages with two smart polymers for reprogrammable release and synergistic with photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2019, 217:119327.
- [58] Zhang J, Zhao T, Han F, et al. Photothermal and gene therapy combined with immunotherapy to gastric cancer by the gold nanoshell-based system [J]. *J Nanobiotechnol*, 2019, 17(1):80.
- [59] Shao J, Griffin RJ, Galanzha EI, et al. Photothermal nanodrugs: potential of TNF-gold nanospheres for cancer theranostics[J]. *Sci Rep*, 2013(3):1293.
- [60] Connor DM, Broome AM. Gold nanoparticles for the delivery of cancer therapeutics[J]. *Adv Cancer Res*, 2018(139):163–184.
- [61] Jahangirian H, Kalantari K, Izadiyan Z, et al. A review of small molecules and drug delivery applications using gold and iron nanoparticles [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14:1633–1657.
- [62] 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[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(2):2678–2692.
- [63] Carabineiro SAC. Applications of gold nanoparticles in nanomedicine: recent advances in vaccines[J]. *Molecules*, 2017, 22(5):857.
- [64] Mocan T, Matea C, Tabaran F, et al. In vitro administration of gold nanoparticles functionalized with MUC-1 protein fragment generates anticancer vaccine response via macrophage activation and polarization mechanism [J]. *J Cancer*, 2015, 6(6):583–592.
- [65] Cao F, Yan M, Liu Y, et al. Photothermally controlled MHC class I restricted CD8(+) T-cell responses elicited by hyaluronic acid decorated gold nanoparticles as a vaccine for cancer immunotherapy [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(10):e1701439.
- [66] Li N, Jie MM, Yang M, et al. Magnetic gold nanoparticle-labeled heparanase monoclonal antibody and its subsequent application for tumor magnetic resonance imaging [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2018, 13(1):106.
- [67] Rojas-Sepulveda D, Tittarelli A, Gleisner MA, et al. Tumor lysate-based vaccines: on the road to immunotherapy for gallbladder cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(12):1897–1910.
- [68] Calderon-Gonzalez R, Teran-Navarro H, Garcia I, et al. Gold glyconanoparticles coupled to listeriolysin O 91–99 peptide serve as adjuvant therapy against melanoma [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(30):10721–10732.

- [69] Yue J, Pallares RM, Cole LE, et al. Smaller CPG-conjugated gold nanoconstructs achieve higher targeting specificity of immune activation [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(26):21920–21926.
- [70] Luo J, Cheng Y, He XY, et al. Self-assembled CPG oligodeoxynucleotides conjugated hollow gold nanospheres to enhance cancer-associated immunostimulation [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 175:248–255.
- [71] Gasparri AM, Sacchi A, Basso V, et al. Boosting interleukin-12 antitumor activity and synergism with immunotherapy by targeted delivery with isodgr-tagged nanogold[J]. *Small*, 2019, 15(45):e1903462.
- [72] Nilubol N, Yuan Z, Paciotti GF, et al. Novel dual-action targeted nanomedicine in mice with metastatic thyroid cancer and pancreatic neuroendocrine tumors [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(9):1019–1029.
- [73] Libutti SK, Paciotti GF, Byrnes AA, et al. Phase I and pharmacokinetic studies of cyt-6091, a novel pegylated colloidal gold-rh nanomedicine [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(24):6139–6149.
- [74] Wang C, Zhu W, Luo Y, et al. Gold nanoparticles conjugating recombinant influenza hemagglutinin trimers and flagellin enhanced mucosal cellular immunity [J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(4):1349–1360.
- [75] Liang R, Xie J, Li J, et al. Liposomes-coated gold nanocages with antigens and adjuvants targeted delivery to dendritic cells for enhancing antitumor immune response[J]. *Biomaterials*, 2017(149):41–50.
- [76] Rohaan MW, Wilgenhof S, Haanen J. Adoptive cellular therapies; the current landscape [J]. *Virchows Arch*, 2019, 474(4):449–461.
- [77] Bhatnagar P, Li Z, Choi Y, et al. Imaging of genetically engineered T cells by pet using gold nanoparticles complexed to copper-64 [J]. *Integr Biol (Camb)*, 2013, 5(1):231–238.
- [78] Fishler R, Artzy-Schnirman A, Peer E, et al. Mixed alkanethiol monolayers on submicrometric gold patterns: a controlled platform for studying cell-ligand interactions[J]. *Nano Lett*, 2012, 12(9):4992–4996.
- [79] Li H, Diaz L, Lee D, et al. In vivo imaging of T cells loaded with gold nanoparticles: a pilot study [J]. *Radiol Med*, 2014, 119(4):269–276.
- [80] Lee JH, Choi JW. Application of plasmonic gold nanoparticle for drug delivery system [J]. *Curr Drug Targets*, 2018, 19(3):271–278.
- [81] Chan TG, Morse SV, Copping MJ, et al. Targeted delivery of DNA-au nanoparticles across the blood-brain barrier using focused ultrasound[J]. *Chem Med Chem*, 2018, 13(13):1311–1314.
- [82] Qin S, Xu L, Yi M, et al. Novel immune checkpoint targets; moving beyond PD-1 and CTLA-4 [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):155.
- [83] Gong J, Chehrizi-Raffle A, Reddi S, et al. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy; a comprehensive review of registration trials and future considerations [J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1):8.
- [84] Zhang J, Ji Z, Caushi JX, et al. Compartmental analysis of T-cell clonal dynamics as a function of pathologic response to neoadjuvant PD-1 blockade in resectable non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(6):1327–1337.
- [85] Ferris RL, Licitra L. PD-1 immunotherapy for recurrent or metastatic hnscc[J]. *Lancet*, 2019, 394(10212):1882–1884.
- [86] Luo L, Yang J, Zhu C, et al. Sustained release of anti-PD-1 peptide for perdurable immunotherapy together with photothermal ablation against primary and distant tumors[J]. *J Control Release*, 2018, 278:87–99.
- [87] Luo L, Zhu C, Yin H, et al. Laser immunotherapy in combination with perdurable PD-1 blocking for the treatment of metastatic tumors[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(8):7647–7662.
- [88] Meir R, Shamalov K, Sadan T, et al. Fast image-guided stratification using anti-programmed death ligand 1 gold nanoparticles for cancer immunotherapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11):11127–11134.
- [89] Liu B, Cao W, Qiao G, et al. Effects of gold nanoprism-assisted human PD-L1 siRNA on both gene down-regulation and photothermal therapy on lung cancer [J]. *Acta Biomater*, 2019(99):307–319.
- [90] Emami F, Banstola A, Vatanara A, et al. Doxorubicin and anti-PD-L1 antibody conjugated gold nanoparticles for colorectal cancer photochemotherapy [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(3):1184–1199.
- [91] Ruan S, Xie R, Qin L, et al. Aggregable nanoparticles-enabled chemotherapy and autophagy inhibition combined with anti-PD-L1 antibody for improved glioma treatment[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(11):8318–8332.
- [92] Jackaman C, Lew AM, Zhan Y, et al. Deliberately provoking local inflammation drives tumors to become their own protective vaccine site [J]. *Int Immunol*, 2008, 20 (11):1467–1479.
- [93] Fransen MF, Sluijter M, Morreau H, et al. Local activation of CD8 T cells and systemic tumor eradication without toxicity via slow release and local delivery of agonistic CD40 antibody[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2270–2280.
- [94] Leopold LF, Rugina D, Oprea I, et al. Warfarin-capped gold nanoparticles: synthesis, cytotoxicity, and cellular uptake[J]. *Molecules*, 2019, 24(22):4145.
- [95] Weintraub K. Biomedicine; the new gold standard [J]. *Nature*, 2013, 495(7440):S14–S16.