

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.05.0634

## 纳米靶向化学免疫疗法的研究进展

顾芬芬, 胡楚玲, 宫春爱, 夏清明, 高申\*

第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433

**[摘要]** 化疗是肿瘤治疗最常见的手段之一, 副作用强且易产生耐药性。纳米技术能够靶向输送有效剂量的化疗药到达肿瘤细胞, 而不损伤正常细胞, 同时克服肿瘤耐药。肿瘤免疫治疗具有其独特的低毒副作用、高效、预防转移的优势。基于肿瘤疫苗或抗体等免疫刺激因子的免疫疗法将有望在消灭肿瘤的同时预防肿瘤的转移。采用纳米技术能够保护抗原、刺激因子等不被降解, 同时靶向作用于肿瘤细胞、肿瘤间质、免疫细胞, 从而提高疗效。新型的肿瘤化学免疫制剂引起了广泛的关注, 有望在有效地杀死肿瘤的同时刺激肿瘤免疫抗原的暴露以激活免疫系统。本文综述了肿瘤化疗、免疫治疗联合应用的潜能, 以及展望纳米技术用于靶向运输化学免疫制剂的未来希望。

**[关键词]** 纳米粒子; 癌症疫苗; 免疫疗法; 免疫原性化疗

**[中图分类号]** R 730.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)05-0634-05

### Advance in nano targeted chemoimmunotherapy

GU Fen-fen, HU Chu-ling, GONG Chun-ai, XIA Qing-ming, GAO Shen\*

Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Chemotherapy is one of the most common means of cancer treatment, and it has a lot of adverse effects and is easy to produce drug resistance. Nano-technology can be used to deliver effective dose of chemotherapeutic agents to the tumor cells and overcome tumor drug resistance, and it has no damage to normal cells. Tumor immunotherapy has the advantages of low toxicity, high effectiveness and preventing metastasis. Immunotherapy based on tumor vaccine, antibody or other immune-stimulating factor will be expected to destroy tumor and prevent tumor metastasis. Nano-technology can protect antigen and cytokine from degradation and target tumor cells, tumor interstitial or immune cells to improve the outcome. New chemical immune agents may effectively kill tumor cells as well as stimulate tumor immune antigen exposure to activate the immune system. Here, we reviewed the potential of combined application of tumor chemotherapy and immunotherapy and discussed the future of nano-technology for the targeted delivery of chemical immune agents.

**[Key words]** nanoparticles; cancer vaccines; immunotherapy; immunogenic chemotherapy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(5): 634-638]

化疗、手术治疗、放疗是目前肿瘤治疗的主要手段, 然而这些方法常常无法治愈肿瘤且易出现肿瘤的转移和复发。应用肿瘤化疗杀死肿瘤细胞, 同时联合应用肿瘤免疫治疗防止转移及复发, 将是提高肿瘤患者治愈率的新希望。事实上, 某些化疗能够减少肿瘤部位的调控性、免疫应答性 T 细胞数量<sup>[1]</sup>, 而肿瘤部位的淋巴浸润对肿瘤患者的预后及治愈结果有很大的影响, 且淋巴浸润的程度能够揭示化疗后的特异性免疫应答的特征<sup>[2]</sup>。结合肿瘤各

疗法的优缺点, 化疗和免疫治疗的联合应用将是优于任何一种单独疗法的新型肿瘤治疗方式。尽管高剂量的细胞毒性化疗药物具有免疫抑制作用, 并且会引起淋巴细胞的减少, 但是适当剂量及疗程的化疗也能够激发免疫系统对肿瘤细胞的应答作用<sup>[3]</sup>。近年来, 已有很多研究证明, 一些特定的肿瘤化疗药物在杀死肿瘤细胞的同时, 其死亡的肿瘤细胞也能够增加一些特定的免疫基因的表达, 或者当给予低剂量的化疗药时可直接激活免疫细胞<sup>[4-6]</sup>, 如 Lee

**[收稿日期]** 2016-10-13 **[接受日期]** 2017-01-04

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81172309, 81372762). Supported by National Natural Science Foundation of China (81172309, 81372762).

**[作者简介]** 顾芬芬, 硕士生, 主管药师. E-mail: fenfen09@163.com

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81873715, E-mail: ggss99@126.com

等<sup>[6]</sup>用低剂量的阿霉素与免疫激活剂 CPG 联合应用时,能够与肿瘤免疫治疗发挥协同作用。纳米技术因具有良好的靶向性、药效及较低毒性等优势引起了广泛关注,有些纳米材料的理化性质还具有特殊的生物学效应,如光学治疗、热学治疗以及分子成像等<sup>[7-8]</sup>。

在本文中,我们总结了肿瘤免疫微环境、肿瘤免疫治疗的难点,以及纳米技术如何改善当代的治疗以及将会怎样影响未来的肿瘤治疗,还讨论了一些常见化疗药的免疫原性及未来利用纳米技术实现化疗及免疫治疗联合应用的前景。

## 1 肿瘤免疫微环境

钝化免疫原性或逃逸免疫监视是肿瘤发生、发展的主要原因,近年来免疫逃逸的多种途径也得到了进一步的揭示<sup>[9]</sup>。一种假说认为,在肿瘤形成之前免疫细胞已清除了具有免疫原性的肿瘤细胞,然而有些肿瘤细胞通过免疫编辑作用减弱了自身免疫原性存活下来<sup>[10]</sup>。另外一种可能是,在肿瘤细胞自身免疫编辑的同时,其自身或肿瘤基质细胞高表达阴性共刺激分子,如程序性死亡配体 1 和 2 (programmed death ligand 1/ programmed death ligand 2, PD-L1/PD-L2),或者产生高浓度的免疫抑制细胞因子如转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )、白介素 10 (interleukin 10, IL-10) 等,使得 CD8<sup>+</sup> T 细胞以及自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞不能活化<sup>[11-12]</sup>。

另外,在肿瘤部位也发现了具有免疫抑制特性的特殊细胞如调节性 T 细胞 (regulatory T cell, T<sub>reg</sub>)、抑制性巨噬细胞、具有 M2 型的巨噬细胞、骨髓衍生的抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC)<sup>[13-14]</sup>。T<sub>reg</sub> 是导致肿瘤免疫抑制性微环境的重要因素,能产生高浓度的 TGF- $\beta$  及 IL-10 等细胞因子,从而抑制 T 淋巴细胞及抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 的抗肿瘤效应<sup>[15]</sup>。T<sub>reg</sub> 亦高表达外核苷酸酶,从而减少由濒临凋亡的肿瘤细胞产生的细胞外 ATP,由此而降低其免疫原性及炎症反应<sup>[16]</sup>。此外, T<sub>reg</sub> 通过分泌小囊泡靶向特定的辅助性 T 细胞及富含细胞凋亡、抗增生基因的效应细胞,从而抑制免疫反应<sup>[17]</sup>。抑制性巨噬细胞通过诱导氧化应激以及分泌免疫抑制性细胞因子,从而在肿瘤部位抑制免疫功能。M2 型的巨噬细胞 (可替代的、活化的巨噬细胞) 是肿瘤部位另一种常见的变异型巨噬细胞,此种巨噬细胞通过免疫抑制

参与组织修复,产生多种抗炎因子和调节素,如 IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-1 受体拮抗剂 (IL-1ra)、IL-2ra、精氨酸酶 1 等<sup>[18]</sup>。MDSC 由抑制性的非同质性总体、未成熟的树突状细胞 (dendritic cell, DC)、粒细胞、早期骨髓样粒细胞组成,能够通过表达精氨酸酶 1 和诱导型一氧化氮合酶有效地阻断效应 T 细胞对肿瘤细胞的免疫应答<sup>[19]</sup>。大量的研究证实,MDSC 能够募集并且表达肿瘤特异性 T<sub>reg</sub>, 并有助于 M2 型巨噬细胞分化<sup>[20-21]</sup>。

除了逃逸免疫杀伤而存活下来的肿瘤细胞外,凋亡的肿瘤细胞亦有助于肿瘤免疫抑制性微环境的产生。Sekar 等<sup>[22]</sup>研究表明,吞噬了凋亡肿瘤细胞的 DC 阻碍了 DC 激活杀伤性 T 细胞的作用,这主要是由于凋亡的肿瘤细胞会释放鞘氨醇-1-磷酸盐,而后者诱导 DC 产生的 IL-27 有助于免疫抑制性 T 细胞的产生,从而利于肿瘤的形成。最近对肿瘤形成免疫抑制性微环境过程的研究补充了之前的假说:肿瘤杀伤性免疫确实存在,但是其阴性的反馈应答使其过早地终止了<sup>[23]</sup>。肿瘤准确的病因未知,但是可以确定是免疫系统的损伤导致机体不能有效阻止肿瘤的形成,促进了肿瘤的发生。

## 2 纳米-肿瘤靶向化疗

近年来纳米药物的发展大大地提高了抗肿瘤药物的疗效,同时降低了肿瘤药物系统性毒性<sup>[7]</sup>。在抗肿瘤药物的纳米运载过程中,纳米制剂可通过主动和被动两种形式实现肿瘤的靶向治疗作用。被动靶向主要通过高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR), 即肿瘤血管的高缝隙、易渗透性导致纳米级的药物易于渗漏和积聚于肿瘤部位。而纳米粒在肿瘤部位的长时间蓄积使得其更易被肿瘤细胞通过胞饮作用摄取,或者使其在肿瘤细胞或肿瘤环境中降解进而释放其负载的药物<sup>[24]</sup>。主动靶向是指通过共价结合的方式在纳米制剂的表面修饰特定靶头,从而提高纳米制剂的靶向性及细胞摄取率。主动靶向的靶头大多数为配体或单克隆抗体的受体、肿瘤细胞过表达的结素、选择素等,而这些靶头的受体在肿瘤部位特异性高表达大大提高了纳米制剂的靶向性。Kirpotin 等<sup>[25]</sup>研究发现,连接有 HER2 单克隆抗体靶头的脂质体在肿瘤部位的蓄积浓度是不连接靶头的脂质体蓄积浓度的 6 倍,且接有靶头的脂质体多摄取于肿瘤细胞中,而被动靶向的脂质体多数聚集于肿瘤间质或巨噬细胞。

纳米载药系统包括纳米粒、脂质体、胶束等,脂质体及纳米粒等由于具有良好的生物相容性、有效的运载能力,能保护药物不被降解以及长循环缓释作用等特性而引起广泛的关注。如聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)纳米粒具有良好的长循环稳定性、生物可降解性、生物相容性,且其在体内分解代谢产生的乳酸及羟基乙酸均为无毒的生物材料,还具有良好的控缓释及靶向部位释药的理化性质。Huang等<sup>[26]</sup>利用 PLGA 作为纳米胶束,以透明质酸为靶头靶向治疗乳腺癌,其肿瘤靶向性明显提高,且抗肿瘤效果是单体给药的 8 倍以上。

### 3 纳米-肿瘤靶向免疫治疗

肿瘤免疫治疗的一个关键策略是瓦解肿瘤免疫抑制性微环境,同时引发稳健的效应 T 细胞以及诱导足量的免疫记忆细胞产生对抗广泛保留的肿瘤抗原。尽管在肿瘤患者体内常常可以发现肿瘤特异性免疫 T 细胞的存在,但是它们通常处于沉默、抑制或耐受状态。有很多特异性或非特异性的方式激活或重新激活 T 细胞的研究,如利用纳米靶向技术包载非抗原特异性免疫制剂,用于靶向肿瘤微环境的治疗<sup>[27-28]</sup>。Kwong 等<sup>[29]</sup>报道了使用靶向肿瘤部位淋巴结的 CD137 和 IL-2 抗体纳米制剂,能够激发肿瘤部位及系统性的淋巴免疫抗肿瘤效应,无全身性的炎症反应毒性,从而治愈黑素瘤小鼠。纳米材料本身或修饰后的物理化学性质也能够激起非抗原特异性肿瘤免疫应答,如 Zhou 等<sup>[8]</sup>报道,采用接有免疫佐剂的单壁碳纳米管系统辅以放疗,成功治愈了老鼠的肿瘤并使其具有较长的生存期。另一方面,通过纳米系统运载肿瘤细胞中独特表达或高表达的特异性抗原至肿瘤部位,以激活或重新激活免疫 T 细胞来治疗肿瘤的特异性免疫应答的研究亦有报道<sup>[30]</sup>,如 DC 疫苗或治疗性肿瘤疫苗等。

作为良好的载体,纳米材料大大提高了 T 淋巴细胞特异性抗原的数量和质量,为肿瘤的免疫治疗提供了新的希望。特别是纳米制剂能够同时运载免疫抗原及免疫佐剂靶向性地刺激肿瘤部位的免疫应答,这大大地提高了肿瘤免疫疫苗的有效性。由于多数的抗原均为非免疫原性的蛋白质或多肽,多数的免疫疫苗都需要共溶解或包裹具有高免疫原性的免疫佐剂, Varypataki 等<sup>[31]</sup>利用纳米技术包载抗原及免疫佐剂制备纳米制剂,其激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞的数量是同样药物非纳米制剂的 25 倍。

### 4 纳米-肿瘤靶向化学免疫治疗

研究表明,某些化疗药对肿瘤微环境具有免疫原性<sup>[4-5]</sup>。他们具有明确诱导肿瘤细胞免疫攻击性死亡的作用,主要原因是肿瘤细胞死亡时其自身残余物作为“疫苗”可激发肿瘤特异性免疫应答。尽管这种肿瘤细胞死亡的全过程并不十分清楚,且具有药物特异性,但是一些特殊分子的暴露和分泌机制已经被证明。其中有一种说法是,细胞表面的预凋亡暴露如肌钙蛋白、内质网伴侣蛋白、热休克蛋白 70/90 等是有力的 APC 吞噬信号<sup>[32]</sup>。肌钙蛋白可被 DC 表面的 CD91 受体识别,而热休克蛋白能够提高肿瘤抗原对 T 细胞的交叉呈递而诱导免疫应答<sup>[33]</sup>。另有研究证明,接近死亡的肿瘤细胞外聚集的高迁移率族蛋白 1 (high-mobility group box 1, HMGB1) 和 ATP 以及自噬依赖性活性分泌物等均增强了 APC 的吞噬作用<sup>[34]</sup>。除了免疫原分子的暴露和分泌,另外还存在其他的肿瘤细胞杀伤性的免疫激活作用,如 Ramakrishnan 等<sup>[35]</sup>报道,紫杉醇、多柔比星以及顺铂通过上调肿瘤细胞的甘露醇-6-磷酸盐受体,增加了对粒酶 B 的光敏感性,而粒酶 B 是由细胞毒性 T 淋巴细胞分泌的一种丝氨酸蛋白酶,这一过程不仅发生在表达抗原的肿瘤细胞中,也发生在不表达抗原的肿瘤周围细胞中。他们猜测,这一发现也许解释了联合使用特殊的化疗药物时,有限数量的细胞毒性 T 淋巴细胞是如何能够引起强大的抗肿瘤效应。

随着使用特殊的化疗药物,在杀灭肿瘤细胞的同时激发抗肿瘤免疫应答,利用纳米技术用时给予这种特殊的化疗药物和另外的免疫激活剂也展现出了优势。Roy 等<sup>[36]</sup>利用 PLGA 纳米粒同时包载紫杉醇和 TLR4 激动剂证明其抗肿瘤疗效强于单用任何一种疗法,结果显示纳米给药系统激活的 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞数量更多,且肿瘤部位也出现了 CD11c<sup>+</sup>、CD14<sup>+</sup> 细胞的浸润,而老鼠的生存率也有比单用任何一种疗法高很多。另外采用树状大分子纳米材料同时包载多柔比星以及免疫佐剂 CpG 也展现出了比单用任何一种疗法更好的抗肿瘤作用<sup>[6]</sup>。接有靶头的纳米制剂不仅仅可以用于靶向运输化疗药物和免疫佐剂到达特定的部位,也能够调整其药物的生物代谢过程及肿瘤部位的免疫系统。Calcinotto 等<sup>[37]</sup>研究表明,采用肿瘤血管内皮细胞选择性表达的多肽识别配体 NGR (Asn-Gly-Arg) 为靶头, TNF- $\alpha$ -NGR 联合多柔比星治疗鼠黑素瘤

延长了生存时间,且肿瘤部位出现更多 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润。

## 5 小结与展望

新一代的纳米制剂将会成为重要的治疗药物,过去那些易被消化酶等降解的药物现可以利用纳米技术实现口服使用;先前那些疗效肯定但溶解性差的药物亦可以利用纳米技术实现其临床应用。纳米制剂可以作为基因载运的载体实现疾病的基因治疗。采用纳米技术载运 mRNA 以及血管内皮生长因子的临床试验正在进行<sup>[38]</sup>。纳米技术也为新型联合使用药物提供了良好的平台,例如联合使用靶向性免疫原性化疗药物以及系统性免疫制剂将能够发挥协同作用,增加抗肿瘤的疗效,在给予适合剂量的免疫原性化疗药杀死肿瘤细胞的同时,也能够激活免疫系统。联合使用免疫原性化疗药以及免疫激活剂将会发挥协调作用。另外,采用纳米技术实现靶向治疗,在增强疗效的同时亦降低了副作用。由于纳米制剂的控释作用,同时包载运输免疫佐剂和小分子化疗药,或者同时包裹抗体、肿瘤疫苗等将实现干扰肿瘤免疫平衡、消灭肿瘤及远处转移的未知潜能。

随着对免疫系统了解的广泛深入,我们将学会如何去激活、调整抑制性免疫以对抗肿瘤,提高肿瘤患者的生存率,打开耐药性肿瘤控制的大门。为辨别哪些患者对化疗免疫治疗有效,而哪些患者天生缺乏肿瘤 T 细胞表位从而导致其对免疫治疗并不起效,方法还需要进行大量的研究。联合应用纳米靶向制剂,一方面载运化疗药物及微小干扰 RNA 至肿瘤细胞,另一方面载运抗原、Toll 样受体激动剂、免疫共刺激分子靶向至未成熟的 DC,是否会出现极高的肿瘤清除率等也将引起广泛的关注。

## [参考文献]

[1] ZITVOGEL L, GALLUZZI L, SMYTH M J, KROEMER G. Mechanism of action of conventional and targeted anticancer therapies: reinstating immunosurveillance[J]. *Immunity*, 2013, 39: 74-88.

[2] ZITVOGEL L, KEPP O, KROEMER G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8: 151-160.

[3] CHEN G, EMENS L A. Chemoimmunotherapy: reengineering tumor immunity [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62: 203-216.

[4] LU L, XU X, ZHANG B, ZHANG R, JI H, WANG X. Combined PD-1 blockade and GITR triggering

induce a potent antitumor immunity in murine cancer models and synergizes with chemotherapeutic drugs [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 36.

[5] VACCHELLI E, EGGERMONT A, SAUTÈS-FRIDMAN C, GALON J, ZITVOGEL L, KROEMER G, et al. Trial Watch: Toll-like receptor agonists for cancer therapy[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2013, 2: e25238. doi: 10.4161/onci.25238.

[6] LEE I H, AN S, YU M K, KWON H K, IM S H, JON S. Targeted chemoimmunotherapy using drug-loaded aptamer-dendrimer bioconjugates[J]. *J Control Release*, 2011, 155: 435-441.

[7] MEIR R, SHAMALOV K, BETZER O, MOTIEI M, HOROVITZ-FRIED M, YEHUDA R, et al. Nanomedicine for cancer immunotherapy: tracking cancer-specific T-cells *in vivo* with gold nanoparticles and CT imaging[J]. *ACS Nano*, 2015, 6: 6363-6372.

[8] ZHOU F, WU S, SONG S, CHEN W R, RESASCO D E, XING D. Antitumor immunologically modified carbon nanotubes for photothermal therapy [J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 3235-3242.

[9] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144: 646-674.

[10] MATSUSHITA H, VESELY M D, KOBOLDT D C, RICKERT C G, UPPALURI R, MAGRINI V J, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting [J]. *Nature*, 2012, 482: 400-404.

[11] YANG L, PANG Y, MOSES H L. TGF- $\beta$  and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression[J]. *Trends Immunol*, 2010, 31: 220-227.

[12] McDERMOTT D F, ATKINS M B. PD-1 as a potential target in cancer therapy [J]. *Cancer Med*, 2013, 2: 662-673.

[13] NAGARAJ S, GABRILOVICH D I. Tumor escape mechanism governed by myeloid-derived suppressor cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 2561-2563.

[14] DRAKE C G, JAFFEE E, PARDOLL D M. Mechanisms of immune evasion by tumors [J]. *Adv Immunol*, 2006, 90: 51-81.

[15] O'GARRA A, VIEIRA P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control[J]. *Nat Med*, 2004, 10: 801-805.

[16] BORSELLINO G, KLEINWITTFELD M, DI MITRI D, STERNJAK A, DIAMANTINI A, GIOMETTO R, et al. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression[J]. *Blood*, 2007, 110: 1225-1232.

[17] OKOYE I S, COOMES S M, PELLY V S, CZIESO S, PAPAYANNOPOULOS V, TOLMACHOVA T, et al. MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived

- exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells [J]. *Immunity*, 2014, 41: 89-103.
- [18] BISWAS S K, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets; cancer as a paradigm [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11: 889-896.
- [19] SERAFINI P, BORRELLO I, BRONTE V. Myeloid suppressor cells in cancer; recruitment, phenotype, properties, and mechanisms of immune suppression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16: 53-65.
- [20] SERAFINI P, MGE BROFF S, NOONAN K, BORRELLO I. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 5439-5449.
- [21] SINHA P, CLEMENTS V K, BUNT S K, ALBELDA S M, OSTRAND-ROSENBERG S. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells and macrophages subverts tumor immunity toward a type 2 response [J]. *J Immunol*, 2007, 179: 977-983.
- [22] SEKAR D, HAHN C, BRÜNE B, ROBERTS E, WEIGERT A. Apoptotic tumor cells induce IL-27 release from human DCs to activate Treg cells that express CD69 and attenuate cytotoxicity [J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42: 1585-1598.
- [23] SPRANGER S, SPAAPEN R M, ZHA Y, WILLIAMS J, MENG Y, HA T T, et al. Up-regulation of PD-L1, IDO, and T<sub>regs</sub> in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8<sup>+</sup> T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 200ra116.
- [24] SAMARASINGHE R M, KANWAR R K, KANWAR J R. The role of nanomedicine in cell based therapeutics in cancer and inflammation [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2012, 1: 133-144.
- [25] KIRPOTIN D B, DRUMMOND D C, SHAO Y, SHALABY M R, HONG K, NIELSEN U B, et al. Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 6732-6740.
- [26] HUANG J, ZHANG H, YU Y, CHEN Y, WANG D, ZHANG G, et al. Biodegradable self-assembled nanoparticles of poly (D, L-lactide-co-glycolide)/hyaluronic acid block copolymers for target delivery of docetaxel to breast cancer [J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 550-566.
- [27] FERRONE C, DRANOFF G. Dual roles for immunity in gastrointestinal cancers [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 4045-4051.
- [28] NELSON B H. The impact of T-cell immunity on ovarian cancer outcomes [J]. *Immunol Rev*, 2008, 222: 101-116.
- [29] KWONG B, GAI S A, ELKHADER J, WITTRUP K D, IRVINE D J. Localized immunotherapy via liposome-anchored Anti-CD137<sup>+</sup> IL-2 prevents lethal toxicity and elicits local and systemic antitumor immunity [J]. *Cancer Res*, 2013, 73: 1547-1558.
- [30] ZOM G G, KHAN S, BRITTEN C M, SOMMANDAS V, CAMPS M G, LOOF N M, et al. Efficient induction of antitumor immunity by synthetic Toll-like receptor ligand-peptide conjugates [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2: 756-764.
- [31] VARYPATAKI E M, VAN DER MAADEN K, BOUWSTRA J, OSSENDORP F, JISKOOT W. Cationic liposomes loaded with a synthetic long peptide and poly (I; C): a defined adjuvanted vaccine for induction of antigen-specific T cell cytotoxicity [J]. *The AAPS J*, 2015, 17: 216-226.
- [32] ZITVOGEL L, KEPP O, SENOVILLA L, MENGER L, CHAPUT N, KROEMER G. Immunogenic tumor cell death for optimal anticancer therapy: the calreticulin exposure pathway [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 3100-3104.
- [33] GARG A D, KRYSKO D V, VERFAILLIE T, KACZMAREK A, FERREIRA G B, MARYSAEL T, et al. A novel pathway combining calreticulin exposure and ATP secretion in immunogenic cancer cell death [J]. *EMBO J*, 2012, 31: 1062-1079.
- [34] MARTINS I, WANG Y, MICHAUD M, MA Y, SUKKURWALA A Q, SHEN S, et al. Molecular mechanisms of ATP secretion during immunogenic cell death [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21: 79-91.
- [35] RAMAKRISHNAN R, ASSUDANI D, NAGARAJ S, HUNTER T, CHO H I, ANTONIA S, et al. Chemotherapy enhances tumor cell susceptibility to CTL-mediated killing during cancer immunotherapy in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 20: 1111-1124.
- [36] ROY A, SINGH M S, UPADHYAY P, BHASKAR S. Nanoparticle mediated co-delivery of paclitaxel and a TLR-4 agonist results in tumor regression and enhanced immune response in the tumor microenvironment of a mouse model [J]. *Int J Pharm*, 2013, 445: 171-180.
- [37] CALCINOTTO A, GRIONI M, JACHETTI E, CURNIS F, MONDINO A, PARMIANI G, et al. Targeting TNF- $\alpha$  to neoangiogenic vessels enhances lymphocyte infiltration in tumors and increases the therapeutic potential of immunotherapy [J]. *J Immunol*, 2012, 188: 2687-2694.
- [38] TABERNERO J, SHAPIRO G I, LORUSSO P M, CERVANTES A, SCHWARTZ G K, WEISS G J, et al. First-in-humans trial of an RNA interference therapeutic targeting VEGF and KSP in cancer patients with liver involvement [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3: 406-417.