

纳米靶向技术用于乳腺癌免疫治疗的最新进展



琚琪欣, 李茹珊, 赵姝宁, 王欣雅, 徐珊*

杭州医学院医学影像学院, 浙江杭州 310059

摘要: 免疫治疗作为一种革命性的癌症治疗方法, 通过增强自身免疫应答, 阻碍免疫抑制作用, 提高抗肿瘤反应, 为乳腺癌治疗提供了有效选择。然而, 由于肿瘤的复杂性以及肿瘤免疫抑制微环境等问题, 严重限制了免疫治疗的发展。近年来, 纳米技术给药物研究和治疗带来了新的可能性。本文主要探讨了乳腺癌免疫治疗的新进展及其与纳米药物靶向作用系统的结合。通过利用纳米技术制备的纳米药物, 可以实现对肿瘤微环境的精确调控, 实现定向局部免疫调节, 从而提高免疫治疗效果。纳米药物靶向作用系统旨在将药物直接输送到肿瘤部位, 减少对正常组织和细胞的损害, 降低药物副作用。此外, 纳米药物还能够与其他治疗手段(如化疗、放疗等)联合使用, 发挥协同作用, 进一步提高乳腺癌治疗效果。本文综述了乳腺癌免疫治疗中纳米药物靶向作用系统的研究进展, 以及其在改善肿瘤微环境和联合疗法方面的应用潜力, 并展望了未来的机遇与挑战。

关键词: 乳腺癌; 免疫治疗; 纳米药物; 靶向; 联合疗法

DOI: [10.57237/j.mrf.2023.03.005](https://doi.org/10.57237/j.mrf.2023.03.005)

Recent Progress of Nanotargeted Immunotherapy for Breast Cancer

Ju Qixin, Li Rushan, Zhao Shuning, Wang Xinya, Xu Shan*

School of Medical Imaging, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310059, China

Abstract: Immunotherapy, as a revolutionary cancer treatment approach, offers an effective option for breast cancer treatment by enhancing the body's immune response, inhibiting immunosuppression, and improving anti-tumor reactions. However, the development of immunotherapy is severely limited due to the complexity of tumors and tumor immunosuppressive microenvironments. In recent years, nanotechnology has introduced new possibilities in drug research and treatment. This article mainly explores the latest advancements in breast cancer immunotherapy and its combination with nanoparticle drug targeting systems. Utilizing nanoparticles prepared through nanotechnology, precise regulation of the tumor microenvironment can be achieved, resulting in targeted local immune modulation and improved immunotherapy effects. The nanoparticle drug targeting system aims to deliver drugs directly to the tumor site, reducing damage to normal tissues and cells and decreasing drug side effects. Additionally, nanoparticle drugs can be used in conjunction with other treatments (such as chemotherapy and radiotherapy) to produce synergistic effects and further improve breast cancer treatment outcomes. This review summarizes the research progress of nanoparticle drug targeting systems in breast cancer immunotherapy, as well as their potential applications in improving the tumor

*通信作者: 徐珊, xmuxushan@163.com

microenvironment and combined therapies. It also looks forward to future opportunities and challenges.

Keywords: Breast Cancer; Immunotherapy; Nanomedicine; Targeted; Combination Therapy

1 引言

根据世界卫生组织国际癌症研究机构 (IARC) 于 2020 年发布的统计数据显示, 乳腺癌 (BC) 已成为世界上最常见的癌症[1]。它是全球女性癌症死亡的主要原因之一, 占有所有癌症死亡的 15.5% [1]。人们越来越关注乳腺癌的发现与治疗, 其诊治方式包括传统的手术[2]、化疗[3]、放疗[4], 由于肿瘤细胞的转移性和侵袭性的特点[5]以及无法识别正常细胞与肿瘤细胞, 缺少选择性, 手术方式只能治愈一部分患者, 放化疗手段虽然可以抑制肿瘤的生长但也伴随有严重的副作用[3, 4]。因此, 一种更高效的、更具有针对性的治疗手段是特别有必要的。

免疫治疗是一种基于免疫过程特异性识别非己细胞的新治疗方式, 也是当下关键的治疗策略之一, 但由于乳腺癌相对于其他癌症所具有的更为强烈的逃逸

机制、肿瘤细胞所营造的免疫抑制性微环境 (Tumor Micro-environment, TME)、其不同亚型乳腺癌所表现的不同特点和相同疾病中患者所反馈的治疗反应率不同, 免疫治疗的疗效不尽如人意[6, 7]。现如今乳腺癌治疗的有力手段仍是免疫治疗, 克服免疫逃逸机制是实现免疫治疗的最佳策略之一。研究看来, 纳米材料递送在突破免疫治疗上提供了新思路, 纳米材料具有高生物相容性和稳定性, 表现出更大的蓄积力量[8-10]。纳米技术在提供多种材料、容纳多个配体、携带大的负载、靶向方向中起了主要作用, 这也成了推进免疫治疗的重要手段。在这篇综述中, 主要讲述的内容是在克服逃逸机制下, 归纳总结近几年纳米技术在调控乳腺癌免疫应答上的研究及临床应用成果。

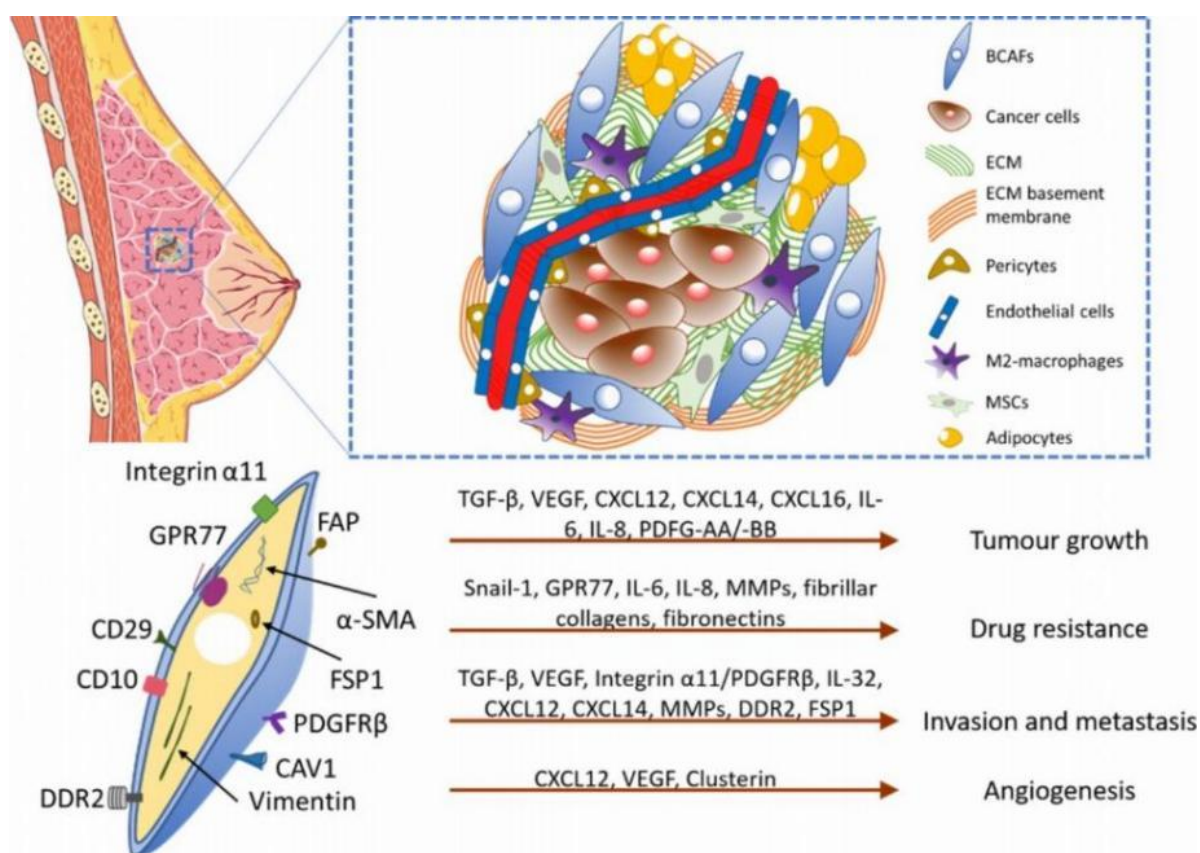


图1 乳腺癌肿瘤微环境[11]

2 纳米靶向技术用于乳腺癌微环境调控

乳腺癌的肿瘤微环境 (TME) 主要成分是癌症相关的免疫抑制性细胞、细胞外基质 (ECM) 及细胞因子。这些微环境组分协同作用使得微环境处于免疫抑制性状态。其中免疫抑制性细胞是由成纤维细胞 (BCAFs)、癌症干细胞、巨噬细胞、脂肪细胞、内皮细胞、中性粒细胞、NK 细胞等组成的[11-13] (见图 1)。此外, 其他细胞周围还充斥着一些含有免疫抑制性的细胞因子, 比如 IL-10 就与乳腺癌患者的低生存率有关[11-14]; miR-105 可通过外泌体破坏血管内皮屏障以促进转移[15]; TGF- γ 与肿瘤细胞的增殖迁移有关[16, 17]等。微环境于微环境本身和癌细胞之间是共同发展的关系。肿瘤细胞能改变微环境以一种更有利于生存的方式存在, 而微环境的组分也会调节出一种适合癌细胞生长转移的抑制性环境。

在乳腺癌微环境中, 最主要的是以直接或间接的方式对其中免疫抑制性细胞及因子所产生的免疫逃逸机制进行攻克。接下来文章从靶向免疫抑制分子、靶向免疫抑制细胞两方面对近年来纳米材料在针对乳腺癌微环境的研究成果进行阐述。

2.1 纳米药物靶向免疫抑制分子的机制

白细胞介素 10 (IL-10) 是一种具有免疫抑制作用的细胞因子, 在 TME 中, 高水平的 IL-10 可抑制肿瘤内树突状细胞产生白细胞介素 12, 从而间接抑制抗原呈递及免疫细胞活化等免疫激活过程。通过多项临床研究表明, 在较差的中位生存期的三阴性乳腺癌患者的组织和血清中都可观察到 IL-10 水平上调, 且 IL-10 含量与肿瘤分期呈正相关[18-20]。因此, 对免疫疗法愈发关注的现状下和研究发现的癌症患者相对于正常机体的高水平 IL-10 含量, 将 IL-10 陷阱靶向递送至 TME 有可能成为治疗该疾病的有效治疗方式。

Shen 等人[21]将通过融合 VH 和 VL 结构域的方式所获得的与 IL-10 结合亲和力更高的成熟 IL-10 捕获器 (IL-10 trap) 封装到脂质体-鱼精蛋白-DNA (LPD) NP 平台上并局部运送到小鼠 4T1 三阴性乳腺癌 (4T1 TNBC) 模型中。在实验治疗的观察结果中, 这种 IL-10 蛋白陷阱会导致 IL-10 在产生的区域短暂减少、IL-12 显著增加以及 TME 中促炎细胞因子 TNF- α 和 IFN- γ 的

表达增加, 还可以诱导肿瘤中 M2 巨噬细胞、骨髓来源的抑制性细胞 (Myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 等免疫抑制细胞的减少, 最终表现为显著抑制 4T1 肿瘤生长并提高中位生存期。因此, 通过蛋白诱捕网联合 IL-10 的手段有望用于三阴性乳腺癌的免疫治疗。

2.2 纳米药物靶向免疫抑制细胞的机制

2.2.1 以纳米药物为基础的乳腺癌相关成纤维细胞 (BCAFs) 靶向方法

乳腺癌肿瘤组织中, 肿瘤相关成纤维细胞是最重要的细胞成分, 占 70% 左右。尽管人乳腺癌相关成纤维细胞 (Breast cancer-associated fibroblasts, CAFs) 缺乏可与肿瘤相关成纤维细胞 (Carcinoma-associated fibroblasts, CAFs) 相区分的生物标记[22], 但在转移性乳腺癌病人的外周循环中观察到乳腺癌肿瘤相关成纤维细胞具有特征性的表达 (FAP+/ α -SMA+/CK-/CD45-), 还能通过其来源不同拥有不同特性, 比如脂肪细胞[23]来源的肿瘤相关成纤维细胞能促进结缔组织增生性微环境[23], 间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) 来源的肿瘤相关成纤维细胞通过上调丛生蛋白表达促进血管生成和使胶原纤维重新排列[24, 25]。BCAFs 在肿瘤细胞侵袭和转移上起着重要作用, 是调节癌症进展的关键因素, 因此它正成为潜在的治疗靶点。

目前研究人员在靶向乳腺癌相关成纤维细胞上有了一定研究成果, 其中 Sitia 等人[26]利用 H-铁蛋白纳米笼递送系统直接靶向 BCAFs。H-铁蛋白纳米笼上的 FAP 抗体片段偶联 (HF_n-FAP) 使其能够与 BCAFs 特异性结合。为了极大限度的减少整体纳米笼的空间位阻, 实验通过比较大小为 5kDa 的 PEG 纳米笼和 10kDa 的 PEG 纳米笼 (见图 2(a)), 得出的数据显示结果为 10kDa 的 NHS-PEG-MAL 连接子重复性高、掩蔽广泛, 靶向效果更好, 然而在进行抗体浓度增加实验来进行优化时并没有明显效果 (见图 2(b))。此外, 研究人员对纳米材料进一步优化, 采用了将 Nav 装入 HF_n 纳米笼的方式, 结合 pH 响应的拆卸-重组制备方法, 产生 HNav-FAP 纳米药物, 将 HNav-FAP、Nav、HNav 进行比较, 发现 HNav-FAP 纳米药物的稳定性更高 (见图 2(c)), 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系的效果最好。

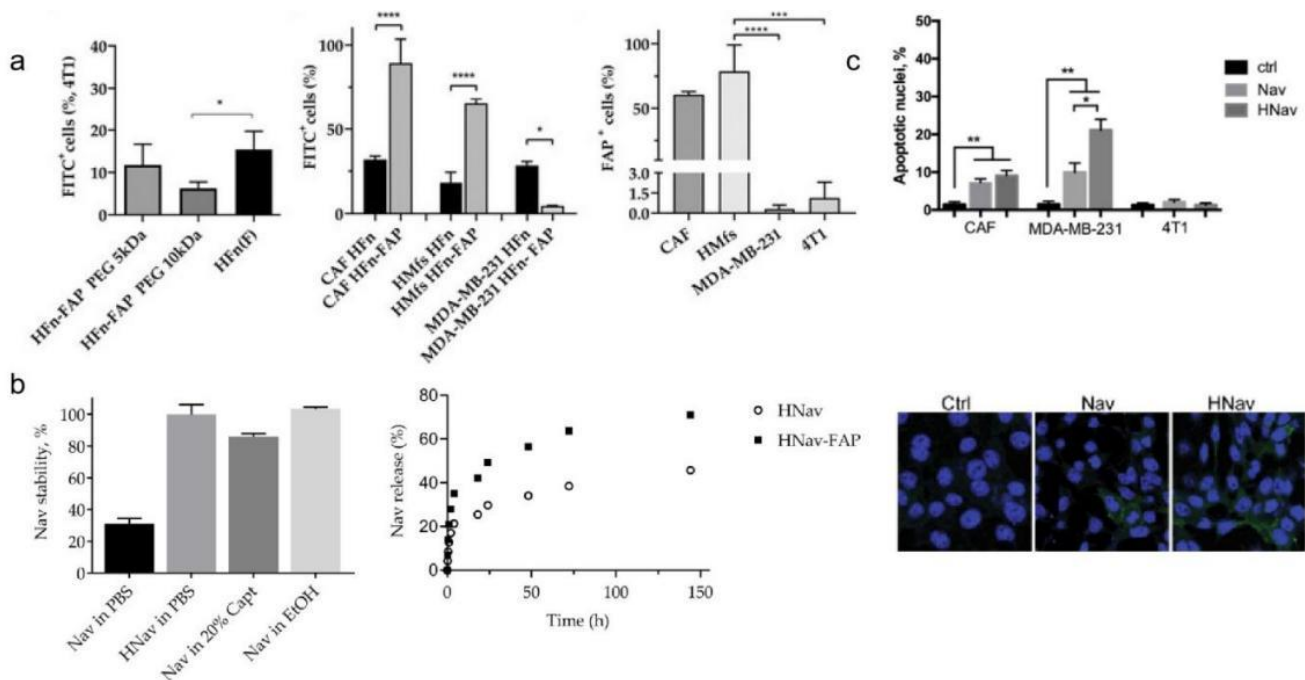


图 2 (a)不同大小纳米笼的靶向结果柱形图；(b) Nav 和 HNav 在水基溶剂中的不同溶解度对溶液中药物回收的百分比；(c)通过海纳夫诱导凋亡途径[26]

2.2.2 以纳米药物为基础的神经元靶向方法

神经细胞存在于各类型癌症中并支持癌症的发生和进展[27]。神经是构成细胞微环境的重要组成部分，癌细胞通过释放神经营养因子诱导肿瘤微环境中神经的生长[28]，反过来神经递质的释放激活了癌症的生长和转移[29]，最终神经被癌细胞包围和侵入[30]，这一过程称为神经周围浸润。在乳腺癌中，大约三分之一的浸润性导管癌中检测到神经，并且神经密度与肿瘤浸润性以及癌细胞的信号传导相关。

Maya 等人[31]用装载非阿片类镇痛药布比卡因的聚乙二醇脂质纳米颗粒靶向微环境中的神经元。通过纳米颗粒被神经元摄取，布比卡因药物能够更轻易沿轴突进行运输，发挥其作为钠通道阻滞剂的作用，来达到阻断神经冲动、抑制轴突生长的效果。实验先测量不同浓度的布比卡因下三阴性乳腺癌的半数致死率 (LC50)，间接得出其最佳神经毒性作用的浓度，结果是浓度为 0.4mg/ml 的布比卡因对神经元效力最好。为了优化神经元摄取纳米颗粒的效果，研究人员比较了 6 种不同成分（不同脂质尾长和 PEG 部分）的磷脂酰胆碱 (PC) 脂质体对神经元摄取的效果，其中比较脂质链长度为 14c、16c、18c（分别为 DMPC、DPPC、HSPC）数据可看出：DMPC 是 DPPC 的两倍高，是

HSPC 的三倍高，并且 DMPC 和 DPPC 具有更高的布比卡因释放率。

2.2.3 以纳米药物为基础的中性粒细胞靶向方法

在纳米技术的研究中，纳米药物主要被作为常规化疗药物的递送平台[32]，其也可以被固有免疫细胞摄入，发挥免疫刺激性试剂的作用。中性粒细胞作为一大类固有免疫细胞，会成为研究的重要方向。

最近的研究表明，病毒外壳蛋白自发形成的不含核酸、不具传染性的三维结构 (VLPs) 可刺激机体产生免疫应答。P. H. Lizotte 等人[33]以此为基础展开了自组装的类病毒纳米颗粒豇豆花叶病毒 (eCPMV) 的研究。实验将空豇豆花叶病毒 (eCPMV) VLP 系统吸入给 4T1BALB/c 同系乳腺癌模型中，通过观察荧光素酶，追踪乳腺癌的肺转移发展情况，结果显示接受 eCPMV 治疗的小鼠显著延迟了肺部肿瘤的发生和延长了动物生存期[33]。继续深入研究，该系统能激活肿瘤浸润性 N1 中性粒细胞的抗肿瘤作用，从而协调适应性免疫反应，产生促炎因子，招募 T 淋巴细胞和 NK 细胞，作用于免疫激活。

2.2.4 以纳米药物为基础的 NK 细胞靶向方法

NK 细胞指自然杀伤细胞,是机体重要的免疫细胞,与抗肿瘤有关,能够识别靶细胞、杀伤介质。细胞膜仿生纳米平台,是新兴的药物递送载体,可利用细胞膜对纳米粒的掩蔽作用来达到提高药物递送效率、赋予纳米粒靶向递药功能,甚至提高所载药物作用效果等目的。

在一项研究中,杜微采取用自然杀伤细胞(NK)细胞膜掩蔽纳米粒的方法,设计了一种共负载 1-MT 与奥沙利铂(OXA)的NK细胞仿生纳米缀合物NK-DNH,以提高肿瘤归巢能力并减少副作用。实验表明,NK-DNH 具有良好的肿瘤靶向能力,能够引起肿瘤细胞的免疫原性死亡,促进 DC 细胞的成熟,增加效应 T 细胞向肿瘤组织的浸润,促进巨噬细胞向 M1 表型转化,同时下调 Treg 细胞的数量。综合以上结果,该联合治疗方式能够有效调节肿瘤的免疫微环境,并招募体内的免疫细胞共同消灭癌细胞,为肿瘤治疗的制剂开发与临床应用提供了新的思路[34]。

2.2.5 以纳米药物为基础的巨噬细胞靶向方法

巨噬细胞源自单核细胞,而单核吞噬细胞系统(MPS),是迄今为止将纳米结构有效传递到实体肿瘤的最重要障碍之一。大多数肿瘤靶向性的纳米颗粒都想试图逃避 MPS,来增加循环时间。

现在,Eric 等人发现胶体金纳米棒(AuNRs)对巨噬细胞有主动的靶向性,它已被证明是靶向药物传递载体,并可作为近红外(NIR)激光光热肿瘤消融的造影剂。大环内酯类是一种针对巨噬细胞的抗生素,在该实验模型中,Eric 等人把金纳米棒用大环内酯处理。由于实体肿瘤被巨噬细胞高度浸润,研究人员发现金纳米棒被优先递送到肿瘤相关的巨噬细胞(TAM)中,并且能选择性地诱导巨噬细胞对乳腺癌细胞的抗肿瘤活性和细胞毒性。研究人员还发现,金纳米棒能提高激光光热治疗(PTT)的疗效。此外,在经金纳米棒处理的巨噬细胞中,细胞毒性 TNF- α 和 IL-1/6 蛋白水平升高。由于 TAMs 能够在循环中自由迁移[35],绕过血脑屏障[36],并且能广泛地积累、浸润到乳腺肿瘤中[37],这些数据显示巨噬细胞靶向金纳米颗粒可以成为一种很有前途的靶向癌症治疗的候选药物[38]。

2.2.6 以纳米药物为基础的 Treg 细胞靶向方法

调节性 T 细胞(Treg)是抑制性 T 细胞的一种功

能亚型。然而 Treg 细胞的免疫抑制作用,既能防御人体发生自身免疫性疾病,又能促使肿瘤细胞发生免疫逃逸,间接加快了肿瘤细胞的增殖,增强了肿瘤细胞的浸润能力。因此在肿瘤中,如何降低 Treg 细胞的功能是关键。因为这些 Treg 细胞能抑制 ctl 的增殖,并且恶性肿瘤伴 Treg 浸润与乳腺癌的不良预后相关。因此,减少肿瘤中 Treg 的数量是一种增强癌症免疫治疗的候选策略。

在一项研究中,Kopecka 等人[39]使用了含纳米颗粒的唑来膦酸(NZ)来逆转乳腺癌模型中阿霉素化疗耐药的情况。NZ 抑制犬尿氨酸的产生,犬尿氨酸是色氨酸的一种免疫抑制分解产物。犬尿氨酸在化疗耐药性癌细胞中高度表达,损害 T 细胞在 TME 中的增殖和存活。研究发现,NZ 在肿瘤区域减少了 Treg 的数量,增加了树突状细胞的招募,从而通过宿主的免疫系统,使宿主自身恢复了对耐药性肿瘤的识别功能。这一发现表明,NZ 可以用作一种辅助药物,来改善关于抗化疗性乳腺肿瘤免疫治疗的方案[39]。

3 纳米靶向技术应用于乳腺癌免疫激活

3.1 纳米药物促进/抑制相关通路的机制

3.1.1 靶向阻断免疫检查点

免疫检查点(Immune checkpoint)是指免疫系统中,负责调控 T 细胞免疫反应的分子,又称为共刺激分子,根据作用分为活化性共刺激分子和抑制性共刺激分子[40],二者保持平衡,有维持自身组织耐受,避免自身免疫反应等重要作用。而肿瘤细胞则利用此反馈机制,异常上调抑制性共刺激分子或其相关配体,抑制 T 细胞激活,从而逃避免疫杀伤[41]。而相关联的免疫检查点抑制剂能抑制肿瘤细胞的免疫逃逸,重建免疫系统对肿瘤细胞的识别和清除[42]。由于免疫检查点是由配体-受体相互作用,因此反馈调节抑制剂需要特定地靶向阻断配体-受体相互作用才能发挥效应。

例如 T 细胞被激活后诱导 PD-1 表达,与其配体 PD-L1(programmed cell death 1 ligand 1)或 PD-L2(programmed cell death 1 ligand 2, PD-L2)结合后,PD-1 作为 I 型跨膜糖蛋白的胞内区的其中一个酪氨酸残基——免疫受体酪氨酸转换基序(immunoreceptor tyrosine based switch motif, ITSM)发生磷酸化,蛋白酪

氨酸磷酸酶分子被招募使下游的效应分子去磷酸化, 激活 PD-1/PD-Ls 信号通路, 转导负性信号, 抑制 T 细胞活化, 下调对肿瘤的免疫反应[43, 44]。又因为 PD-L1 在多种肿瘤类型如乳腺癌细胞表面高表达, 所以靶向阻断 PD-1/PDLs 通路可释放 T 淋巴细胞杀伤肿瘤的活性从而有效地进行抗肿瘤治疗[45]。

目前获批上市的 PD-1 抗体都是单克隆抗体, 相比于单克隆抗体, 分子量小、稳定性高、组织渗透性强、免疫原性低、可在原核系统表达的纳米抗体更适合开发成为 PD-1 抑制剂。在 deng [46] 的研究中通过三轮淘洗和 PE-ELISA 法筛选获得了 6 个氨基酸序列上存在差异的 PD-1 ECD 纳米抗体 (NbPD-1 ECD), 命名为 Nb 1-Nb 6, 经过一系列测试最终文获得两株在体外具有阻断 PD-L1 抑制 T 细胞活性的 NbPD-1 ECD (Nb 2 和 Nb 3), 均具有成为免疫检查点抑制剂的潜力为后续肿瘤免疫治疗候选药物提供了物质材料。

3.1.2 阻断肿瘤免疫抑制形成

肿瘤相关纤维母细胞 (CAFs) 也是实体肿瘤中负责免疫抑制形成的关键基质细胞, 因为它们可以招募免疫抑制细胞并产生多种促进肿瘤生长的生长因子。此外, 它们还为药物传递和细胞毒性 T 细胞的肿瘤浸润创造了一个物理屏障。为了克服由这些细胞介导的免疫逃避, 消耗这些淋巴细胞群被认为是一种治疗的可能性。然而, 根据最近的一份报告, 它们的消除导致了 Wnt16 的上调, 从而使邻近的肿瘤细胞对治疗产生了耐药性[47]。在此背景下, 开发了一种新型葛根素纳米乳 (nanoPue), 用于下调活化肿瘤相关纤维母细胞中活性氧 (ROS) 的产生。ROS 积极参与多种促纤维化途径, 并且对肿瘤相关纤维母细胞的激活是不可或缺的, 因此, nanoPue 显示出了在肿瘤微环境中灭活肿瘤相关纤维母细胞的强大能力。结果表现为, 肿瘤区域胶原沉积减少, 肿瘤通透性增强, 提高了纤维增生 TNBC 模型的化疗效果, 导致细胞毒性 T 细胞浸润增加 2 倍, 肿瘤重量降低。此外, TME 的重构提高了 TNBC 模型中 PD-L1 阻断治疗的疗效。因此, nanoPue 可以作为 TNBC 免疫治疗的药物。

3.1.3 诱导程序性坏死通路抑制肿瘤发展与逃逸

程序性坏死的形态学特征包括细胞膜通透性增大、细胞体和细胞器肿胀、细胞质膜破裂及细胞内容物释

放等特征, 整个过程与混合系激酶区域样蛋白 (mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL) 等关键分子相关。在不同类型的癌细胞中发现了程序性坏死信号通路中许多关键分子的下调, 这表明癌细胞可能通过逃避坏死而存活。所以通过激活或恢复程序性坏死相关信号通路, 可能作为治疗癌症的一种方法。在 Liu X 等人[48]的实验成果中发现在乳腺癌细胞中敲除 MLKL 或用 MLKL 抑制剂 Necrosulfonamide 处理可显著降低癌细胞的致瘤性。目前已知许多纳米粒子均有强抗乳腺癌活性, 其中纳米银颗粒 (AgNPs) 是可以诱导癌细胞凋亡的金属纳米颗粒, Zielinska 等[49]研究发现 AgNPs 可以诱导 MLKL 水平上调, 为乳腺癌治疗提供了新思路。

3.2 纳米药物促进抗原呈递激活免疫系统

随着纳米技术领域的进步, “纳米疫苗”已经被探索, 通过将病原体特异性抗原与合成或天然纳米材料结合, 以努力引起可控的免疫反应。根据它们的潜在用途, 它们可以作为佐剂、免疫原或纳米载体用于增强和延长抗原递送。一般来说, 纳米疫苗的主要优点包括通过保护抗原不过早降解来提高稳定性, 提供良好的佐剂特性, 以及帮助抗原靶向传递到抗原提呈细胞 (APCs) (见图 3)。近年来, 有关乳腺癌疫苗的研究进展缓慢, 多处在试验阶段且效果堪忧。在新冠疫情疫苗研发推动下, 肿瘤疫苗研发也受到了一定的推动。

3.2.1 基于 DNA 的纳米疫苗

DNA 疫苗是一种编码肿瘤相关抗原的质粒, 直接或经包装后转染机体细胞, 产生稳定的肿瘤相关抗原, 刺激机体相关的免疫应答。DNA 疫苗还具有稳定、易于存储和运输、设计简单灵活、方便大量生产、安全性良好、无免疫感染风险、不会产生中和抗体且可以用于多价疫苗的优点[51]。一项临床实验中, 8 例接受曲妥单抗治疗的晚期/转移性 her2 阳性 BC 患者接受了含有小剂量 GM-CSF 和白细胞介素-2 的基因疫苗, 免疫后特异性抗 her2 T 细胞及抗体显著增加[52]。近年, 有关乳腺癌的 DNA 疫苗研究进展少, 多处在临床试验阶段。

3.2.2 基于多肽的纳米疫苗

多肽疫苗, 以肽链为基础构建载药体系, 传递抗

原激活免疫反应。目前，多项多肽载药体系正在被研究开发中。

HER2 的疫苗和佐剂共同给药已经取得了一定的进展,但大多处在临床试验中。一项 HER2 衍生的 MHC I 类肽 E75 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的剂量优化方案报告, 疫苗治疗组患者 5 年无病生存率从 80.2% 提高至 87.6%, 且局部和全身毒性较轻[53]。

VLPs 是由病毒蛋白在空间上重复堆积、排列形成具有规则空间结构的中空蛋白质结构, 能被 APCs 识别并传递。从而活化 CTL 和辅助型 T 细胞, 促进分泌细胞因子杀伤肿瘤细胞[54, 55]。Campbell 等[56]研究用 VLPs 装载多种抗原共同呈递治疗乳腺癌。VLPs 来源于兔出血症病毒, 由 180 个病毒衣壳蛋白 VP60 组成, VP60 可表达小鼠凋亡抑制蛋白。VLPs 通过二硫键与肿瘤细胞特有的异常糖基化黏蛋白 1 (MUC1) 肽段结合, 同时以 CpG 为佐剂组成肿瘤疫苗。使用 6-9 周雌

性 C57BL/6 小鼠分 6 组分别皮下注射相应溶液, 后注射制备的肿瘤细胞, 每隔 1 到 2 天监测小鼠体重和肿瘤大小。结果显示, VLPs 传递肿瘤抗原可诱导增强抗肿瘤免疫反应。

PVX-410 是一种新的四肽人类白细胞抗原 A2 限制性疫苗, 他是由 X-盒结合蛋白 1 (X-box binding protein 1)、CD38 和细胞表面糖蛋白 SLAM 家族成员 7 构成。两项 Ib 期和一项 II 期临床试验正在调查 PVX-410 在早期 TNBC 和转移性 TNBC 中的作用 [57-59]。

3.2.3 基于细菌/病毒纳米疫苗

病毒具有天然的免疫原性, 它们的遗传物质可以被改造成携带任何可在宿主细胞中表达的转基因。一项研究中, 单次注射靶向 DC 的慢病毒载体导致肿瘤自身抗原特异性细胞免疫, 并降低小鼠肿瘤的生长[60]。除此之外, 病毒还具有一定的溶解癌细胞的能力。

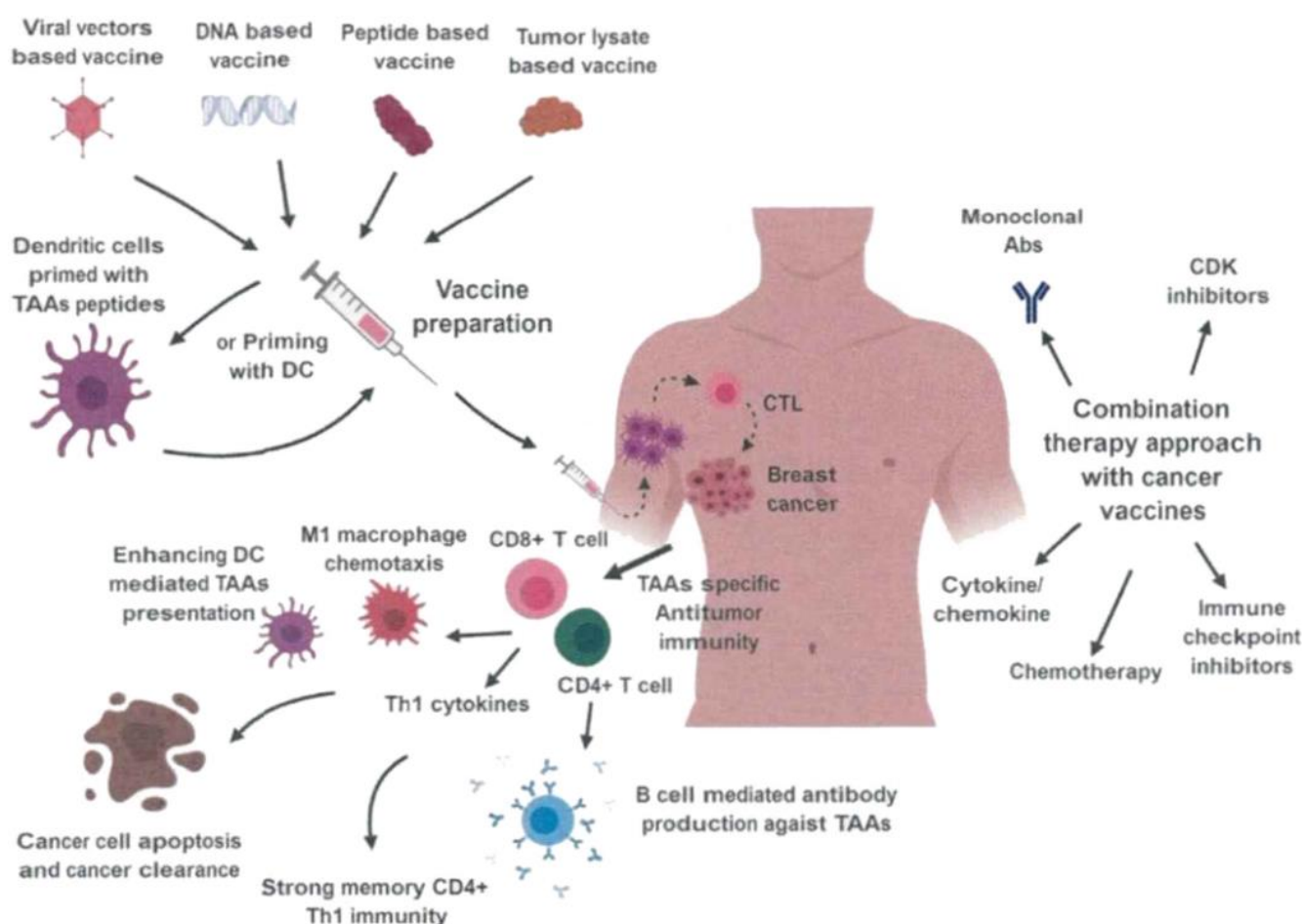


图3 乳腺癌疫苗种类及免疫机制[50]

4 纳米技术联合治疗

4.1 光动力学疗法

光动力学疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是一种新型物理响应性肿瘤辅助疗法, 其作用机制是光敏剂吸收能量后跃迁至激发态, 进而将能量传递给氧分子生成活性氧 (reactive oxygen species, ROS), ROS 能够直接氧化细胞内的脂质、蛋白质和 DNA, 从而达到抑制肿瘤细胞增殖的目的[61, 62] (见图 4)。PDT 需要外部能量激励和氧气 (O_2) 参与, 但是激光穿透深度有限。并且作用对象——恶性实体肿瘤具有乏氧

的特征——易通过信号转导通路诱导下游基因的表达, 使细胞适应低氧环境, 继续增殖并进行高侵袭和转移, 易对放射治疗和化学治疗产生耐受性。同时治疗剂中含有的高浓度的谷胱甘肽 (GSH) 清除活性氧自由基 (ROS) 限制了 PDT 的疗效[63]也是该治疗方式在临床应用中受到的严重限制[64, 65]。纳米材料可灵活应对肿瘤微环境这一缺氧特点, 提供两种有效的主要供氧策略: 一是将氧气直接输送到肿瘤中; 二是通过不同的方法在肿瘤微环境中原位产生氧气。

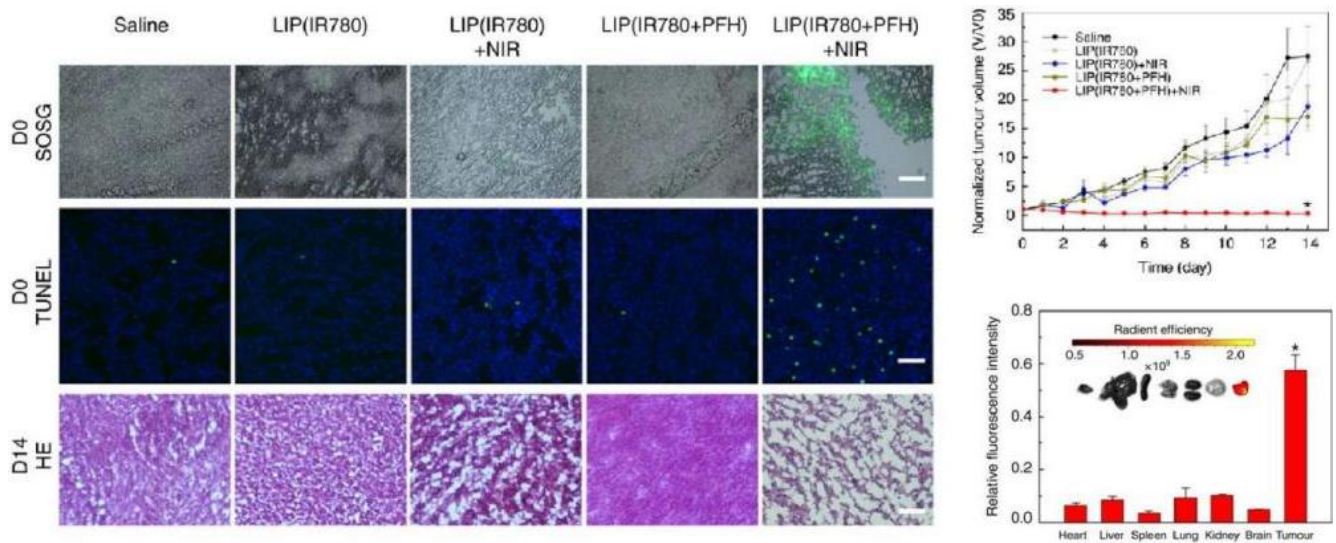


图4 体内光动力治疗 Oxy-PDT 瘤内注射皮下肿瘤模型[62]

步文博等人[65-67]在国际上较早地开展了化学动力学治疗 (CDT) 的研究, 它是通过催化肿瘤微环境中高浓度的过氧化氢 (H_2O_2) 发生芬顿或类芬顿反应产生毒性更高的羟基自由基 ($\cdot OH$) 诱导细胞凋亡。CDT 无需外部激励且不受组织穿透性限制, 是一种性能更加优异的治疗模式。而且 CDT 过程产生的 O_2 可以改善肿瘤乏氧, 提高 PDT 疗效[68]。因此, 利用纳米材料与肿瘤微环境相互作用的特点, 构建肿瘤微环境响应的 CDT/PDT 双功能纳米探针对于提高肿瘤的治疗效果具有重要的科学意义和临床应用价值[69]。

纳米酶作为一类具有类酶催化活性的纳米结构材料, 可以催化肿瘤微环境中的内源性物质提供 CDT 和 PDT 所需的 H_2O_2 和 O_2 , 提高纳米探针的诊疗性能[70]。无机纳米材料具有优异的磁、光、电、声和热等响应特性, 可以作为智能响应型纳米酶, 在肿瘤可视化诊

疗中有潜在的应用前景[71]。目前, 基于铁、铜和锰等金属离子的纳米酶在肿瘤微环境响应的 CDT/PDT 中研究较多[72-74]。

例如 Hyeon 等[75]构建了 O_2 自产生的 $MnFe_2O_4$ 纳米酶, 催化肿瘤微环境中的 H_2O_2 持续产生 O_2 , 提高了单线态氧 (1O_2) 的产率并增强了 PDT 性能。陈小元等[76]报道了 GSH 响应的 MnO_2 基纳米酶, MnO_2 消耗 GSH, 可提高细胞的氧化应激水平, 产生的 Mn^{2+} 将 H_2O_2 转化为更毒的 $\cdot OH$ 增强了 CDT。侯仰龙等[77]构建了肿瘤穿膜肽包裹的 $Ag_2S@Fe_2C$ 纳米酶系统, 利用其光热治疗 (PTT) 和增强的 CDT 可实现对乳腺癌的强化联合治疗。林君等[78]以及刘惠玉等[79]分别报道了具有双重酶催化活性的纳米酶, 不仅可提高氧化应激和缓解乏氧, 而且利用光热效应协同改善了纳米酶的催化活性。李琳琳、步文博等[80]报道了自组装铜-

氨基酸纳米酶, 可实现依次响应 GSH 和 H_2O_2 增强的 CDT。孙思佳等[81]构建了肿瘤微环境响应的、具有磁共振成像 (MRI) 和优异 CDT/PDT 功能, 良好的生物相容性, 安全的肿瘤微环境响应型可视化诊疗的 Mn-AuNCs 纳米探针。

4.2 磁流体热疗

磁流体热疗 (magnetic fluid hyperthermia, MFH) 最早是由 Gilchrist 等提出的, 到 1997 年, 德国学者 Jordan 等将 MFH 应用于肌肉移植小鼠乳腺癌模型, 效果显著[82]。它是一种便利的非侵入性癌症治疗技术, 与传统的高温疗法相比具有分散好、容易到达肿瘤区域、很好的特异性和靶向性等优势。MFH 涉及选择性施用磁性纳米颗粒作为热量介质进入肿瘤, 然后将该肿瘤暴露于外部交变磁场 (alternating magnetic field, AMF), 在高频 AMF 下, 由内化磁性纳米颗粒的 Neel 波动和外部布朗波动引起的单畴颗粒的磁能耗散, 产生热量使肿瘤内部的温度升高。当肿瘤组织中的温度升高到 42~45 °C 时, 这些磁性纳米颗粒可诱导癌细胞死亡而不损害周围的正常组织[83, 84]。温度升高引发癌细胞死亡的机制包括蛋白错误折叠和蛋白质聚集引发的蛋白变性, 以及由过度表达热休克蛋白促进免疫系统激活所介导的间接反应, 进而促进癌细胞凋亡、坏死等。MFH 以 MNPs 作为热介质, 其表面修饰特异性的配体可以增强对靶细胞和亚细胞的定位。如靶向高表达于许多癌症, 激活可以促进肿瘤生长和进展的表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 以增强特异性杀伤作用。相比于传统放疗和化疗技术, MFH 具有明显的优势, 该技术利用低强度磁场和高穿透性达到精准控制肿瘤部位升温并对人体不产生毒副作用[85]现已被广泛认可。

5 总结与展望

随着纳米医学不断飞速发展, 乳腺癌治疗在空间和时间上有更好的疗效, 这主要归功于纳米材料的固有生物相容性、稳定性特点和可进行改造修饰的人工工程特性, 还有研究人员在乳腺癌免疫抑制性因子、细胞、基质和免疫激活方面进行的长期靶向优化研究。纳米结构借助其独特的理化性质通过多种方法可被设计成具有多种功能的载体, 如药物/基因递送、细胞靶向、医学成像和光动力疗法等, 这些都在乳腺癌治疗

中发挥重要作用。

目前, 研究人员已不只是进行单药物的靶向研究, 临床研究的趋势逐步从单药物治疗转向联合治疗, 以期在降低不良反应的前提下优化治疗效果。虽然纳米医学目前还处于实验室阶段, 但随着纳米材料生物安全性的进一步提高, 其在临床应用中的前景十分广阔。随着纳米技术的快速发展, 纳米靶向技术这种更有效的替代疗法有望应用于临床。

参考文献

- [1] W. H. Organization, 2020. <https://www.who.int/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-taking-action>.
- [2] Coffey J C, Wang J H, Smith M, et al. Excisional surgery for cancer cure: Therapy at a cost. *Lancet Oncol*, 2003, 4: 760–768.
- [3] Chabner B A, Roberts Jr T G. Chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 65–72.
- [4] Baskar R, Lee K A, Yeo R, et al. Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *Int J Med Sci*, 2012, 9: 193–199.
- [5] Taube J M, Klein A, Brahmer J R, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 5064–5074.
- [6] Lee Ventola, C. Cancer immunotherapy, part 3: Challenges and future trends. *Pharm. Therp.* 2017, 42, 514–521.
- [7] Sugie, T. Immunotherapy for metastatic breast cancer. *Chin. Clin. Oncol.* 2018, 7, 7.
- [8] Maeda, H.; Fang, J.; Inutsuka, T.; Kitamoto, Y. Vascular permeability enhancement in solid tumor: Various factors, mechanisms involved and its implications. *Int. Immunopharmacol.* 2003, 3, 319–328.
- [9] Maeda, H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: The key role of tumor-selective macromolecular drug targeting. *Adv. Enzyme Regul.* 2001, 41, 189–207.
- [10] Iyer, A. K.; Khaled, G.; Fang, J.; Maeda, H. Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting. *Drug Discov. Today* 2006, 11, 812–818.
- [11] Alba Navarro-Ocón, J. L. B. A. and A. S. Granados-Principal, Nanomedicine as a promising tool to overcome immune escape in breast cancer. *pharmaceutics*, 2022.

- [12] Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2012, 21 (3): 309-322.
- [13] Meads MB, Gatenby RA, Dalton WS. Environment-mediated drug resistance: a major contributor to minimal residual disease [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9 (9): 665-674.
- [14] Shen, L., et al., Local Blockade of Interleukin 10 and C-X-C Motif Chemokine Ligand 12 with Nano-Delivery Promotes Antitumor Response in Murine Cancers. *ACS Nano*, 2018, 12 (10): p. 9830-9841.
- [15] Zhou W, Fong Miranda Y, Min Y, et al. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25 (4): 501-515. 10.1016/j.ccr.2014.03.007.
- [16] Massagué J. TGF β in cancer. *Cell*, 2008, 134: 215-230.
- [17] Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cohen R, et al. Targeting the TGF β pathway for cancer therapy. *Pharmacol Ther*, 2015, 147: 22–31.
- [18] Fan Y, He S. The characteristics of tumor microenvironment in triple negative breast cancer [J]. *Cancer Management and Research*, 2022: 1-17.
- [19] Wormann, S. M.; Diakopoulos, K. N.; Lesina, M.; Algul, H., The Immune Network in Pancreatic Cancer Development and Progression. *Oncogene* 2014, 33, 2956-2967.
- [20] Fortis, C.; Foppoli, M.; Gianotti, L.; Galli, L.; Citterio, G.; Consogno, G.; Gentilini, O.; Braga, M., Increased Interleukin-10 Serum Levels in Patients with Solid Tumours. *Cancer Lett* 1996, 104, 1-5.
- [21] Shen, L.; Li, J.; Liu, Q.; Song, W.; Zhang, X.; Tiruthani, K.; Hu, H.; Das, M.; Goodwin, T. J.; Liu, R.; et al. Local Blockade of Interleukin 10 and C-X-C Motif Chemokine Ligand 12 with Nano-Delivery Promotes Antitumor Response in Murine Cancers. *ACS Nano* 2018, 2, 9830–9841.
- [22] Buchsbaum, R. J.; Oh, S. Y. Breast Cancer-Associated Fibroblasts: Where We Are and Where We Need to Go. *Cancers* 2016, 8, 19.
- [23] Bochet, L.; Lehuédé C.; Dauvillier, S.; Wang, Y. Y.; Dirat, B.; Laurent, V.; Dray, C.; Guet, R.; Maridonneau-Parini, I.; Le Gonidec, S.; et al. Adipocyte-derived fibroblasts promote tumor progression and contribute to the desmoplastic reaction in breast cancer. *Cancer Res*. 2013, 73, 5657–5668.
- [24] Raz, Y.; Cohen, N.; Shani, O.; Bell, R. E.; Novitskiy, S. V.; Abramovitz, L.; Levy, C.; Milyavsky, M.; Leider-Trejo, L.; Moses, H. L.; et al. Bone marrow-derived fibroblasts are a functionally distinct stromal cell population in breast cancer. *J. Exp. Med.* 2018, 215, 3075–3093.
- [25] Mollah, F. and P. Varamini, Overcoming Therapy Resistance and Relapse in TNBC: Emerging Technologies to Target Breast Cancer-Associated Fibroblasts. *Biomedicines*, 2021. 9 (12): p. 1921.
- [26] Sitia, L., et al., Selective Targeting of Cancer-Associated Fibroblasts by Engineered H-Ferritin Nanocages Loaded with Navitoclax. *Cells*, 2021. 10 (2): p. 328.
- [27] A. H. Zahalka, P. S. Frenette, Nerves in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 20, 143–157 (2020).
- [28] Q. Zhao, Y. Yang, X. Liang, G. Du, L. Liu, L. Lu, J. Dong, H. Han, G. Zhang, The clinicopathological significance of neurogenesis in breast cancer. *BMC Cancer* 14, 484 (2014).
- [29] M. Mancino, E. Ametller, P. Gascon, V. Almendro, The neuronal influence on tumor progression. *Biochim. Biophys. Acta* 1816, 105–118 (2011).
- [30] C. Liebig, G. Ayala, J. A. Wilks, D. H. Berger, D. Albo, Perineural invasion in cancer: A review of the literature. *Cancer* 115, 3379–3391 (2009).
- [31] Kaduri, M., et al., Targeting neurons in the tumor microenvironment with bupivacaine nanoparticles reduces breast cancer progression and metastases. *Science Advances*, 2021. 7 (41): p. eabj5435-eabj5435.
- [32] Sheen MR, Lizotte PH, Toraya-Brown S, Fiering S. Stimulating antitumor immunity with nanoparticles. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2014; 6: 496–505.
- [33] Lizotte, P. H.; Wen, A. M.; Sheen, M. R.; Fields, J.; Rojanasopondist, P.; Steinmetz, N. F.; Fiering, S. In situ vaccination with cowpea mosaic virus nanoparticles suppresses metastatic cancer. *Nat. Nanotechnol.* 2016, 11, 295–303.
- [34] Zhu, L.; Kalimuthu, S.; Oh, J. M.; Gangadaran, P.; Baek, S. H.; Jeong, S. Y.; Lee, S. W.; Lee, J.; Ahn, B. C. Enhancement of antitumor. potency of extracellular vesicles derived from natural killer cells by IL-15 priming. *Biomaterials* 2019, 190–191, 38–50.
- [35] Alizadeh D, Zhang L, Hwang J, Schluep T, Badie B. *Nanomedicine*.
- [36] Jackson H, Muhammad O, Daneshvar H, Nelms J, Popescu A, Vogelbaum MA, Bruchez M, Toms SA. *Neurosurgery*. 2007; 60: 524.
- [37] Lewis C, Leek R, Harris A, McGee J. *J Leuk Bio.* 1995; 57: 747.
- [38] Dreaden, E., et al. (2012). "Small molecule-gold nanorod conjugates selectively target and induce macrophage cytotoxicity towards breast cancer cells." 8 (18): 2819-2822.

- [39] Kopecka, J.; Porto, S.; Lusa, S.; Gazzano, E.; Salzano, G.; Pinzón-Daza, M. L.; Giordano, A.; Desiderio, V.; Ghigo, D.; De Rosa, G.; et al. Zoledronic acid-encapsulating self-assembling nanoparticles and doxorubicin: A combinatorial approach to overcome simultaneously chemoresistance and immunoresistance in breast tumors. *Oncotarget* 2016, 7, 20753–20772.
- [40] BRAHMER J R, TYKODI S S, CHOW L Q, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366 (26): 2455-2465.
- [41] DONG H, STROME S E, SALOMAO D R, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion [J]. *Nat Med*, 2002, 8 (8): 793-800.
- [42] DE MAESENEER D J, DELAFONTAINE B, ROTTEY S. Checkpoint inhibition: new treatment options in urologic cancer [J]. *Acta Clin Belg*, 2017, 72 (1): 24-28.
- [43] BLANK C, BROWN I, PETERSON A C, et al. PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8+ T cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64 (3): 1140-1145.
- [44] 李瑛, 范忠义, 尤文叶, et al. PD-1/PD-L1 信号通路在肿瘤免疫逃逸中的作用及临床意义 [J]. *解放军医学院学报*, 2015, (07): 762-765.
- [45] PHILIPS G K, ATKINS M. Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies [J]. *International Immunology*, 2015, 27 (1): 39-46.
- [46] 邓颖莎. 人 PD-1 胞外段表达及其纳米抗体的筛选 [D]. 广东:暨南大学, 2019.
- [47] Miao, L.; Wang, Y.; Lin, C. M.; Xiong, Y.; Chen, N.; Zhang, L.; Kim, W. Y.; Huang, L. Nanoparticle modulation of the tumor microenvironment enhances therapeutic efficacy of cisplatin. *J. Control. Release* 2015, 217, 27-41.
- [48] Liu X, Zhou M, Mei L, et al. Key roles of necroptotic factors in promoting tumor growth [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (16): 22219-22233.
- [49] Zielinska E, Zauszkiewicz-Pawlak A, Wojcik M, et al. Silver nanoparticles of different sizes induce a mixed type of programmed cell death in human pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (4): 4675-4697.
- [50] 陈文娟. 基于聚合物载体的乳腺癌疫苗的设计和实验研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2020.
- [51] Yang, B., Jeang, J., Yang, A., Wu, T. C., & Hung, C. F. (2014). DNA vaccine for cancer immunotherapy. *Hum Vaccin Immunother*, 10 (11), 3153-3164.
- [52] Norell H, Poschke I, Charo J, et al. Vaccination with a plasmid DNA encoding HER-2/neu together with low doses of GM-CSF and IL-2 in patients with metastatic breast carcinoma: a pilot clinical trial. *J Transl Med* 2010; 8: 53.
- [53] Mittendorf E. A., Clifton G. T., Holmes J. P., Schneble E., Van Echo D., Ponniah S., Peoples G. E. Final report of the phase I/II clinical trial of the E75 (nelipepimut-S) vaccine with booster inoculations to prevent disease recurrence in high-risk breast cancer patients [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25 (9): 1735-1742.
- [54] Qian CY, Liu XL, Xu Q, et al. Recent progress on the versatility of virus-like particles [J]. *Vaccines*, 2020, 8: 14.
- [55] Palladini A, Thrane S, Janitzek CM, et al. Virus-like particle display of HER2 induces potent anti-cancer responses [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1408749.
- [56] Campbell, K., Young, V. L., Donaldson, B. C., Woodall, M. J., Shields, N. J., Walker, G. F., Young, S. L. (2021). Delivering Two Tumour Antigens Survivin and Mucin-1 on Virus-Like Particles Enhances Anti-Tumour Immune Responses. *Vaccines (Basel)*, 9 (5).
- [57] Criscitiello C, Corti C, Pravettoni G, Curigliano G. Managing side effects of immune checkpoint inhibitors in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2021; 162: 103354.
- [58] Curigliano G, Bagnardi V, Ghioni M, et al. Expression of tumor-associated antigens in breast cancer subtypes. *Breast* 2020; 49: 202e9.
- [59] Belli C, Trapani D, Viale G, et al. Targeting the microenvironment in solid tumors. *Cancer Treat Rev* 2018; 65: 22e32.
- [60] Bryson, P. D., Han, X., Truong, N., & Wang, P. (2017). Breast cancer vaccines delivered by dendritic cell-targeted lentivectors induce potent antitumor immune responses and protect mice from mammary tumor growth. *Vaccine*, 35 (43), 5842-5849.
- [61] LI M, GAO Y, YUAN Y, et al. One-step formulation of targeted aggregation-induced emission dots for image-guided photodynamic therapy of cholangiocarcinoma [a J]. *ACS Nano*, 2017, 11 (4): 3922-3932.
- [62] CHENG Y, CHENG H, JIANG C, et al. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy [y J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8785-8792.
- [63] Chen X, Liu Y, Bu W. *Sci Sin-Chim*, 2020, 50: 159-172.
- [64] LUONGO M, BRIGIDA A L, MASCOLO L, et al. Possible therapeutic effects of ozone mixture on hypoxia in tumor development [t J]. *Anticancer Res*, 2017, 37 (2): 425-436.

- [65] ZHANG R, SONG X, LIANG C, et al. Catalase-loaded cisplatin prodrug-constructed liposomes to overcome tumor hypoxia for enhanced chemo-radiotherapy of cancer [J]. *Biomaterials*, 2017, 138: 13-21.
- [66] Tang Z, Liu Y, He M, Bu W. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 946-956.
- [67] Tang Z, Zhao P, Wang H, Liu Y, Bu W. *Chem Rev*, 2021, 121: 1981-2019.
- [68] Ranji-Burachaloo H, Gurr PA, Dunstan DE, Qiao GG. *ACS Nano*, 2018, 12: 11819-11837.
- [69] Huai Y, Hossen MN, Wilhelm S, Bhattacharya R, Mukherjee P. *Bioconj Chem*, 2019, 30: 2247-2263.
- [70] Huang Y, Ren J, Qu X. *Chem Rev*, 2019, 119: 4357-4412.
- [71] Yang Y, Zeng W, Huang P, Zeng X, Mei L. *View*, 2021, 2: 20200042888.
- [72] Liu J, Wu M, Pan Y, Duan Y, Dong Z, Chao Y, Liu Z, Liu B. *Adv Funct Mater*, 2020, 30: 1908865.
- [73] Liu Y, Wu J, Jin Y, Zhen W, Wang Y, Liu J, Jin L, Zhang S, Zhao Y, Song S, Yang Y, Zhang H. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1904678.
- [74] Chen Y, Li ZH, Pan P, Hu JJ, Cheng SX, Zhang XZ. *Adv Mater*, 2020, 32: 2001452.
- [75] Kim J, Cho HR, Jeon H, Kim D, Song C, Lee N, Choi SH, Hyeon T. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 10992-10995.
- [76] Lin LS, Song J, Song L, Ke K, Liu Y, Zhou Z, Shen Z, Li J, Yang Z, Tang W, Niu G, Yang HH, Chen X. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 4902-4906.
- [77] Wang Z, Li Z, Sun Z, Wang S, Ali Z, Zhu S, Liu S, Ren Q, Sheng F, Wang B, Hou Y. *Sci Adv*, 2020, 6: eabc8733.
- [78] Dong S, Dong Y, Jia T, Liu S, Liu J, Yang D, He F, Gai S, Yang P, Lin J. *Adv Mater*, 2020, 32: 2002439.
- [79] Li S, Shang L, Xu B, Wang S, Gu K, Wu Q, Sun Y, Zhang Q, Yang H, Zhang F, Gu L, Zhang T, Liu H. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 12624-12631.
- [80] Ma B, Wang S, Liu F, Zhang S, Duan J, Li Z, Kong Y, Sang Y, Liu H, Bu W, Li L. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 849-857.
- [81] 孙思佳, 吴頔, 张贾鹤, 等. 超小型锰掺杂金纳米簇及微环境响应的肿瘤可视化诊疗 [J]. *中国科学 (化学)*, 2021, 51 (9): 1259-1268.
- [82] Jordan A, Scholz R, Wust P, et al. Effects of magnetic fluid hyperthermia (MFH) on C3 H mammary carcinoma in vivo [J]. *Int J Hyperthermia*, 1997, 13 (6): 587-605.
- [83] Harrington KJ, et al. Effective targeting of solid tumors in patients with locally advanced cancers by radiolabeled pegylated liposomes [J]. *Clin Cancer Res*. 2001; 7: 243-254.
- [84] Koukourakis MI, et al. High intratumoural accumulation of stealth liposomal doxorubicin (Caelyx) in glioblastomas and in metastatic brain tumours [J]. *Br J Cancer*. 2000; 83: 1281-1286.
- [85] Lee H, et al. A gradient-loadable ^{64}Cu -chelator for quantifying tumor deposition kinetics of nanoliposomal therapeutics by positron emission tomography [J]. *Nanomedicine*. 2015; 11: 155-165.