

基于细胞膜和细胞的仿生递药系统 改善肿瘤免疫治疗效果

尹力玄^{1,2} 王爱萍^{1*} 李亚平^{3*} 郎天群^{2*}

(¹烟台大学药学院, 烟台 264003; ²临港实验室, 上海 200031; ³中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要 肿瘤免疫治疗已成为各种原发性和转移性癌症的有效治疗方式。纳米药物递送系统(nano drug delivery system, NDDS)具有生物利用度高、靶向性好的优点,在肿瘤靶向治疗和免疫治疗等方面受到广泛关注。然而,传统的NDDS在临床应用中存在易被免疫系统识别和清除、跨越生物屏障能力差等问题。仿生药物递送系统(biomimetic drug delivery system, BDDS)以其良好的生物相容性和较低的免疫原性成为新一代极具前景的治疗策略。哺乳动物的细胞(如红细胞、血小板、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和T淋巴细胞等)及其细胞膜源于母体生物系统,具有独特的生物学特征,成为研究的热点。该文综述了近年来基于细胞膜和细胞的BDDS在改善肿瘤免疫治疗中的最新进展,重点介绍了这些BDDS的构建方式、表征手段和应用研究,并对其在改善肿瘤免疫治疗效果领域面临的挑战及未来的发展进行了讨论。

关键词 细胞; 细胞膜; 仿生递药系统; 肿瘤免疫治疗

Enhancing the Efficiency of Tumor Immunotherapy via a Biomimetic Drug Delivery System based on Cell Membrane and Cells

YIN Lixuan^{1,2}, WANG Aiping^{1*}, LI Yaping^{3*}, LANG Tianqun^{2*}

(¹School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China; ²Lingang Laboratory, Shanghai 200031, China;

³Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract Tumor immunotherapy has emerged as an effective treatment for various types of primary and metastatic cancers. NDDS (nanoparticle drug delivery system) possesses advantages of high bioavailability and excellent targeting ability, arousing widespread attention in areas such as tumor-targeted therapy and immunotherapy. However, there are limitations with traditional NDDS in clinical applications, such as easy recognition and clearance by the immune system and poor ability to cross biological barriers. To address these challenges, BDDS (biomimetic drug delivery system), due to their good biocompatibility and lower immunogenicity, has emerged as a highly promising therapeutic strategy. The cell membrane or mammalian cells (such as red blood cells, platelets, monocytes, macrophages, neutrophils and T lymphocytes, etc.) are derived from the maternal biological system and exhibit unique biological characteristics, which have become the focus of research. In this review, the latest progress of BDDS based on cell membrane and cells in improving tumor immunotherapy in recent years is reviewed. The construction methods, characterization techniques, and application studies of these BDDSs have been empha-

收稿日期: 2023-10-31 接受日期: 2023-12-26

上海市启明星项目(扬帆专项)(批准号: 22YF1460500)资助的课题

*通信作者。Tel: 18553503188, E-mail: wangaipingytu@163.com; Tel: 18616826910, E-mail: ypli@simm.ac.cn; Tel: 13671563657, E-mail: langtq@lglab.ac.cn

Received: October 31, 2023 Accepted: December 26, 2023

This work was supported by the Sailing Plan of Shanghai (Grant No.22YF1460500)

*Corresponding authors. Tel: +86-18553503188, E-mail: wangaipingytu@163.com; Tel: +86-18616826910, E-mail: ypli@simm.ac.cn; Tel: +86-13671563657, E-mail: langtq@lglab.ac.cn

sized. In addition, the challenges and future development in improving the efficacy of tumor immunotherapy are also discussed.

Keywords cell; cell membrane; biomimetic drug delivery system; tumor immunotherapy

作为致死率最高的疾病之一,癌症长期以来对人类健康构成巨大危害和挑战。2020年,全球约有1 930万新增病例以及1 000万死亡病例。预计在2040年,全球将新增2 840万癌症病例^[1]。经典的肿瘤治疗手段主要包括手术治疗、放射治疗及化疗等,这些治疗方式往往存在严重的副作用,且复发率高,易出现耐药性。肿瘤免疫疗法(cancer immunotherapy, CIT)已成为临床治疗癌症的重要手段,其主要应用免疫学原理和方法,激活、增强人体免疫细胞的功能,进而抑制或杀伤肿瘤细胞。与传统的化疗和放射治疗相比,CIT具有疗效显著、毒副作用小和复发率低等优势。目前,多种肿瘤免疫治疗策略已应用于临床,例如单克隆抗体、过继细胞转移、免疫检查点阻断和疫苗等^[2]。尽管免疫疗法已成为临床治疗癌症的有效策略,但仅有少数患者对该疗法响应,且在治疗过程中会引发自身免疫副作用,导致免疫细胞攻击健康组织^[3]。免疫抑制的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是限制免疫疗法疗效的主要原因^[4],其主要通过影响细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的激活和渗透发挥作用^[5]。此外,肿瘤异质性^[6]、肿瘤耐药性^[7]等都对肿瘤免疫治疗提出了严峻的挑战。多数免疫治疗药物如多肽、单抗、基因和细胞等都属于生物大分子药物,如何将这些药物递送到肿瘤组织且保持药物活性发挥其疗效也是免疫疗法需要解决的问题。因此,亟需开发更加安全、可控的肿瘤免疫疗法,促进抗肿瘤免疫应答,进而改善恶性肿瘤治疗效果。

随着纳米技术和纳米医学的快速发展,纳米药物递送系统(nano drug delivery system, NDDS)作为一种提高药物递送效率、改善肿瘤免疫治疗的策略受到广泛关注。其不仅能够提高疏水性药物的溶解性、提高药物的生物利用度,还可以延长药物在体内的循环时间、改善药物在体内的分布等^[8]。此外,NDDS可实现免疫治疗生物大分子类药物的体内递送及多种免疫调节化合物的共递送。尽管NDDS可以借助抗体、多肽等进行各种表面修饰,从而实现主动靶向肿瘤组织,但其临床应用仍面临诸多挑战。例如,在临床前研究中,NDDS可靶向递送至肿瘤部

位发挥疗效,但在临床实践中,由于难以穿透的生物屏障,绝大多数NDDS产生脱靶效应^[9]。此外,由人工合成载体材料构建的NDDS,存在生物相容性差、血清稳定性低及肿瘤细胞摄取有限等问题^[10]。虽然在各种荷瘤小鼠模型中已经证实,通过增强的渗透性和滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应可以实现NDDS在肿瘤中优先积聚;但另有证据表明,平均只有0.7%的纳米药物最终进入肿瘤组织^[11]。尽管通过聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰可以延缓清除时间,但体内反复给药会诱导其特异性抗体IgM的产生,进而加速NDDS的清除^[12]。因此,难以跨越的生物屏障及不可避免的免疫原性是限制NDDS临床治疗肿瘤的两大问题。

受自然界生物系统的启发,仿生递送技术出现并引起广泛关注。仿生递送技术是指将从人体、动物和微生物中提取纯化的内源性物质与药物载体材料相结合构建新型仿生药物递送系统(biomimetic drug delivery system, BDDS)的策略^[2]。细胞作为生物体内蛋白质和分子的天然载体,具有低毒性和低免疫原性^[13]。基于细胞结构的BDDS有望成为传统NDDS的优秀替代品,应用于肿瘤免疫治疗领域。通过将细胞膜包覆在NDDS表面,或者将活细胞与NDDS共孵育,制备载药细胞,可将NDDS良好的物化性质与天然源细胞的生物功能相结合(图1)。细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)是由细胞释放的各种具有膜结构的囊泡,广义上属于细胞膜范畴。与传统NDDS相比,基于细胞膜和细胞的BDDS具有生物相容性好、免疫原性低、靶向性强、毒性小等优点^[14]。此外,由于细胞通过其膜上的糖蛋白和糖脂在体内执行各种特定的功能,细胞膜包覆的NPs具有继承源细胞免疫逃逸、长循环和识别能力的潜能^[15]。因此,基于细胞膜和细胞的BDDS有望增强药物的有效性和安全性,进而使患者获得持久的、增强的抗肿瘤免疫应答。在本综述中,我们首先对基于细胞膜和细胞BDDS的制备及表征过程进行了总结,随后分别介绍了基于细胞膜和细胞的BDDS改善肿瘤免疫治疗效果的应用;此外,我们还对基于细菌、真菌和病毒的药物递送技术进行了阐述。最后,本综述对

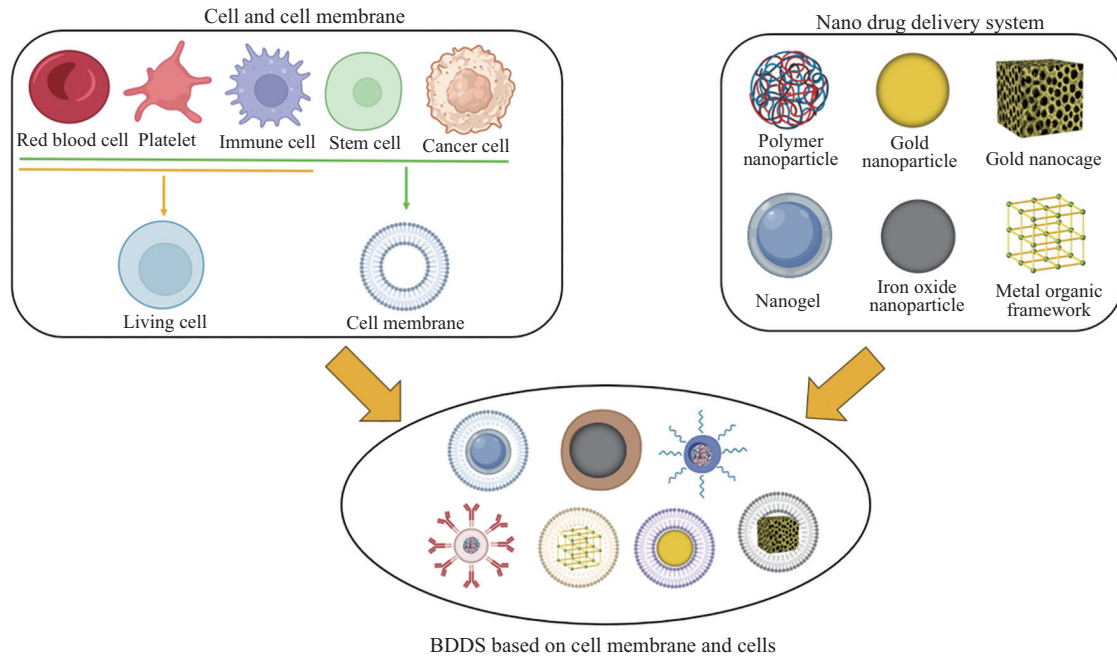


图1 基于细胞膜和细胞的仿生药物递送系统的类型和来源示意图

Fig.1 Schematic illustration of types and sources of biomimetic drug delivery systems based on cell membrane and cells

基于细胞膜和细胞BDDS的临床发展情况进行了归纳,并讨论了其未来的挑战和发展前景。

1 基于细胞膜和细胞的仿生递药系统的构建及表征

1.1 基于细胞膜和细胞的仿生递药系统的构建

1.1.1 细胞分离及细胞膜提取 从全血中分离细胞是最常见的细胞获得方法,如红细胞(red blood cell, RBC)、白细胞、血小板及单核细胞等;此外,中性粒细胞、巨噬细胞、NK细胞等免疫细胞主要从骨髓中提取获得;肿瘤细胞由细胞系传代培养获得;干细胞一般从动物组织中分离获取。目前,常用聚蔗糖(Ficoll)密度梯度离心法分离和纯化外周血单个核细胞。该离心法通过比重为 1.077 ± 0.001 的聚蔗糖-泛影葡胺分层液进行。红细胞、粒细胞比重大,离心后沉于管底;淋巴细胞和单核细胞比重小于或等于分层液,离心后漂浮于分层液的液面,可能存在少部分细胞悬浮于分层液中。与之类似,分离纯化淋巴细胞采取Percoll非连续密度梯度沉降法。Percoll是一种包有乙烯吡咯烷酮的硅胶颗粒,可形成密度高达 1.3 g/mL 的溶液,采用预先形成的密度梯度在低离心力($200 \sim 1\,000 \times g$)下于较短时间内可达到满意的细胞分离效果。此外,Percoll广泛应用于分离亚细胞、细菌及病毒,还可将受损细胞及其碎

片与完整的活细胞分离。对于分离外泌体(exosome, EXO),超速离心法应用最为广泛。该方法通常需要多个离心步骤:包括在低离心力($300 \times g$)下清除细胞碎片,超高速离心力($100\,000 \times g$)下沉淀和浓缩外泌体^[16]。

细胞膜包覆纳米粒子的过程主要包括两个步骤:提取细胞膜及膜与纳米粒子内核的融合^[2]。提取细胞膜首先通过离心法去除细胞培养液或血浆中不需要的成分,随后对细胞进行机械或化学破坏,以分离细胞膜及其他细胞器,最后经差速离心法或梯度离心法提纯。无核细胞与具核细胞的膜提取过程略有不同,对于无核的红细胞和血小板,首先通过离心法从全血中分离出细胞,随后红细胞通过低渗处理裂解,而血小板一般通过反复冻融循环的方法裂解,然后裂解的细胞通过高速离心法纯化,最后收集红细胞膜或血小板膜。为了保持膜蛋白的生物活性,通常在提取细胞膜的缓冲液($\text{pH}7.0 \sim 7.4$)中添加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂,并将其储存在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下^[17-18]。免疫细胞、癌细胞及干细胞等有核细胞的膜提取过程相对繁琐,并且需要更多的细胞进行细胞膜分离。首先通过低渗裂解或超声处理等使细胞裂解,得到含有细胞膜、完整细胞、细胞器及胞内生物大分子的混合物,随后通过差速离心法或不连续蔗糖梯度离心法纯化得到细胞膜。提取到的细胞膜经等离子缓

冲液清洗,再通过多孔聚碳酸酯膜以获得确定大小的细胞膜。

1.1.2 药物载药过程 目前,细胞膜包覆纳米颗粒基本上具备核壳结构。在得到纯化的膜及内核纳米颗粒后,通过不同的方法使细胞膜包覆纳米颗粒。物理挤出法是最常用的方法之一,将纳米颗粒与纯化的膜通过纳米尺寸的聚碳酸酯多孔膜反复挤出,膜结构在机械压力下被破坏并且在纳米颗粒上重建^[19]。超声处理是一种基于声学的包覆技术,在超声波能量提供的破坏力作用下,细胞膜和纳米颗粒自组装形成核壳纳米结构^[20]。与物理挤出相比,超声处理材料损失更少,易于扩大生产规模。纳米颗粒核心及细胞膜的半稳定特性,以及膜表面电荷的不对称性,有助于获得正确膜取向的稳定核-壳结构。尽管上述方法均可有效制备膜仿生纳米颗粒,但物理挤出的过程费时费力、超声处理可能会破坏内核纳米颗粒,微流控电穿孔技术的出现弥补了这些缺陷。电穿孔的微流控芯片由6个部分组成,包含2个入口、1个Y形合并通道、1个S形混合通道、1个电穿孔区域和1个出口。纳米颗粒与细胞膜分别从两个入口注入微流控芯片中,随后在S形通道完全混合。当混合物流经电穿孔区域时,两个电极之间的电脉冲可以有效地促进纳米颗粒进入细胞膜囊泡。RAO等^[21]采取该方法制备的膜仿生纳米颗粒在肿瘤诊断和治疗中显示出良好的应用潜力。

活细胞及外泌体的载药过程相对简单。对于一些疏水性小分子如紫杉醇^[22],可通过简单的共孵育过程完成载药;对于亲水性分子和大分子,由于细胞膜脂质双分子层的屏障作用,通常需要通过使用转染试剂、电穿孔、表面活性剂处理、挤出、超声和冷冻循环等方法使药物进入细胞内部。

1.2 基于细胞膜和细胞仿生递药系统的表征

确证细胞结构是否成功包覆在纳米颗粒表面是构建递送系统的关键问题。首先,通过动态光散射(dynamic light scattering, DLS)分析仪测量纳米颗粒的粒径大小和Zeta电位。由于细胞膜带负电,成功包覆细胞膜的纳米颗粒表面电荷发生改变,因此细胞膜的成功包覆体现在Zeta电位的变化^[23];同时,测量的纳米颗粒粒径增大也能够反映细胞膜的成功包覆。相较于DLS测定BDDS的粒径与电位变化,透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)被广泛用于直接观察BDDS的核壳结构,将纳

米颗粒吸附在碳涂层网格上,并用1%(w/v)的醋酸铀或磷钨酸进行负染色,脂质双分子层和膜蛋白表现出与核心纳米颗粒不同的电子密度,因此细胞膜包覆的纳米颗粒周围呈现光晕,未包覆的纳米颗粒则没有这种特征^[24-25]。

为进一步检测细胞膜包覆纳米颗粒后膜蛋白的完整性,通常采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和蛋白质印迹法(Western blot)进行检测。细胞膜是不对称结构,其正确取向对BDDS的生物功能至关重要。Western blot通过识别膜上的特征蛋白标记物进而表征BDDS^[26]。肽图谱和串联质谱等技术也可用于蛋白质的表征^[27]。此外,用特定抗体和金标抗体修饰的Dynabeads[®]也可用于确定膜的取向^[25]。对于细胞膜包覆纳米颗粒情况以及纳米颗粒偶联细胞效率的检测,可采用流式细胞仪,相对于对照细胞组的自发荧光,细胞膜包覆纳米颗粒及纳米颗粒偶联细胞的荧光强度明显增加^[28]。紫外吸收光谱法也是一种常见的表征方法,其可分别识别核心纳米颗粒和膜的吸收波长,因此二者分别表现出单一吸收模式,而膜包覆纳米颗粒则表现出双重吸收模式^[29]。

2 基于细胞膜的仿生递药系统

随着对天然细胞膜结构和功能的不断探索,构建细胞膜包覆的BDDS用于癌症治疗和诊断已成为近期研究的热点。通过将不同类型细胞膜(如红细胞膜、血小板膜、免疫细胞膜、干细胞膜、肿瘤细胞膜、杂化细胞膜及细胞外囊泡等)包覆于合成的纳米颗粒(如聚合物纳米粒子、金属纳米粒子和二氧化硅纳米粒子等)表面,已经开发出多种具有独特特征和功能的细胞膜包覆的BDDS^[30]。

2.1 红细胞膜

红细胞结构简单、成本低并且易获取,是研究最广泛的血细胞。血红蛋白是红细胞细胞质中含量丰富的一种含铁蛋白质,能够结合氧气,红细胞通过血红蛋白向组织输送氧气。红细胞还参与血液中营养物质和代谢废物的运输。以红细胞为载体的BDDS可显著改善药物的药动学及药效学特性,调节机体对药物的免疫应答。此外,修饰后的红细胞可诱导免疫耐受,便于药物递送^[31]。

利用红细胞膜构建仿生药物递送系统的策略

由ZHANG等^[32]率先提出,该团队用小鼠红细胞膜包覆聚乳酸-羟基乙酸[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]纳米颗粒,并将负载细胞膜荧光探针1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶二碳菁高氯酸盐(1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine perchlorate, DID)的纳米颗粒通过尾静脉注射到小鼠体内,结果显示,与作为阴性对照的聚乙二醇化纳米颗粒相比,红细胞膜包覆的PLGA纳米颗粒血浆半衰期增加了150%,并且其在体内的循环时间显著增加,直到注射后72 h,仍可在血液中检测到。这项研究证明了将天然细胞膜及其相关功能转移到纳米颗粒表面的方法具有应用潜力。然而,细胞膜包覆纳米颗粒存在技术挑战。具体而言,细胞膜包覆到纳米颗粒的过程是随机的,可能会出现膜蛋白对颗粒表面错误识别,导致细胞膜外侧结合到纳米颗粒,进而导致细胞膜不能发挥原有的生物学功能。XIE等^[33]提出了一种“分子亲和力”策略,首先制备连接多肽配体的阳离子脂质体,然后利用带3蛋白胞内结构域与脂质体表面多肽的相互作用将红细胞膜包覆到脂质体。带3蛋白是细胞膜表面一类关键的跨膜蛋白,此蛋白具有特殊的片段及结构域,能够与各种细胞质蛋白相互作用。与传统的聚乙二醇化脂质体相比,该体系给药后的药物浓度半衰期可延长1倍。

2.2 血小板膜

血小板(platelet, PLT)是由骨髓中的巨核细胞分化而来的无核细胞,平均粒径为2~5 μm ,主要功能为凝血、止血和维持血管的完整性。其表面有完整的细胞膜,膜表面有糖衣,可以吸附血浆蛋白和凝血因子。

BAHARAK等^[34]利用血小板膜负载TLR7激动剂雷西莫特(Resiquimod, R848)构建了一种肿瘤靶向纳米粒。该递药系统利用R848激活树突状细胞(dendritic cells, DC)和T细胞,诱导肿瘤特异性T细胞免疫,血小板膜涂层能够增强纳米粒与TME中各种细胞的相互作用,从而提高R848在肿瘤部位和周围淋巴组织中的生物利用度。在小鼠结直肠癌模型中,低剂量纳米粒给药几乎完全抑制小鼠肿瘤生长,显著增强抗肿瘤免疫活性,并发挥长期肿瘤免疫作用。最近的一项研究中,CHEN等^[35]设计了一种基于血小板膜的共载阿霉素(doxorubicin, DOX)和人参皂苷(ginsenoside, Rg3)的仿生纳米粒用于急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的化疗与免疫治

疗。血小板膜上CD47相关信号阻止纳米粒被网状内皮系统清除,显著延长纳米粒半衰期;此外,血小板膜能通过P-选择素(CD62p)/CD44的相互作用,发挥AML细胞靶向作用。

2.3 巨噬细胞膜

巨噬细胞是一类源于单核细胞的天然免疫细胞,肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)广泛存在于肿瘤免疫微环境中,与肿瘤的形成、发展和转移密切相关。TAMs可分为两个表型,M1和M2。其中,M1型具有激活免疫反应,抑制肿瘤生长的作用;M2型则能够促肿瘤生长,具体包括:协助免疫抑制性TME形成,刺激肿瘤组织血管生成,促进肿瘤细胞内渗、侵袭和转移^[36]。由于巨噬细胞在肿瘤的发生和发展中扮演重要角色,因此已被用作癌症治疗与诊断的靶标。

ZHANG等^[37]设计了一种TAM膜包覆的活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)敏感的喜树碱(camptothecin, CPT)前药纳米粒。该系统通过“ROS触发肉桂醛(Cinnamaldehyde, CA)/喜树碱(CA/CPT)释放和CA/CPT介导ROS产生”的正反馈循环,诱导肿瘤免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)。巨噬细胞膜不仅可以通过VCAM1/ $\alpha 4\beta 1$ 整合素的相互作用靶向原发肿瘤和肺转移结节,还可以吸附肿瘤细胞分泌的集落刺激因子-1(colony-stimulating factor 1, CSF-1)干扰TAMs与肿瘤细胞的相互作用。WANG等^[38]设计了原代巨噬细胞膜包覆的共载程序性细胞死亡配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)和转化生长因子- β 抑制剂Galunisertib的金纳米笼。该体系实现了光热治疗(photothermal therapy, PTT)联合免疫治疗对结直肠癌的协同作用。细胞摄取及体内分布结果均显示,巨噬细胞膜使该递送系统逃避网状内皮系统的免疫监视,促进其主动靶向肿瘤细胞并在肿瘤部位积聚。综上所述,巨噬细胞膜包覆纳米粒策略可以提高纳米粒的靶向性,是调节肿瘤微环境和抗肿瘤联合治疗的有效手段。

2.4 T淋巴细胞膜

T淋巴细胞是人体免疫反应的重要组成成分,T细胞被抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)激活后,可以直接识别外源性抗原并诱导其凋亡。此外,T细胞可以释放各种淋巴因子和细胞因子,增强免疫反应。

LI等^[39]开发了一种改性T细胞膜包覆的肿瘤微环境响应性纳米颗粒,将透明质酸(hyaluronic acid, HA)二硫键-姜黄素/维生素E琥珀酸酯通过苯硼酸(phenylboronic acid, PBA)结合到修饰的T细胞膜上。在微酸性的肿瘤微环境中, PBA从HA中解离,呈现膜逃逸效应,通过CD44受体实现肿瘤靶向给药。此外,释放的T细胞膜碎片作为一种程序性细胞死亡-1(programmed cell death 1, PD-1)抗体选择性地与肿瘤细胞的PD-L1结合,提高CD8⁺T细胞浸润水平,增强抗肿瘤免疫作用。KANG等^[40]开发了一种T细胞膜包覆的PLGA纳米颗粒用于肿瘤免疫治疗,并取得了良好的治疗效果。该体系不仅可以通过T细胞膜衍生蛋白靶向肿瘤,还可通过释放抗癌分子、诱导Fas配体介导的细胞凋亡及清除转化生长因子- β 1和PD-L1进而杀伤肿瘤细胞。

2.5 中性粒细胞膜

中性粒细胞是人外周血中含量最丰富的白细胞,占健康人体内白细胞总数的40%~60%。作为先天免疫的重要组成部分,中性粒细胞是最早对抗病原体的细胞之一^[41-42]。因此,中性粒细胞被认为是治疗癌症的潜在药物载体。

中性粒细胞的髓样前体细胞可以介导细胞转移前生态位的形成^[43]。肿瘤在生态位形成后,通过粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)介导的途径招募中性粒细胞和循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs),并通过黏附分子如淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1)、L-选择素和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)与其配体结合,促使CTCs向转移前的生态位移动^[44]。KANG等^[45]开发了一种基于中性粒细胞膜的PLGA纳米颗粒,该系统完整地保留了中性粒细胞膜相关蛋白的生物结合特性。与无中性粒细胞膜包覆的对照组相比,该系统在体外对4T1肿瘤中免疫细胞的募集能力显著增强,在体内对CTCs和转移前生态位的靶向更加有效。在小鼠4T1肿瘤肺转移模型中,该仿生纳米颗粒诱导细胞凋亡率为84.3% \pm 7.4%,较无中性粒细胞膜包覆组增加1倍。此外,治疗结束时仿生纳米颗粒组转移灶减少87.2%。因此,该基于中性粒细胞膜的BDDS为肿瘤转移的预防和治疗提供先进的策略。

XIA等^[46]构建了一种新型海绵状中性粒细胞膜

包覆的BDDS,该系统从中性粒细胞膜上继承相关膜受体,从而有效地将其吸引到术后炎症部位。通过抑制髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)的募集和功能进而抑制肿瘤的复发和转移,显著缓解4T1肿瘤切除模型的免疫抑制,从而增强抗肿瘤免疫功能,最终有效抑制肿瘤复发。该基于中性粒细胞膜的药物递送系统具有临床转化前景,为改善恶性肿瘤术后疗效,延长患者生存期提供新策略。

2.6 干细胞膜

干细胞是一类永生的具有自我更新能力的细胞,它们能够产生至少一种类型的高度分化的新细胞。干细胞膜(stem cell membrane, SCM)包覆纳米颗粒已被广泛应用于抗肿瘤免疫治疗。MU等^[47]构建了一种DOX和PD-L1 siRNA联合应用的SCM伪装聚多巴胺(polydopamine, PDA)纳米颗粒,用于前列腺癌(prostate cancer, PCa)的骨转移靶向递送。研究发现,SCM包覆可显著提高纳米颗粒的肿瘤细胞摄取效率和肿瘤靶向能力,并且在SCM的免疫伪装作用下,纳米颗粒可以迁移到肿瘤部位,有效地抑制肿瘤生长。体内实验结果显示,该纳米颗粒较游离DOX在血液中的循环时间延长,从而在肿瘤组织中实现更多的药物蓄积。该研究为开发用于前列腺癌骨转移治疗的仿生多功能纳米粒提供了有效的策略。

近年来,具有促肿瘤生长、体内循环时间长等特点的间充质干细胞引起了研究人员的广泛关注^[48-50]。XIE等^[51]设计了一种TAT多肽修饰的人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUC-MSC)膜包覆负载化疗药物紫杉醇(paclitaxel, PTX)的可生物降解二氧化锰(hollow manganese dioxide, HMnO₂)纳米颗粒,用于非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的系统治疗。研究发现,由于MSC膜的作用,该递药系统能够特异性地靶向A549细胞,细胞摄取量是无MSC膜包覆纳米颗粒的5.6倍。此外,小鼠静脉注射给药0.5 h后,该递药系统组血浆中的PTX浓度是游离PTX组的1.99倍,是无MSC膜包覆对照组的1.34倍。PTX在C57BL/6荷瘤小鼠体内的生物分布结果显示,给药24 h后,递药系统组的肿瘤组织中PTX浓度为4.01 μ g/g,是游离PTX组的4.05倍,是无MSC膜包覆对照组的1.93倍。值得注意的是,该递药系统在血清和远处肿瘤中诱导了高水平的干扰素- β 、肿瘤坏死因子- α 和白介素

6(interleukin-6 IL-6)产生。这表明该递药系统可增强全身免疫反应,抑制肿瘤复发和转移。

2.7 肿瘤细胞膜

肿瘤细胞是一类可以在体外培养并且无限增殖的恶性细胞。由于其具有免疫逃逸、抗细胞凋亡及同源靶向等能力,在肿瘤免疫治疗中,肿瘤细胞膜也可作为膜仿生递药系统的重要组成部分^[52]。肿瘤细胞膜仿生纳米粒不仅保留了肿瘤特异性抗原,还能够提高同源靶向能力,极大丰富了肿瘤免疫治疗的策略。因此,近年来利用肿瘤细胞膜作为药物递送载体在肿瘤免疫治疗领域得到了广泛的研究。

SHANG等^[53]设计并制备了一种PTX和白介素2(interleukin-2, IL-2)共负载的pH响应性肿瘤细胞膜仿生纳米凝胶。该系统具有良好的稳定性和生物相容性,并且可在酸性肿瘤微环境中快速响应并释放药物。小鼠静脉注射给药后测定血浆中PTX和IL-2的浓度,0.5 h时PTX浓度和IL-2浓度分别是游离PTX和IL-2的1.90倍和1.93倍。此外,当到达酸性肿瘤微环境时,PTX和IL-2快速释放并引起ICD效应,从而促进DC的成熟,激活抗肿瘤免疫应答。该研究有望为加强针对三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)的化疗协同免疫治疗搭建新的递送平台。声动力疗法(sonodynamic therapy, SDT)已成为增强抗原提呈能力的潜在策略。LUO等^[54]利用乳腺癌4T1细胞膜包覆三苯基磷(triphenylphosphonium, TPP)修饰的金属纳米颗粒。该纳米颗粒被肿瘤细胞摄取后可靶向线粒体,在超声波作用下诱导肿瘤细胞ICD。同时,释放的Toll样受体(Toll-like receptor, TLR) R837可促进DC细胞成熟。此外,该纳米颗粒能够在体内与细胞毒性T淋巴相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)抗体协同作用,逆转免疫抑制的微环境,增强抗肿瘤免疫能力。

2.8 杂化细胞膜

不同种类的细胞膜具有各自特异的生物功能,将多种细胞膜整合为一个整体,即可形成杂化细胞膜。杂化细胞膜为膜仿生纳米递药系统的构建提供更加方便、灵活的设计方案。杂化膜可通过搅拌、冰浴或超声波处理获得^[55],杂化膜包覆纳米颗粒可通过物理挤压、超声波或微流控等方法制备^[56]。此前,由血小板膜和红细胞膜组成的杂化膜被用于包覆PLGA纳米颗粒。通过荧光显微镜观察到仿生纳

米颗粒促进了两种染料的共聚。这表明杂化膜成功包覆纳米颗粒,并呈现独特的核壳结构^[23]。

WANG等^[57]设计了一种基于红细胞-癌细胞杂化膜的pH响应性葡聚糖接枝聚组氨酸共聚物胶束,该体系负载集落刺激因子-1受体(colony stimulating factor 1 receptor, CSF-1R)抑制剂BLZ-945以靶向TAMs用于肿瘤免疫治疗。在酸性肿瘤微环境中,该体系表现出膜逃逸效应,便于与TAMs的识别和相互作用,进而促进TAMs耗竭。此外,该体系还通过促进CD8⁺T细胞浸润逆转肿瘤免疫微环境,4T1乳腺癌肿瘤抑制率为64%,体现出肿瘤免疫治疗潜力。

杂化细胞膜仿生技术不仅能够调节肿瘤免疫微环境,还可用于化学/免疫治疗、光热/免疫治疗等联合抗肿瘤治疗的研究中。ZANG等^[58]将肿瘤细胞和活化成纤维细胞的杂化膜包覆共载PTX和甘氨酸抑制剂PFK15的纳米颗粒。该系统可以同时靶向肿瘤细胞和肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF),且PFK15同时阻断两者的糖酵解途径,进而增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。此外,该杂化膜仿生递药系统显著减少肿瘤微环境中乳酸的产生,进而激活免疫反应,增强抗肿瘤作用。

2.9 细胞外囊泡仿生递药系统

细胞外囊泡是一种由细胞分泌,携带生物活性物质(蛋白质、脂类和核酸等),并释放到细胞外基质的膜性小囊泡,其参与细胞通讯和细胞迁移等过程^[59]。根据EVs的细胞内来源,其主要分为三种类型:外泌体、微囊泡和凋亡小体。其中,外泌体直径为40~120 nm,微囊泡直径为50~1 000 nm,而凋亡小体的直径为50~5 000 nm^[60]。

EVs低免疫原性、高生物屏障通透性、高生物相容性和优良的靶向递送能力使其成为癌症治疗有潜力的载体^[61]。许多研究表明,通过细胞外囊泡传递肿瘤来源的抑制或激活分子信号可以导致肿瘤浸润性免疫细胞的重新编程,使免疫细胞在肿瘤进展过程中发挥关键作用^[62-63]。

2.9.1 外泌体 外泌体是细胞外囊泡的一种亚型,由多种细胞产生,可在体液中检测到。其含有蛋白质、脂质和ncRNAs(miRNAs、lncRNAs和circRNAs),在细胞间的通信方面具有重要的生物学和病理功能^[64-65]。根据大小和形状,外泌体可以被分为9个不同的亚群或类别,这意味着即使来自同一细胞系的外泌体在形态和功能上均可能存在差异^[66]。

ZUO等^[67]将DC细胞衍生外泌体(DC-derived exosomes, DEX)与高迁移率族核小体结合蛋白1(high mobility group nucleosome-binding protein 1, HMGN1)(一种能够促进DC募集和激活的免疫佐剂)的功能域、肝癌靶向肽P47(P)和 α -甲胎蛋白表位(AFP 212-A2)及地塞米松结合在一起,通过外泌体锚定肽(CP05)设计了一种针对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的疫苗DEX_{P&A2&N}。DEX_{P&A2&N}静脉给药后,发现其在原位肝癌小鼠肿瘤中特异性募集和激活交叉递呈的CD103⁺CD11c⁺和CD8 α ⁺CD11c⁺DCs,触发抗原特异性免疫反应,并在原位肝癌小鼠中显著延缓肿瘤生长。免疫检查点阻断在某些癌症中能够诱导良好的抗肿瘤反应,而在胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)中,由于血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)和/或血脑肿瘤屏障(blood-brain tumor barrier, BBTB)存在严重的免疫抑制微环境,治疗效果受限。EVs已被广泛用作GBM的治疗载体。TIAN等^[68]利用环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-酪氨酸-赖氨酸(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys)多肽[c(RGDyK)]-偶联外泌体靶向反应性脑血管内皮细胞中的整合素 $\alpha_v\beta_3$ 。同时,负载siRNA逆转肿瘤细胞上PD-L1的表达,并招募肿瘤相关髓样细胞(tumor-associated myeloid cells, TAMCs),提供免疫应答协同效应。与其他对照组相比,治疗组肿瘤抑制率最高,且肿瘤组织中CD8⁺T细胞浸润数最高。此外,用于分离EVs的细胞来源较多,有利于大规模生产,有助于细胞外囊泡仿生递药系统的临床转化。综上,该递药系统为GBM免疫检查点治疗提供了一种基于外泌体的可临床转化治疗策略。

2.9.2 微囊泡 1967年,一种具有凝血活性的“血小板尘埃”在血小板保存过程中从血小板脱落^[69]。这种特殊的“尘埃”后来被鉴定为一种从膜部分脱落的微囊泡(microvesicles, MVs),也被称为微粒子或胞外体。在MVs释放的部位,磷脂酰丝氨酸通常在膜的细胞质一侧,被重新定位到膜的外层,而膜蛋白的拓扑结构保持不变^[70]。MVs因其固有的生物相容性和特异性靶向能力被认为是一种颇具前途的药物载体。

WU等^[71]开发了一种包覆小剂量DOX的骨髓树突状细胞(bone marrow dendritic cells, BMDCs)来源的抗原微囊泡,用于肿瘤的化疗联合免疫治疗。黑色素肿瘤细胞系B16F10用于制备肿瘤来源的微囊泡MV_{B16}。将肿瘤来源的MV_{B16}冲击DC,制备DC来源

的抗原MV_{B16}。结果显示,DC来源的MV_{B16}能有效刺激脾细胞增殖,表明其可通过化疗药物对肿瘤细胞产生直接的细胞毒作用,并通过MV_{B16}的抗原特性有效地激活免疫细胞。同时,少量MV_{B16}分布于肿瘤引流淋巴结(tumor draining lymph node, TDLN),以激活抗肿瘤免疫。在黑色素瘤小鼠模型中,DC来源MV_{B16}给药组的肿瘤抑制率最高,为81.3%。该团队率先提出的基于DC来源MV_{B16}的免疫联合化疗策略,证明了BDSS应用于癌症治疗具有很大潜力。

STn(sialated Tn)抗原是肿瘤相关碳水化合物抗原(tumor-associated carbohydrate antigen, TACA),其在正常组织中几乎检测不到,但在肿瘤组织中高表达。由上皮细胞合成的跨膜蛋白黏蛋白1(mucin 1, MUC1)是STn抗原的关键糖蛋白载体,其表达水平与STn呈正相关。因此,STn抗原与MUC1都被认为是肿瘤免疫治疗的靶点。代谢寡糖工程(metabolic oligosaccharide engineering, MOE)是一种在生物医学应用领域调节细胞与MV_{B16}相互作用的手段。MOE等^[72]通过构建高表达抗原处理酶的细胞系,利用MOE技术设计了一种含有氟修饰TACA的MV_{B16},并取得了显著的抗肿瘤免疫效果。首先,研究人员化学合成了两种氟修饰的单糖底物Ac-F-GalNAc和OMe-Ac-F-Neu5Ac,并构建了氟修饰的STn抗原。随后,构建了一株稳定高表达小鼠糖蛋白黏蛋白1(mouse glycoprotein mucin 1, MMUC1)和小鼠唾液酸转移酶(mST6GalNAc-I)的细胞系CT26^{MS}。胞内酶可以识别氟修饰的单糖底物,并通过MOE催化反应合成氟修饰的碳水化合物抗原。研究人员进一步从细胞中分离出MV_{B16},鉴定了含有氟修饰碳水化合物抗原的糖链,并将其应用于肿瘤免疫领域。实验结果表明,携带氟修饰抗原的MV_{B16}能通过Akt/NF- κ B信号通路有效地促进DC的成熟和细胞因子的释放,调节T细胞的增殖和分化,增强体内CTL的杀伤能力,在荷瘤小鼠的免疫预防和免疫治疗中具有更显著的作用。

2.9.3 凋亡小体 细胞凋亡过程中,细胞内容物被分解并包装成多个被膜包裹的小泡,这种小泡被称为凋亡小体(apoptotic bodies, Abs)^[73]。由于Abs很容易被吞噬细胞吞噬,它们构成了靶向吞噬细胞递送药物的极佳生物载体。

ZHENG等^[74]构建了一种金银纳米棒(gold-silver nanorods, AuNRs),通过Au-S键将Toll样受体9配体CpG结合到纳米棒的表面,随后包载于肿瘤细胞

在紫外线照射下产生的Abs中,进而组装为AuNR-CpG/Abs。结果表明,由于Abs的存在,该递药系统静脉注射到C57BL/6荷瘤小鼠体内后,能被Ly-6C⁺单核细胞高选择性地吞噬,基于其肿瘤归巢行为,药物可以有效地输送到肿瘤内部。SHENG等^[75]通过将荧光光热剂IR820和R848纳米颗粒包载于凋亡小体中,成功构建了一种具有成像导航功能的凋亡小体载体。凋亡小体搭乘单核/巨噬细胞主动靶向至肿瘤组织释放药物,并实现肿瘤部位的深度渗透。此外,凋亡小体载体刺激肿瘤ICD产生大量肿瘤相关抗原,与R848佐剂联合形成原位疫苗。实验结果显示,DC成熟度增加,炎性细胞因子(肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 和IL-2)水平升高,肿瘤内MDSC或调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)比例下降,均表明肿瘤免疫抑制微环境正在向免疫刺激微环境转变。综上所述,以凋亡小体为载体的递药系统为靶向递送免疫调节剂、实现肿瘤免疫联合治疗提供了潜在的应用策略。

3 基于细胞的仿生递药系统

哺乳动物细胞(红细胞、血小板、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及T淋巴细胞等)具有低免疫原性和高靶向自驱力等天然递送优势,将它们和NDDS结合可以实现药物的长循环、高载药量和靶向递送。此外,活细胞作为仿生递药系统的载体具有更好的生物相容性和安全性。

3.1 红细胞

现有研究发现,红细胞可以捕获其表面的免疫复合体和细菌,并将它们传递到脾中的APC^[76]。利用红细胞这种与生俱来的能力,UKIDVE等^[77]设计了一种红细胞驱动的免疫靶向(erythrocyte-driven immune targeting, EDIT) BDDS,将纳米颗粒吸附在红细胞表面,以实现细胞免疫和体液免疫。研究人员利用较高的纳米颗粒与红细胞投料比提高抗剪切能力,从而抵抗肺毛细血管的生物学拉伸,减少肺积聚,实现纳米颗粒对脾的靶向递送。体液免疫和细胞免疫反应显示,EDIT系统与游离纳米颗粒相比,抗体效价提高了3倍,受抗原刺激后中央记忆T细胞增加了2.2倍,Tregs减少了60%。最终,EDIT系统介导的免疫治疗显著减缓肿瘤生长。HUYNH等^[78]设计了一种基于红细胞搭便车策略的多晶氧化铁纳米结构(multi-grained iron oxide nanostructures, MIO)以

促进肺转移灶处的靶向递送。MIO通过渗透压介导的融合作用组装到RBC表面,形成MIO@RBC。可逆的相互作用使MIO能够在静脉注射后,通过挤压肺微血管的RBC转移到肺毛细血管内皮细胞。由于MIO具有多磁晶结构,可通过交变磁场(alternating magnetic field, AMF)产生高热,从而进一步诱导肿瘤细胞凋亡,释放肿瘤相关抗原。GFP-B16F10肺转移瘤荷瘤小鼠注射该仿生递药系统后,小鼠肺部肿瘤转移灶数目显著减少。经计算,对照纽约有800个肿瘤灶,而MIO@RBC组和MIO@RBC+AMF组小鼠的肿瘤灶数目分别减少到270个和50个。

3.2 血小板

天然血小板在血液循环中具有免疫逃逸作用,能够黏附受损的血管系统。近年来,血小板已被开发为靶向受损组织的功能纳米载体。GAO等^[79]设计了一种将抗PDL1抗体(anti-PDL1 antibody, aPDL1)和氧化铁纳米颗粒(iron oxide nanoparticles, IONPs)共同递送到原发肿瘤术后部位的工程化血小板系统(PLT-aPDL1-IONPs, P-P-IO)。该递药系统通过血小板搭便车策略到达手术部位,一旦其附着在手术部位的内皮下,P-P-IO就会被激活并释放aPDL1和IONPs到周围组织,在NIR照射下,IONPs作为光热制剂通过PTT导致残留的肿瘤细胞坏死,产生肿瘤相关抗原,启动先天免疫反应。此外,作为免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)抑制剂的aPDL1阻断肿瘤微环境中的免疫抑制信号,激活抗肿瘤免疫反应。经PTT联合P-P-IO治疗,乳腺癌术后异种移植小鼠肿瘤复发数减少,肿瘤组织中CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞浸润数量增加,其中PTT联合P-P-IO组CD8⁺T细胞比例是对照组的3.2倍。DONG等^[80]开发了一种负载DOX的血小板诱饵(platelet decoys@Doxorubicin, PD@DOX)用于促进DOX在肿瘤内的靶向递送及通过诱导ICD促进抗肿瘤免疫。研究人员首先用0.1%的Triton X-100提取天然血小板,随后将DOX与血小板共孵育得到PD@DOX。该递药系统载药量高,且在酸性pH条件下,释药速度显著加快。流式细胞术检测结果显示PD@DOX可显著促进DC成熟,该研究结果表明,血小板仿生载体与免疫检查点阻断治疗相结合,可有效促进肿瘤抗原提呈,增强抗肿瘤免疫应答。

3.3 单核细胞和巨噬细胞

由于肿瘤具有增殖快、间质压力高、细胞外

基质致密等特点,其内部存在缺氧区和坏死区,有报道指出,单核细胞和巨噬细胞可进入肿瘤的缺氧区和坏死区^[81]。此外,肿瘤细胞可产生单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1),其能够招募单核细胞和巨噬细胞^[82]。因此,单核细胞和巨噬细胞具有靶向递送药物到肿瘤组织的潜力。吡啶胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)在肿瘤中的过度表达会促进肿瘤免疫抑制微环境的发展。YU等^[83]利用抑制IDO通路可缓解免疫抑制状态的治疗策略,将IDO抑制剂吡啶莫德(indoximod, IND)和亲水性壳聚糖(chitosan, CSO)与天冬氨酸内肽酶-敏感肽连接剂丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺(alanine-alanine-asparagine, AAN)接枝,形成胶束CS-AI(CSO-AAN-IND),并在其表面修饰甘露糖(mannose, M)以提高CS-AI与单核细胞的亲和力,得到M-CS-AI(M-CSO-AAN-IND)。采用DOX作为ICD诱导化疗药物,得到最终制剂M-CS-AI/DOX。静脉注射该制剂后,其在体内被循环单核细胞摄取,并在肿瘤细胞释放的归巢信号引导下靶向递送至肿瘤细胞的缺氧区和坏死区。积累的单核细胞进一步分化为巨噬细胞,其中过表达的天冬氨酸内肽酶切割AAN并解聚该制剂。该制剂释放的IND可通过缓解免疫抑制微环境,协同提高DOX诱导ICD的抗肿瘤效果。该研究实现了循环单核细胞搭便车的酶敏感纳米颗粒的深层肿瘤递送,为药物在肿瘤部位的富集和免疫激活提供了新思路。

聚肌苷酸胞苷酸(polyinosinic-polycytidy acid, Poly I:C, PIC)是一种人工合成的双链RNA(dsRNA)类似物,可激活免疫反应,诱导肿瘤细胞凋亡。ZHOU等^[84]构建了一种具有缓释特性的包载PIC的PLGA纳米颗粒[poly I:C-encapsulated poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles, PLP NPs],随后通过将马来酰亚胺-硫醇偶联PLP NPs到骨髓来源的巨噬细胞(bone marrow-derived macrophage, BMDM)表面,得到一种新型巨噬细胞仿生递药系统(PLP NPs-loaded BMDM, MPLP)。结果表明,BMDM作为活细胞药物载体,促进PLP NPs在肿瘤中蓄积。此外,PIC从PLP NPs中释放,将BMDM极化为M1型巨噬细胞,且MPLP激活内源性APC,从而有效触发抗肿瘤免疫反应。在4T1转移性三阴性乳腺癌(metastatic triple-negative breast cancer, mTNBC)小鼠模型中,MPLP介导抗肿瘤免疫反应有效地抑制

原位和转移肿瘤。

3.4 中性粒细胞

由于白细胞与生俱来的吞噬功能,作为内源性白细胞的代表,中性粒细胞可被开发为天然的“特洛伊木马”,在体内捕获纳米颗粒并将它们递送到难以到达的肿瘤内部。CXC趋化因子-1(C-X-C ligand 1, CXCL1)属于CXC趋化因子家族,在多种肿瘤生长、增殖、转移和侵袭及血管新生中起重要调控作用。HAO等^[85]借助中性粒细胞作为“特洛伊木马”内吞PLGA纳米颗粒,纳米颗粒内负载CXCL1和PTX。将该仿生递药系统注射到黑色素瘤荷瘤小鼠体内后,发现其肿瘤抑瘤率高达67.28%。

细胞焦亡(pyroptosis)是一种由成孔蛋白家族Gasdermin介导完成的程序性细胞死亡形式,依赖于半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(cysteiny aspartate specific proteinase-1, caspase-1),并伴有大量炎症因子的释放。基于上述现象,YU等^[86]开发了一种偶联抗CD11b抗体和新吡啶菁绿(new indocyanine green, IR820)并负载地西他滨(decitabine, DAC)的牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)纳米颗粒,该颗粒通过中性粒细胞搭便车的策略触发细胞焦亡,实现肿瘤免疫治疗。IR820作为一种荧光信号分子,具有监视及追踪纳米颗粒递送的作用,DAC的释放上调Gasdermin E的表达,激光照射激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteiny aspartate specific proteinase-3, caspase-3),从而导致细胞焦亡,并改善系统的适应性免疫反应。

3.5 T淋巴细胞

肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)的数量与临床免疫治疗的效果成正比,增加TILs的数量尤其是CTL的数量可以有效地提高抗肿瘤免疫治疗效果。MÜHLBERGER等^[87]设计了一种负载超顺磁性氧化铁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPION)的T细胞系统,该系统利用磁靶向原理将药物递送到肿瘤部位。研究人员合成不同涂层的SPION,将其与永生化的小鼠T淋巴细胞孵育。结果显示,包覆月桂酸(lauric acid, LA)有较高的毒性,包覆牛血清白蛋白会导致人体免疫反应,而人血清白蛋白的加入增加了颗粒的生物相容性但降低了细胞摄取效率。该研究提出,对于SPION的T细胞功能化,需要考量摄取与毒性之间的平衡。在进一步的研究中,该团队^[88]制备了柠

柠檬酸盐(citrate)包覆的SPION(SPION^{Citrate}),其细胞毒性明显低于月桂酸包覆的SPION。此外,SPION^{Citrate}对T淋巴细胞具有良好的生物相容性,该系统进入血液循环后具有较高的稳定性。此外,T淋巴细胞能够主动摄取SPION^{Citrate},且在外部磁场控制下,SPION^{Citrate}负载的T细胞能够将药物充分吸引到EL4小鼠淋巴瘤细胞中。该研究为利用SPION负载的T细胞系统进行磁控免疫治疗搭建了一个良好的平台。

4 总结与展望

随着生命科学技术的发展和对肿瘤发生发展机制的深入研究,仿生递药系统在克服免疫抑制和提高抗肿瘤免疫效果等方面展现出广阔的应用前景;基于细胞膜和细胞的BDDS在精确递送治疗药物和改善肿瘤免疫治疗效果方面具有巨大的潜力,已成为当前研究的热点。利用各种手段将天然细胞(红细胞、血小板、免疫细胞、干细胞和肿瘤细胞等)的功能和生物特性(良好的生物相容性、长循环时间、免疫逃逸和肿瘤特异性靶向等)转移到纳米颗粒,为肿瘤治疗提供更多选择。通过内源性细胞膜和细胞的伪装可以避免单核吞噬细胞系统对纳米颗粒的识别,使药物免疫原性降低并克服生物屏障,以足够剂量在肿瘤部位蓄积,激活抗肿瘤免疫反应,提高抗肿瘤作用。因此,基于细胞膜和细胞的BDDS已成为癌症治疗的理想策略。

本文首先系统阐述了基于细胞膜和细胞的BDDS的构建过程与表征手段。随后,详细介绍了基于细胞膜(红细胞膜、血小板膜、免疫细胞膜、干细胞膜、肿瘤细胞膜、杂化细胞膜及细胞外囊泡)和活细胞(红细胞、血小板、中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞及T淋巴细胞)的BDDS在改善肿瘤免疫治疗效果中的应用。除哺乳动物细胞外,细菌、真菌及病毒作为仿生载体在提高免疫治疗抗肿瘤效果方面也受到了广泛关注。细菌外膜囊泡(outer membrane vesicle, OMV)在肿瘤组织积聚时,可以有效地激活抗肿瘤免疫反应^[89]。WANG等^[90]构建了一种由细菌OMV和B16-F10癌细胞(cancer cell, CC)膜组成的杂化膜(OMV-CC),并将其包覆在中空多巴胺(hollow polydopamine, HPDA)纳米颗粒上。研究表明,当覆膜纳米颗粒尾静脉注射到黑色素瘤荷瘤小鼠后,药物能够靶向黑色素瘤,并通过刺激小鼠淋巴结中的树突状细胞成熟进而激活免疫反应。在最近的一

项工作中,ZHAO等^[91]开发了一种模拟疱疹病毒的仿生纳米颗粒,DNA酶负载锰掺杂沸石的咪唑酸框架-90(DNAzyme-loaded manganese-doped zeolitic imidazolate framework-90, ZIF-90)模拟含有基因组的病毒核衣壳;红细胞膜模拟病毒包衣膜;两种功能肽RGD和HA2肽模拟病毒的表面糖蛋白。该递药系统不仅能有效地避免药物在血液循环中被快速清除,还可以模拟疱疹病毒的一系列感染过程,包括特定的肿瘤靶向、膜融合介导的内体逃逸等,最终启动cGAS-STING通路介导的先天免疫,使得4T1乳腺癌荷瘤小鼠68%原发肿瘤完全消除,且荷瘤小鼠的中位生存时间延长32天。

然而,基于细胞膜和细胞的BDDS的开发与研究在国内外均处于起步阶段,其在肿瘤免疫治疗方面的应用仍面临一系列挑战。具体如下:(1) BDDS的生产技术相对不成熟,路线繁琐、重现性较差,难以实现规模化制备;(2) 对不同种类的细胞,细胞破碎方式有研磨、均质、超声等方法,离心步骤也涉及不同的参数条件,上述方法和条件的选用对获得更高的膜提取效率没有明确的判断依据;(3) 细胞膜的收率极低,提取微量细胞膜往往需要多达几亿细胞,极大地增加了科研成本,也不利于实际生产的需求;(4) 由于肿瘤的异质性和个体免疫条件的差异,免疫疗法并不能在所有个体、所有类型肿瘤上表现出良好的治疗效果。虽然基于细胞膜和细胞的仿生递药系统应用于肿瘤免疫治疗方面存在一些弊端,但其天然优势和广泛应用潜能是不可否认的。在当前研究的基础上,为提高基于细胞膜和细胞的BDDS在肿瘤免疫治疗中的应用,增强抗肿瘤免疫治疗效果,可以深入开展以下几个方面的研究:(1) 探索更可靠成熟的生产技术,以改进制备方法和质量控制过程;(2) 加强对免疫学及生物学方面的理论研究,确定细胞膜上某些特定功能蛋白的未知作用,更精确地修饰纳米颗粒;(3) 持续探究新型细胞载体,根据其特性设计最佳的药物输送体系,尝试更多功能化的杂化膜修饰纳米颗粒,或将抗体、DNA/RNA或酶掺入细胞膜进行表面修饰,增强肿瘤协同免疫治疗效果;(4) 加强肿瘤免疫疗法与化学疗法、放射疗法及光热疗法等其他疗法的广泛结合,实现多种肿瘤治疗方法联合应用,协同增效。随着生命科学技术的不断发展,将有更多的创新研究来实现仿生递药系统更安全和有效的药物输送。相信基于

细胞膜和细胞的仿生递药系统的发展必将推动纳米药物在肿瘤治疗和诊断方面的进步。未来, 细胞生物学、肿瘤免疫学、人工智能等学科的发展以及多学科之间的交叉融合将进一步共同推动肿瘤免疫治疗的发展。

参考文献 (References)

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49.
- [2] RAZA F, ZAFAR H, ZHANG S, et al. Recent advances in cell membrane-derived biomimetic nanotechnology for cancer immunotherapy [J]. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10(6): e2002081.
- [3] WOLCHOK J D, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Overall survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(14): 1345-56.
- [4] BAGHBAN R, ROSHANGAR L, JAHANBAN-ESFAHLAN R, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 59.
- [5] BINNEWIES M, ROBERTS E W, KERSTEN K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy [J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 541-50.
- [6] DAGOGO-JACK I, SHAW A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 81-94.
- [7] VASAN N, BASELGA J, HYMAN D M. A view on drug resistance in cancer [J]. *Nature*, 2019, 575(7782): 299-309.
- [8] MARTIN J D, CABRAL H, STYLIANOPOULOS T, et al. Improving cancer immunotherapy using nanomedicines: progress, opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(4): 251-66.
- [9] SHI J, KANTOFF P W, WOOSTER R, et al. Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(1): 20-37.
- [10] TONG Q, QIU N, JI J, et al. Research progress in bioinspired drug delivery systems [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, 17(9): 1269-88.
- [11] WILHELM S, TAVARES A J, DAI Q, et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours [J]. *Nat Rev Mater*, 2016, 1(5): 16014.
- [12] LI B, YUAN Z, ZHANG P, et al. Zwitterionic nanocages overcome the efficacy loss of biologic drugs [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(14): 1705728.
- [13] GUEDAN S, RUELLA M, JUNE C H. Emerging cellular therapies for cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 145-71.
- [14] CHEN M, CHEN M, HE J. Cancer cell membrane cloaking nanoparticles for targeted co-delivery of doxorubicin and PD-L1 siRNA [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1635-41.
- [15] SOPRANO E, POLO E, PELAZ B, et al. Biomimetic cell-derived nanocarriers in cancer research [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 538.
- [16] AQIL F, KAUSAR H, AGRAWAL A K, et al. Exosomal formulation enhances therapeutic response of celestrol against lung cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 101(1): 12-21.
- [17] LIU J M, ZHANG D D, FANG G Z, et al. Erythrocyte membrane bioinspired near-infrared persistent luminescence nanocarriers for *in vivo* long-circulating bioimaging and drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2018, 165: 39-47.
- [18] LIU Y, LUO J, CHEN X, et al. Cell membrane coating technology: a promising strategy for biomedical applications [J]. *Nano-micro Lett*, 2019, 11(1): 100.
- [19] SAHA M, BIDKAR A P, GHOSH S S. Developing membrane-derived nanocarriers for *ex vivo* therapy of homologous breast cancer cells [J]. *Nanomedicine*, 2021, 16(21): 1843-56.
- [20] YANG F, CABE M H, OGLE S D, et al. Optimization of critical parameters for coating of polymeric nanoparticles with plasma membrane vesicles by sonication [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 23996.
- [21] RAO L, CAI B, BU L L, et al. Microfluidic electroporation-facilitated synthesis of erythrocyte membrane-coated magnetic nanoparticles for enhanced imaging-guided cancer therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(4): 3496-505.
- [22] SAARI H, LÁZARO-IBÁÑEZ E, VIITALA T, et al. Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of paclitaxel in autologous prostate cancer cells [J]. *J Control Release*, 2015, 220(Pt B): 727-37.
- [23] FANG R H, KROLL A V, GAO W, et al. Cell membrane coating nanotechnology [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(23): e1706759.
- [24] GENG W, JIANG N, QING G Y, et al. Click reaction for reversible encapsulation of single yeast cells [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(12): 14459-67.
- [25] BAGASARIYA D, CHARANKUMAR K, SHAH S, et al. Biomimetic nanotherapeutics: employing nanoghosts to fight melanoma [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2022, 177: 157-74.
- [26] MEFTAH I G H, BAHARI Z, ZAREI MAHMOUDABADI A, et al. Applications of western blot technique: from bench to bedside [J]. *Biochem Mol Biol Educ*, 2021, 49(4): 509-17.
- [27] OROOJALIAN F, BEYGI M, BARADARAN B, et al. Immune cell membrane-coated biomimetic nanoparticles for targeted cancer therapy [J]. *Small*, 2021, 17(12): e2006484.
- [28] BARBUL A, SINGH K, HOREV-AZARIA L, et al. Nanoparticle-decorated erythrocytes reveal that particle size controls the extent of adsorption, cell shape, and cell deformability [J]. *ACS Appl Nano Mater*, 2018, 1(8): 3785-99.
- [29] ZHANG X, HE S, DING B, et al. Cancer cell membrane-coated rare earth doped nanoparticles for tumor surgery navigation in NIR-II imaging window [J]. *Chem Eng J*, 2020, 385: 123959.
- [30] LI B, WANG F, GUI L, et al. The potential of biomimetic nanoparticles for tumor-targeted drug delivery [J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(16): 2099-118.
- [31] ROSSI L, FRATERNALE A, BIANCHI M, et al. Red blood cell membrane processing for biomedical applications [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1070.
- [32] HU C M, ZHANG L, ARYAL S, et al. Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(27): 10980-5.
- [33] XIE J, SHEN Q, HUANG K, et al. Oriented assembly of cell-mimicking nanoparticles via a molecular affinity strategy for targeted drug delivery [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(5): 5268-77.
- [34] BAHMANI B, GONG H, LUK B T, et al. Intratumoral immunotherapy using platelet-cloaked nanoparticles enhances antitumor

- immunity in solid tumors [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1999.
- [35] CHEN M, QIAO Y, CAO J, et al. Biomimetic doxorubicin/ginsenoside co-loading nanosystem for chemoimmunotherapy of acute myeloid leukemia [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 273.
- [36] LIU L, LI H, WANG J, et al. Leveraging macrophages for cancer theranostics [J]. *Adv Drug Deliv*, 2022, 183: 114136.
- [37] ZHANG J, SUN X, XU M, et al. A self-amplifying ROS-sensitive prodrug-based nanodecoy for circumventing immune resistance in chemotherapy-sensitized immunotherapy [J]. *Acta Biomater*, 2022, 149: 307-20.
- [38] WANG S, SONG Y, CAO K, et al. Photothermal therapy mediated by gold nanocages composed of anti-PDL1 and galunisertib for improved synergistic immunotherapy in colorectal cancer [J]. *Acta Biomater*, 2021, 134: 621-32.
- [39] LI X, ZHANG W, LIN J, et al. T cell membrane cloaking tumor microenvironment-responsive nanoparticles with a smart "membrane escape mechanism" for enhanced immune-chemotherapy of melanoma [J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(9): 3453-64.
- [40] KANG M, HONG J, JUNG M, et al. T-cell-mimicking nanoparticles for cancer immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(39): e2003368.
- [41] RICCHI P, ZARRILLI R, DI PALMA A, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in colorectal cancer: from prevention to therapy [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(6): 803-7.
- [42] GASH K J, CHAMBERS A C, COTTON D E, et al. Potentiating the effects of radiotherapy in rectal cancer: the role of aspirin, statins and metformin as adjuncts to therapy [J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(2): 210-9.
- [43] COFFELT S B, KERSTEN K, DOORNEBAL C W, et al. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and neutrophils conspire to promote breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2015, 522(7556): 345-8.
- [44] HE Z, ZHANG Y, FENG N. Cell membrane-coated nanosized active targeted drug delivery systems homing to tumor cells: a review [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 106: 110298.
- [45] KANG T, ZHU Q, WEI D, et al. Nanoparticles coated with neutrophil membranes can effectively treat cancer metastasis [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(2): 1397-411.
- [46] XIA C, BAI W, DENG T, et al. Sponge-like nano-system suppresses tumor recurrence and metastasis by restraining myeloid-derived suppressor cells-mediated immunosuppression and formation of pre-metastatic niche [J]. *Acta Biomater*, 2023, 158: 708-24.
- [47] MU X, ZHANG M, WEI A, et al. Doxorubicin and PD-L1 siRNA co-delivery with stem cell membrane-coated polydopamine nanoparticles for the targeted chemoimmunotherapy of PCa bone metastases [J]. *Nanoscale*, 2021, 13(19): 8998-9008.
- [48] KANG S, BHANG S H, HWANG S, et al. Mesenchymal stem cells aggregate and deliver gold nanoparticles to tumors for photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(10): 9678-90.
- [49] HUANG X, ZHANG F, WANG H, et al. Mesenchymal stem cell-based cell engineering with multifunctional mesoporous silica nanoparticles for tumor delivery [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(7): 1772-80.
- [50] GAO C, LIN Z, WU Z, et al. Stem-cell-membrane camouflaging on near-infrared photoactivated upconversion nanoarchitectures for *in vivo* remote-controlled photodynamic therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(50): 34252-60.
- [51] XIE L, ZHANG C, LIU M, et al. Nucleus-targeting manganese dioxide nanoparticles coated with the human umbilical cord mesenchymal stem cell membrane for cancer cell therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(8): 10541-53.
- [52] SHANG L, JIANG X, YANG T, et al. Enhancing cancer chemoimmunotherapy by biomimetic nanogel with tumor targeting capacity and rapid drug-releasing in tumor microenvironment [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(5): 2550-67.
- [53] SHANG L, JIANG X, YANG T, et al. Enhancing cancer chemoimmunotherapy by biomimetic nanogel with tumor targeting capacity and rapid drug-releasing in tumor microenvironment [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(5): 2550-67.
- [54] LUO J, WANG X, SHI Z, et al. Enhancement of antitumor immunotherapy using mitochondria-targeted cancer cell membrane-biomimetic MOF-mediated sonodynamic therapy and checkpoint blockade immunotherapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 228.
- [55] DEHAINI D, WEI X, FANG R H, et al. Erythrocyte-platelet hybrid membrane coating for enhanced nanoparticle functionalization [J]. *Adv Mater*, 2017, 29(16): 1606209.
- [56] CHEN H Y, DENG J, WANG Y, et al. Hybrid cell membrane-coated nanoparticles: a multifunctional biomimetic platform for cancer diagnosis and therapy [J]. *Acta Biomater*, 2020, 112: 1-13.
- [57] WANG Y, LUAN Z, ZHAO C, et al. Target delivery selective CSF-1R inhibitor to tumor-associated macrophages via erythrocyte-cancer cell hybrid membrane camouflaged pH-responsive copolymer micelle for cancer immunotherapy [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 142: 105136.
- [58] ZANG S, HUANG K, LI J, et al. Metabolic reprogramming by dual-targeting biomimetic nanoparticles for enhanced tumor chemo-immunotherapy [J]. *Acta Biomater*, 2022, 148: 181-93.
- [59] TIAN Y, MA L, GONG M, et al. Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(1): 671-80.
- [60] ZHANG L Y, YANG X, WANG S B, et al. Membrane derived vesicles as biomimetic carriers for targeted drug delivery system [J]. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20(27): 2472-92.
- [61] S E L A, MÄGER I, BREAKEFIELD X O, et al. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(5): 347-57.
- [62] WHITESIDE T L. Exosomes and tumor-mediated immune suppression [J]. *J Clin Investig*, 2016, 126(4): 1216-23.
- [63] CHEN J, FEI X, WANG J, et al. Tumor-derived extracellular vesicles: regulators of tumor microenvironment and the enlightenment in tumor therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 159: 105041.
- [64] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [65] PASKEH M D A, ENTEZARI M, MIRZAEI S, et al. Emerging role of exosomes in cancer progression and tumor microenvironment remodeling [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 83.
- [66] ZABEO D, CVJETKOVIC A, LÄSSER C, et al. Exosomes purified from a single cell type have diverse morphology [J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1): 1329476.
- [67] ZUO B, ZHANG Y, ZHAO K, et al. Universal immunotherapeutic strategy for hepatocellular carcinoma with exosome vaccines

- that engage adaptive and innate immune responses [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 46.
- [68] TIAN T, LIANG R, EREL-AKBABA G, et al. Immune checkpoint inhibition in GBM primed with radiation by engineered extracellular vesicles [J]. *ACS Nano*, 2022, 16(2): 1940-53.
- [69] WOLF P. The nature and significance of platelet products in human plasma [J]. *J Hematol Oncol*, 1967, 13(3): 269-88.
- [70] LIMA L G, CHAMMAS R, MONTEIRO R Q, et al. Tumor-derived microvesicles modulate the establishment of metastatic melanoma in a phosphatidylserine-dependent manner [J]. *Cancer Lett*, 2009, 283(2): 168-75.
- [71] WU T, QI Y, ZHANG D, et al. Bone marrow dendritic cells derived microvesicles for combinational immunochemotherapy against tumor [J]. *Adv Funct*, 2017, 27(42): 1703191.
- [72] MO J, ZOU Y, LI B H, et al. Tumor-associated extracellular microvesicles with fluorine-modified carbohydrate antigens trigger a stronger antitumor immune response [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(34): 40201-12.
- [73] AKERS J C, GONDA D, KIM R, et al. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies [J]. *J Neurooncol*, 2013, 113(1): 1-11.
- [74] ZHENG L, HU X, WU H, et al. *In vivo* monocyte/macrophage-hitchhiked intratumoral accumulation of nanomedicines for enhanced tumor therapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(1): 382-91.
- [75] SHENG S, YU X, XING G, et al. An apoptotic body-based vehicle with navigation for photothermal-immunotherapy by precise delivery and tumor microenvironment regulation [J]. *Adv Funct*, 2023, 33(5): 2212118.
- [76] MINASYAN H. Phagocytosis and oxytocin: two arms of human innate immunity [J]. *Immunol Res*, 2018, 66(2): 271-80.
- [77] UKIDVE A, ZHAO Z, FEHNEL A, et al. Erythrocyte-driven immunization via biomimicry of their natural antigen-presenting function [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(30): 17727-36.
- [78] HUYNH T M H, YALAMANDALA B N, CHIANG M R, et al. Programmed antigen capture-harnessed dendritic cells by margination-hitchhiking lung delivery [J]. *J Control Release*, 2023, 358: 718-28.
- [79] GAO Y, CHEN X, WANG B, et al. Engineering platelets with PDL1 antibodies and iron oxide nanoparticles for postsurgical cancer immunotherapy [J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2023, 6(1): 257-66.
- [80] DONG H, GAO M, LU L, et al. Doxorubicin-loaded platelet decoys for enhanced chemoimmunotherapy against triple-negative breast cancer in mice model [J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 3577-93.
- [81] ARAS S, ZAIDI M R. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis [J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(11): 1583-91.
- [82] NAKATSUMI H, MATSUMOTO M, NAKAYAMA K I. Non-canonical pathway for regulation of CCL2 expression by an mTORC1-FOXK1 axis promotes recruitment of tumor-associated macrophages [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(9): 2471-86.
- [83] YU F Y, SHANG X W, ZHU Y, et al. Self-oriented central-tumor delivery of legumain-cleavable vehicles governed by circulating monocyte/macrophage for precise tumor enrichment and immune activation [J]. *Nano Res*, 2022, 16(4): 5189-205.
- [84] ZHOU H, HE H, LIANG R, et al. *In situ* poly I:C released from living cell drug nanocarriers for macrophage-mediated antitumor immunotherapy [J]. *Biomaterials*, 2021, 269: 120670.
- [85] HAO J, CHEN J, WANG M, et al. Neutrophils, as "trojan horses", participate in the delivery of therapeutic PLGA nanoparticles into a tumor based on the chemotactic effect [J]. *Drug Deliv*, 2020, 27(1): 1-14.
- [86] YU X, XING G, SHENG S, et al. Neutrophil camouflaged stealth nanovehicle for photothermal-induced tumor immunotherapy by triggering pyroptosis [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(15): e2207456.
- [87] MÜHLBERGER M, JANKO C, UNTERWEGER H, et al. Functionalization of T lymphocytes for magnetically controlled immune therapy: selection of suitable superparamagnetic iron oxide nanoparticles [J]. *J Magn Magn Mater*, 2019, 473: 61-7.
- [88] MÜHLBERGER M, JANKO C, UNTERWEGER H, et al. Functionalization of T lymphocytes with citrate-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetically controlled immune therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 8421-32.
- [89] CHEN W, WANG Y, QIN M, et al. Bacteria-driven hypoxia targeting for combined biotherapy and photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(6): 5995-6005.
- [90] WANG D, LIU C, YOU S, et al. Bacterial vesicle-cancer cell hybrid membrane-coated nanoparticles for tumor specific immune activation and photothermal therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(37): 41138-47.
- [91] ZHAO X, WANG Y Y, JIANG W X, et al. Herpesvirus-mimicking DNzyme-loaded nanoparticles as a mitochondrial DNA stress inducer to activate innate immunity for tumor therapy [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(37): 2204585.