

基于黑磷量子点的光热效应在树突状细胞激活中的作用

叶鑫宇^{1,2}, 梅 林^{2,3*}

(1. 清华大学生命科学学院, 北京 100084; 2. 清华大学深圳研究生院, 广东 深圳 518055;
3. 中山大学药学院·深圳, 广东 深圳 510275)

摘要: 癌症的免疫治疗是近年来兴起的一种治疗癌症的方法, 通过人为地激活免疫系统来产生持久地杀伤肿瘤细胞的免疫反应, 肿瘤疫苗是其最发达的部分之一。虽然目前肿瘤疫苗已经取得了许多突破, 但仍然面临着巨大的挑战。在本研究中, 采用癌细胞膜囊泡 (cancer cell membrane nanovesicle, CCNVs) 包裹黑磷量子点 (black phosphorus quantum dots, BPQDs) 制备得到负载黑磷量子点的癌细胞膜囊泡 (BPQD-CCNVs), 并将从小鼠骨髓中分离得到的树突状细胞与 BPQD-CCNVs 共同孵育, 然后用 808 nm 近红外光对培养基照射 10 min, 最后用流式细胞分析仪检测树突状细胞表面分子 CD80、CD86 和 MHC-II 的表达情况。所有动物实验均经过清华大学动物伦理委员会批准。结果表明, 基于黑磷量子点的光热效应能使培养基的温度升高, 刺激树突状细胞成熟, 使树突状细胞表面 CD80、CD86 和 MHC-II 的表达上调。本研究证明光热作用可以刺激树突状细胞的成熟。因此, 可将光热作用引入到肿瘤疫苗中, 增强肿瘤疫苗激活免疫系统的能力。

关键词: 免疫治疗; 肿瘤疫苗; 黑磷量子点; 细胞膜; 树突状细胞

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)07-1297-06

The black phosphorus quantum dots-based photothermal effect on dendritic cells activation

YE Xin-yu^{1,2}, MEI Lin^{2,3*}

(1. School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences (Shenzhen), Sun Yat-Sen University, Shenzhen 510275, China)

Abstract: Immunotherapy is the most active research area for cancer treatment. Tumor vaccine is one of the most developed aspects of cancer immunotherapy. Though tumor vaccine has made many breakthrough, it still faces many challenges. In this study, we coated the black phosphorus quantum dots (BPQDs) with cancer cell membrane to create a nanoparticle named BPQD-CCNVs. The BPQD-CCNVs were incubated with bone marrow-derived dendritic cells and irradiated with 808 nm infrared light. We tested the expression level of CD80, CD86 and MHC II of dendritic cells by flow cytometry after irradiation. All animal experiments approved by the Animal Experiments Ethical Committee of Tsinghua University. The results showed that the rise of medium's temperature caused by the photothermal effect of BPQDs could upregulate the expression of CD80, CD86 and MHC-II on dendritic cell surface. Based on these, we conclude that near infrared irradiation can stimulate the activation of dendritic cells. Our study may have provided a new strategy for tumor vaccine development.

Key words: immunotherapy; tumor vaccine; black phosphorus quantum dot; cell membrane; dendritic cell

收稿日期: 2019-04-23; 修回日期: 2019-05-14.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (90612002, 90612002).

*通讯作者 Tel: 86-20-84113997, E-mail: meilin7@mail.sysu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0317

癌症的免疫治疗是指通过人为的方法刺激免疫系统,提高免疫系统对肿瘤细胞识别和杀伤能力的一种治疗手段^[1,2]。过去10年间癌症免疫治疗得到不断发展,它已经在众多临床试验中取得突破,这也使癌症免疫治疗领域受到了前所未有的关注,2018年的诺贝尔生理学或医学奖更是授予了两位研究癌症免疫治疗的科学家。目前癌症免疫治疗的手段主要包括免疫检查点阻断^[3,4]、肿瘤疫苗^[5]和CAR-T细胞治疗^[6]等。

肿瘤疫苗作为免疫治疗重要的组成部分之一也取得了巨大突破,越来越多的疫苗正在进行II期或III期临床试验,主要包括针对黑色素瘤^[7]和前列腺癌^[8]等。然而,目前肿瘤抗原的鉴定还是十分困难^[9],并且其免疫原性较低,引起的免疫反应弱,这大大阻碍了肿瘤疫苗的发展。机体内的抗原提呈细胞摄取肿瘤疫苗中的抗原,并对肿瘤抗原进行加工以抗原肽-MHC分子复合物的形式将抗原呈递给T细胞,进而启动机体的免疫应答杀伤肿瘤细胞。树突状细胞(DC)是人体中最有效的抗原提呈细胞^[10],对免疫系统的激活至关重要,通常一般的抗原提呈细胞只可以将内源性抗原-MHC I复合体呈递给CD8⁺T细胞或外源性抗原-MHC II复合体呈递给CD4⁺T细胞,但是DC细胞不但可以完成这种传统的抗原提呈方式,而且可以通过交叉提呈的方式将外源性抗原与MHC I复合体结合呈递给CD8⁺T细胞。因此,DC细胞能更有效地激活CD4⁺和CD8⁺T细胞的活性,加强DC细胞的活性能够增强肿瘤疫苗引起的免疫应答。

黑磷是一种新型的半导体二维材料,具有非常好的光热转换效应^[11],由于它具有良好生物相容性,能够在体内降解为无毒的磷酸盐和磷酸酯,已经广泛用于光热治疗的研究中^[12-14]。虽然随着全基因组测序技术的进步,肿瘤抗原已可以被筛选出来,但是成本太高、耗时间过长,要想普及还有一定的难度^[15]。就算肿瘤抗原被鉴定出来,大部分的肿瘤抗原的免疫原性较弱,不足以引起免疫反应。因此,基于作者前期的研究结果提出设想,将癌细胞膜作为肿瘤抗原的来源,用它包裹黑磷量子点(black phosphorus quantum dots, BPQDs),当DC细胞吞噬后,通过红外照射引起的光热效应刺激DC细胞的成熟,使它能够有效激活机体的免疫系统对抗癌症。本研究以生物相容性非常好的BPQDs作为光热材料刺激DC细胞成熟,希望能为癌症疫苗的研究提供一种新的思路。

材料与方法

材料 黑磷(奥地利 Smart Elements 公司); *N*-甲基吡咯烷酮(*N*-methylpyrrolidine, NMP, 美国 Aladdin

公司); RPMI-1640 培养基、胎牛血清(FBS)(美国 Gibco 公司); Cy5.5、白介素-4(IL-4)(美国 Invitrogen 公司); Fluorescein isothiocyanate(FITC, 上海拓旻生物科技有限公司); 细胞培养瓶、细胞培养板(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 小鼠乳腺癌细胞4T1(南京科佰生物科技有限公司); 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(北京义翘神州生物科技有限公司)。

仪器 细胞超声破碎仪(美国 Sonics 公司); KQ-300GDV 水浴超声仪(昆山超声设备股份有限公司); FEI spirit T12 透射电子显微镜(TEM, 日本日立公司); 纳米粒度及 Zeta 电位仪(英国 Malvern 公司); Leica DMIL 倒置光学显微镜(德国 Leica 公司); FV1000 激光扫描共聚焦显微镜(日本奥林巴斯公司)。

动物 Balb/c 小鼠, SPF 级, 雌性, 6~8 周, 体重 15~17 g, 购自广东省实验动物中心, 许可证号为 SCKX(粤)2013-0002。所有动物实验均经过清华大学动物伦理委员会批准。

BPQDs 的制备 将黑磷晶体 20 mg 加入到装有 40 mL NMP 的离心管中, 置于冰水浴中用探头进行超声, 功率为 500 W, 超声振幅为 25%, 超声 20 s, 间歇 10 s, 连续超声 8 h。然后进行水浴超声, 功率为 300 W, 超声功率为 100%, 连续超声 8 h。超声结束后将样品先 6 000 ×g 离心 30 min, 去除大片的黑磷纳米片, 再 27 000 ×g 离心 1.5 h, 去除上清, 保留沉淀, 保存于 NMP 中, 4 °C 保存。

BPQDs 浓度的测定 采用电感耦合等离子体原子发射光谱仪测定 BPQDs 的浓度。取终浓度 BPQDs 悬液 500 μL 加 ddH₂O 500 μL 定容至 1 mL。在样品中加入浓硝酸 2 mL, 消化过夜使其成为原子状态。第 2 天将样品玻璃小瓶开盖敞口, 放入加热套中 100 °C 加热, 蒸发至 500 μL 溶液, 然后加 ddH₂O 2 mL 继续蒸发, 至 500 μL 液体。再在 500 μL 样品中加 ddH₂O 4.5 mL 定容至 5 mL, 相当于稀释了 10 倍, 此样品用于检测。测试前需要配置梯度标准磷元素溶液用于做标准曲线。

癌细胞的提取 为了得到癌细胞的细胞膜, 用 150 mm 皿培养癌细胞。4T1-luc 细胞的培养条件: 1640 培养基+10% 胎牛血清+1% 双抗+1 μg·mL⁻¹ 嘌呤霉素。待细胞长满后用 0.25% 胰酶消化, 采用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 1~2 次, 最后用含有 0.1 mmol·L⁻¹ PMSF(phenylmethanesulfonyl fluoride)蛋白酶抑制剂的 HM 溶液重悬。将细胞转移到匀浆器中, 在冰上杵 200 次, 将得到的匀浆 1 000 ×g 离心 5 min(去掉细胞核), 取上清液 3 000 ×g 离心 5 min, 得到的上清继续 20 000 ×g

离心 30 min, 取沉淀。用含 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PMSF 蛋白酶抑制剂的 HM 溶液重悬, 置于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

癌细胞膜蛋白浓度的测定 用 BCA 法测定蛋白的浓度。在 96 孔板中将标准品按比例稀释成 0、25、50、100、200、300、400 和 $500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度用于做标准曲线。将含有癌细胞膜的样品稀释 10 倍后, 加样品 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 到 96 孔板中。每孔中加入 BCA 工作液 $200 \text{ } \mu\text{L}$, 在 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中放置 30 min。用酶标仪测定波长 562 nm 下的吸光度值, 最后根据标准曲线和样品稀释的倍数来确定样品的蛋白浓度。

BPQD-CCNVs 的制备 将含有 BPQDs 的 NMP 液体以 $27\ 000 \times g$ 离心 1.5 h, 去除 NMP, 加入 PBS 重悬、吹打分散均匀, 再用探头超声, 功率为 500 W , 超声振幅为 25%, 超声 20 s, 间歇 10 s, 连续超声 5 min。将 BPQDs 质量浓度为 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PBS 悬液 $500 \text{ } \mu\text{L}$ 与癌细胞膜蛋白质量浓度为 $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HM 溶液 $500 \text{ } \mu\text{L}$ 混合, 水浴超声 5 min (300 W , 100% 功率), 即可获得 BPQD-CCNVs。

BPQD-CCNVs 的表征 取 BPQD-CCNVs $10 \text{ } \mu\text{L}$ 滴于有支持膜的铜网上, 静置 30 min, 用滤纸吸走多余液体, 重复 2 次。吸取醋酸铀 $10 \text{ } \mu\text{L}$ 滴于铜网上染色 2 min, 蒸馏水洗 3 次, 真空干燥后用透射电子显微镜进行观察。取适量含有 BPQD-CCNVs 的悬液, 稀释后用纳米粒度及 Zeta 电位仪测其粒径。

温度上升曲线的测定 将 1 mL BPQDs 质量浓度为 $50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 BPQDs PBS 悬液和 1 mL BPQD-CCNVs PBS 悬液加入到 24 孔板中, 用 $1 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的 808 nm 近红外光照射 10 min, 红外热成像仪记录温度的变化, 以 PBS 作为对照组。

骨髓来源的树突状细胞 (BMDC) 的体外培养 用颈椎脱臼法将 Balb/c 小鼠 (6~10 周龄) 处死, 取出所有股骨和胫骨并将骨周围的肌肉组织用剪刀剔除。将骨移至超净台内, 在 70% 酒精中浸泡 5 min 进行消毒灭菌, 然后用无菌 PBS 清洗 2 次。再将骨移入另一个盛有 PBS 的新培养皿中, 剪去骨的两端, 将含有 PBS 的注射器的针头插入骨髓腔中反复冲洗出骨髓直至骨头全部变白。将骨髓悬液转移到离心管中, 用 200 目尼龙网滤去小碎片和肌肉组织, $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清, 用红细胞裂液重悬细胞, 在室温下孵育 5 min, 再 $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃红色上清, 将得到的细胞用含 10% FBS 的 1640 完全培养基 (含 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ GM-SF 和 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-4) 进行培养, 对骨髓细胞进行细胞计数, 将浓度调整为每毫升 1×10^6 个细胞, 加到 12 孔板中, 每孔 1 mL 。此后每两天更换 3/4 体积的新鲜培养液。第 6 天, 轻轻吹打培养液, 收集悬浮细胞及

疏松贴壁生长的细胞; $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清; 用上面提到的培养基重悬细胞并计数, 重新调整浓度至每毫升 1×10^6 个细胞, 加到 24 孔板中继续培养 1~2 天。

细胞摄取实验 将癌细胞膜和 BPQDs 分别用 cy5.5 和 FITC 进行荧光标记制备 BPQD-CCNVs。将 DC 细胞以每孔 1×10^5 个接种于 12 孔板中, 加入荧光标记的 BPQD-CCNVs, 于 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 2 h; 用 DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 对细胞核进行染色 10 min, 吸取培养基于 $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, PBS 重悬, 重复 3 次; 取 $10 \text{ } \mu\text{L}$ 滴于载玻片上, 盖上盖玻片, 置于激光扫描共聚焦显微镜下观察拍照。

细胞活性检测 收集 10 000 个 DC 细胞加到 96 孔板中, 分别加入 BPQDs 和 BPQD-CCNVs 的 PBS 悬液, 共同孵育 24 h 后, 加入 MTS $20 \text{ } \mu\text{L}$ 继续孵育 2 h, 用 490 nm 波长在酶标仪上检测各孔的吸光度值。

DC 细胞的体外激活实验 为了验证基于 BPQD-CCNVs 的光热效应对 DC 的激活作用, 设置了 4 个组, 分别是: blank (#1)、BPQD-CCNVs (#2)、BPQD-CCNVs+NIR (#3) 和 LPS (#4)。将 $100 \text{ } \mu\text{L}$ 加到含有 DC 细胞的 24 孔板中, 放入 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h。对于需要进行红外光热组, 用 $1 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的 808 nm 近红外光照射 10 min, 再放回培养箱。24 h 后收集各组的细胞悬液, $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清, 用 PBS 重悬, 重复 3 遍。用 staining buffer 重悬, 取 1×10^5 个细胞, 用 anti-CD11c-APC、anti-CD80-FITC、anti-CD86-PE 和 anti-MHC II-Percep/Cy5.5 抗体按体积比 1:100 对各组的 DC 细胞在冰上避光染色 30 min, $1\ 200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, staining buffer 重悬, 重复 3 次, 用流式分析仪进行检测, 采用 FlowJo 进行分析。

统计学方法 用 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据处理, 所有实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组之间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 表示具有统计学差异。

结果

1 BPQD-CCNVs 的表征

用 TEM 观察了 BPQD-CCNVs 的形态, 如图 1 所示, BPQD-CCNVs 呈球形的结构, 里面有很多的小黑点 (BPQDs), 说明此方法能够成功包被 BPQDs。用动态散射 (DLS) 法对 BPQD-CCNVs 的粒径和 zeta 电位进行分析, 结果如图 2 所示, BPQD-CCNVs 的粒径大约在 220 nm 左右, zeta 电位为 -23 mV 。此 zeta 电位远高于 BPQDs, 因为 zeta 电位越高, 粒子之间的静电排斥越强, 悬液中粒子的稳定性就越高, 这说明通过癌细胞膜

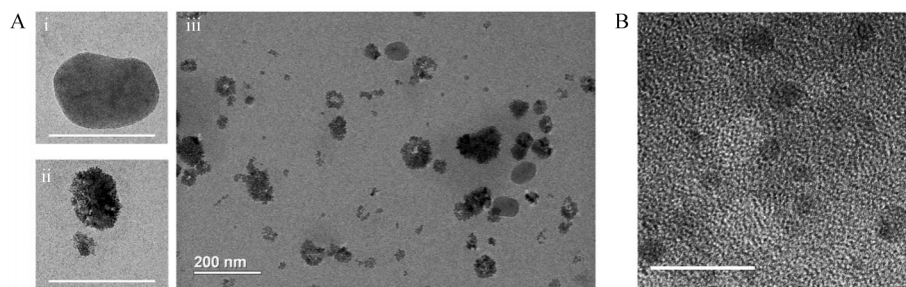


Figure 1 (A) Transmission electron microscope image of i) single CCNV (scale bar, 100 nm), ii) single BPQD-CCNV (scale bar, 100 nm) and iii) BPQD-CCNVs. (B) Transmission electron microscope image of BPQDs (scale bar, 20 nm). CCNV: Cancer cell membrane nanovesicle; BPQD: Black phosphorus quantum dot

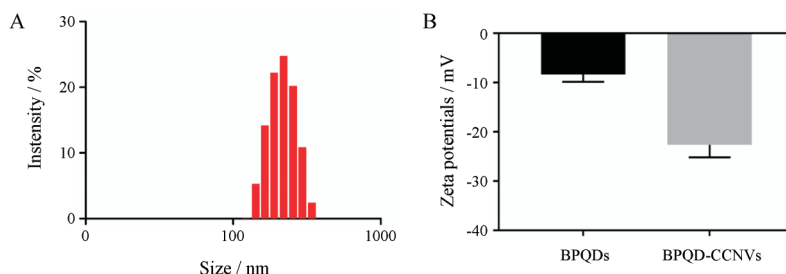


Figure 2 Size distribution of BPQD-CCNVs (A). Zeta potentials of BPQDs and BPQD-CCNVs (B). $n = 3, \bar{x} \pm s$

的包被, BPQDs 在分散剂中的稳定性增强了。

2 细胞毒性实验

用 MTS 法验证了 BPQDs 和 BPQD-CCNVs 对 DC 细胞的毒性, 如图 3 所示, 可以看到不同黑磷制剂对 DC 细胞存活率几乎没有变化。因此, 可以判断 BPQDs 和 BPQD-CCNVs 对细胞没有太大的毒性, 具有非常好的生物相容性。并且在经过 NIR 照射之后, DC 细胞的存活率也没有明显的变化, 证明了此方法的安全性。

3 细胞摄取实验

采用共聚焦荧光显微镜观察 DC 细胞对 BPQD-CCNVs 的摄取情况, 结果如图 4 所示, 蓝色荧光为细胞核, 绿色荧光为 BPQDs, 紫色荧光为细胞膜, 可以看到在细胞核周围有许多紫色荧光和绿色荧光的重叠, 即被 DC 细胞摄取的 CCNVs, 绿色荧光为 CCNVs 内的 BPQDs, 说明 BPQD 可通过 CCNVs 被 DC 细胞摄取。

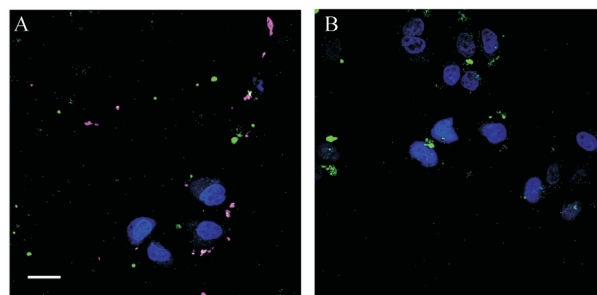


Figure 4 Confocal images of cell uptake of BPQD-CCNVs (A) and BPQDs (B). Scale bar, 10 μ m

4 细胞光热实验

当 DC 细胞摄取 BPQD-CCNVs 后, 用 808 nm 近红外光对培养基进行照射, 如图 5 所示, 随着时间的推移, BPQDs 和 BPQD-CCNVs 组的培养基的温度逐渐升高, 最后都稳定在 43 $^{\circ}$ C 左右, 而加入 PBS 组的温度并没有变化, 说明包裹细胞膜后对 BPQDs 的光热作用

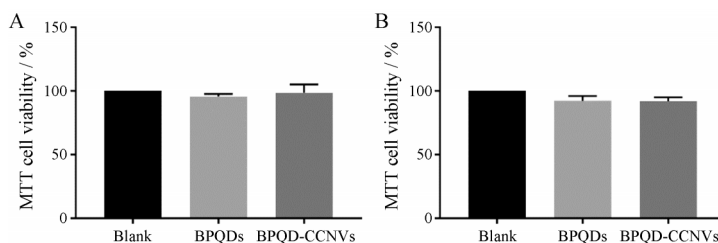


Figure 3 Cell viability of dendritic cells (DCs) after incubated with different formulations (A) and DCs 24 h after irradiated with 808 nm near infrared radiation (NIR) for 10 min when incubated with different formulations (B). $n = 3, \bar{x} \pm s$

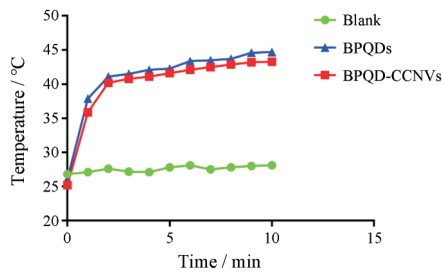


Figure 5 Time-dependent temperature increase of BPQDs and BPQD-CCNVs dispersed in phosphate buffer saline (PBS) and irradiated with 808 nm laser ($1 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) for 10 min

没有影响。

5 DC细胞的活性检测

设置了4个组来验证光热效应对树突状细胞的激

活作用,分别是: blank (#1), BPQD-CCNVs (#2), BPQD-CCNVs + NIR (#3) 和 LPS (#4)。首先,用倒置显微镜观察各孔中DC细胞的成熟情况,如图6所示。Blank (#1) 和 BPQD-CCNVs (#2) 组的悬浮细胞形态没有变化,始终保持圆形,而 BPQD-CCNVs + NIR (#3) 和 LPS (#4) 组都可以看到许多有树突状结构的细胞(见红色箭头)。因此,初步判断光热作用可以刺激DC细胞成熟。

为了进一步验证DC细胞的成熟情况,采用流式细胞分析仪对获得的细胞进行检测。对于流式分析的结果,首先将 anti-CD11c-APC 标记的细胞圈出来作为DC细胞,再分别对它的 CD80、CD86 和 MHC-II 的表达情况进行分析。流式结果如图7和8所示,与 blank

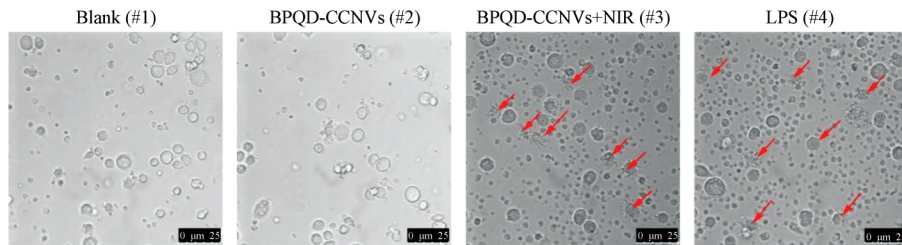


Figure 6 Microscope image of DCs at 24 h after different treatments. The red arrow marked mature DCs. Scale bar, 25 μm

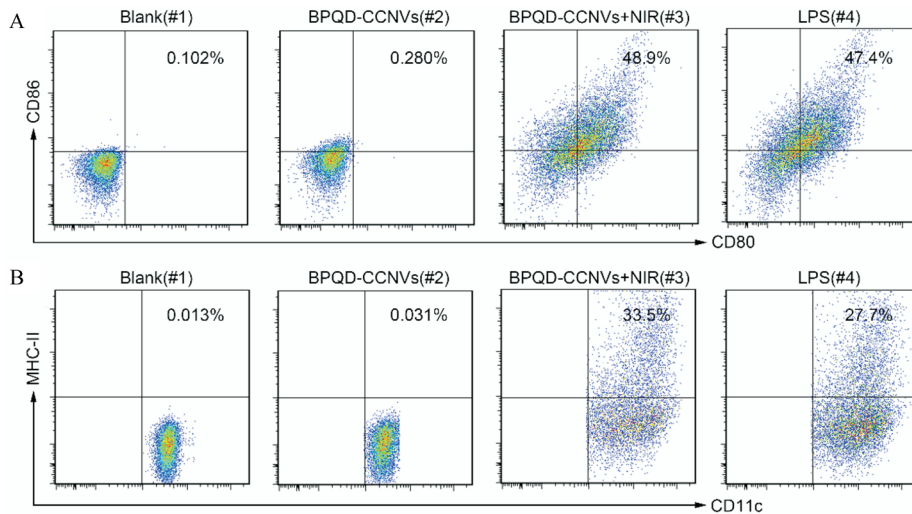


Figure 7 Representative flow cytometry plots of CD80⁺ CD86⁺ DCs (gated on CD11c⁺) (A), CD11c⁺ MHC-II⁺ cells (gated on CD11c⁺) (B) from different treatment groups

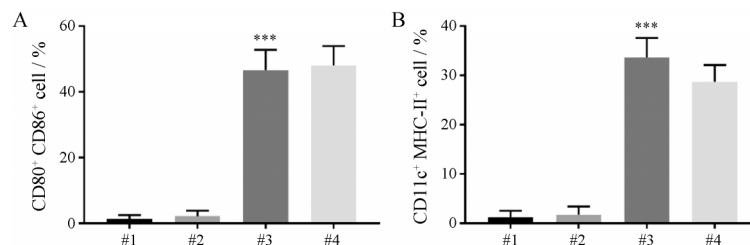


Figure 8 Quantitative analysis of CD80⁺ CD86⁺ DCs (gated on CD11c⁺ cells) (A) and CD11c⁺ MHC-II⁺ cells (B) from different groups. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. #1: Blank; #2: BPQD-CCNVs; #3: BPQD-CCNVs+NIR; #4: LPS. *** $P < 0.001$ vs blank group

(#1) 相比, BPQD-CCNVs (#2) 组的 DC 细胞中 MHC-II、CD80 和 CD86 的表达量并没有明显的变化, 而 BPQD-CCNVs + NIR (#3) 组和 LPS (#4) 组都有明显地上升, 这与倒置显微镜下观察的结果一致, 说明基于 BPQD 光热效应可以促进 DC 细胞的成熟。

讨论

免疫治疗是现今癌症治疗研究中最热门的领域, 主要包括免疫检查点阻断、CAR-T 细胞治疗和肿瘤疫苗等。针对 PD1/PDL-1 和 CTLA4 的免疫检查点阻断剂在多种癌症的治疗中都取得了非常好的效果, 自 2011 年起, FDA 已经批准 5 种 PD1/PDL-1 阻断剂药物上市^[16]。而肿瘤疫苗作为癌症免疫治疗最活跃的领域之一, 也一直受到广泛的关注。目前的肿瘤疫苗主要包括: DC 细胞疫苗^[17]、多肽疫苗^[18]和基因疫苗^[19]。

DC 细胞是哺乳动物中最有效的抗原提呈细胞^[20], 在启动适应性免疫应答中发挥着重要的作用, 它能够通过交叉提呈的方式将外源性抗原 MHC-I 复合物呈递给 CD8⁺ T 细胞, 因此它的激活程度对于抗肿瘤免疫反应的启动和强度至关重要。CD80 又称为 B7, CD86 又称为 B7-2, 两者均表达于活化的树突状细胞表面, 能够联合提供 T 细胞活化的共刺激信号; MHC-II 是主要组织相容性复合体 II, 能够将胞外抗原通过抗原提呈的方式呈递给 T 细胞, 激活免疫系统^[21]。经过光热作用后, DC 细胞表面的 MHC-II 分子表达量升高了, 说明 DC 细胞的抗原提呈增加, 且 CD80 和 CD86 的表达量也都明显上升, 说明 DC 细胞刺激 T 细胞成熟的能力也增强了。本研究证明, 基于 BPQD 光热效应可以刺激 DC 细胞的成熟, 作者猜测这可能是因为模拟了机体内发烧的过程^[22]。

在本研究中, 将癌细胞膜作为载体包裹黑磷量子点制备了 BPQD-CCNVs, 使它能够通过树突状细胞吞噬, 再用 808 nm 近红外照射, 可以刺激树突状细胞成熟, 希望可以为肿瘤疫苗的开发提供一种新的策略。

References

- [1] Wang RF, Wang HY. Immune targets and neoantigens for cancer immunotherapy and precision medicine [J]. *Cell Res*, 2017, 27: 11-37.
- [2] Zhao ZJ, Chen Y, Francisco NM, et al. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: advantages and challenges [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 539-551.
- [3] Baumeister SH, Freeman GJ, Dranoff G, et al. Coinhibitory pathways in immunotherapy for cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2016, 34: 539-573.
- [4] Hwang WL, Pike L, Royce TJ, et al. Safety of combining radiotherapy with immune-checkpoint inhibition [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 477-494.
- [5] Sahin U, Tureci O. Personalized vaccines for cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2018, 359: 1355-1360.
- [6] Newick K, O'Brien S, Moon E, et al. CAR T cell therapy for solid tumors [J]. *Annu Rev Med*, 2017, 68: 139-152.
- [7] Drake CG, Lipson EJ, Brahmer JR. Breathing new life into immunotherapy: review of melanoma, lung and kidney cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11: 24-37.
- [8] Lubaroff DM. Prostate cancer vaccines in clinical trials [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2012, 11: 857-868.
- [9] Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, et al. Tumor antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14: 135-146.
- [10] Liu YF, Xue XX, Li ZY, et al. Effect of apigenin on dendritic cells maturation and function in murine splenocytes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 397-402.
- [11] Gusmao R, Sofer Z, Pumera M. Black phosphorus rediscovered: from bulk material to monolayers [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56: 8052-8072.
- [12] Gui R, Jin H, Wang Z, et al. Black phosphorus quantum dots: synthesis, properties, functionalized modification and applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 6795-6823.
- [13] Tao W, Zhu X, Yu X, et al. Black phosphorus nanosheets as a robust delivery platform for cancer theranostics [J]. *Adv Mater*, 2017. DOI: 10.1002/adma.201603276.
- [14] Liang X, Ye X, Wang C, et al. Photothermal cancer immunotherapy by erythrocyte membrane-coated black phosphorus formulation [J]. *J Control Release*, 2019, 296: 150-161.
- [15] Yee C, Lizee GA. Personalized therapy: tumor antigen discovery for adoptive cellular therapy [J]. *Cancer J*, 2017, 23: 144-148.
- [16] Mahoney KM, Rennert PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14: 561-584.
- [17] Kastenmuller W, Kastenmüller K, Kurts C, et al. Dendritic cell-targeted vaccines--hope or hype? [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 705-711.
- [18] Yamada A, Sasada T, Noguchi M, et al. Next-generation peptide vaccines for advanced cancer [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104: 15-21.
- [19] Aurisicchio L, Ciliberto G. Genetic cancer vaccines: current status and perspectives [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12: 1043-1058.
- [20] Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future [J]. *Annu Rev Immunol*, 2012, 30: 1-22.
- [21] Song Q, Zhang CD, Wu XH. Therapeutic cancer vaccines: from initial findings to prospects [J]. *Immunol Lett*, 2018, 196: 11-21.
- [22] Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15: 335-349.