

## 基于树突状细胞的疫苗递送研究进展

沈亦池<sup>1</sup>, 范雪莲<sup>1</sup>, 王 飞<sup>1</sup>, 陈 刚<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 扬州大学兽医学院(比较医学研究院), 江苏 扬州 225009; 2. 扬州大学, 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009; 3. 扬州大学, 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 树突状细胞 (dendritic cell, DC) 是目前已知功能最强大的专职抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC), 其在机体免疫反应的启动与调控中起着至关重要的作用。因此, 基于 DC 的疫苗递送系统逐渐成为基础科研与临床治疗关注的热点。DC 可以负载全细胞抗原、核酸、多肽、蛋白 [新生抗原 (neoantigen)] 及纳米粒, 进行抗原的加工递呈及体内靶向递送, 以诱导机体产生特异性细胞免疫应答与体液免疫应答, 用于肿瘤、微生物感染等多种疾病的预防与治疗。基于此技术制备的疫苗被称为 DC 疫苗, 近年来 DC 疫苗研究取得了长足的进展, 本文以 DC 特性、DC 疫苗种类及其临床研究进展进行综述。

**关键词:** 树突状细胞; 抗原; 疫苗; 适应性免疫; 纳米粒

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)09-2485-10

## Advances in dendritic cell-based vaccine delivery

SHEN Yi-chi<sup>1</sup>, FAN Xue-lian<sup>1</sup>, WANG Fei<sup>1</sup>, CHEN Gang<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Institute of Comparative Medicine, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 3. Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-Product Safety, the Ministry of Education of China, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** Dendritic cells (DCs) are the most powerful and professional antigen-presenting cells (APCs) known at present. They play vital roles in the initiation and regulation of immune responses in body. Therefore, DC-based vaccine delivery system has gradually become a hotspot of basic scientific research and clinical treatment. DCs can be loaded with whole-cell antigens, nucleic acids, peptides, proteins (such as neoantigens) and nanoparticles to induce specific cellular immune responses and humoral immune responses after antigen processing, presentation and targeting delivery *in vivo* for the prevention and treatment of various diseases including cancers and microorganism infections. Vaccine-based on this technique is called dendritic cell (DC) vaccines. Great process in DC vaccines has been achieved in recent years. Therefore, we reviewed the characteristics of DC, types of DC vaccines and their clinical research progress in this paper.

**Key words:** dendritic cell; antigen; vaccine; adaptive immunity; nanoparticle

1973年, 加拿大学者 Steinman 和 Cohn 首先发现并报道了树突状细胞 (dendritic cell, DC), 随后, 人们

对这种具有伪足样形态的细胞进行了长时间的探索。DC 是目前已知功能最强大的抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC), 其抗原递呈能力是 B 细胞和巨噬细胞的 100~1 000 倍。DC 具有较大的表面积及丰富的抗原递呈分子 MHC-I 和 MHC-II, 其中, MHC-I 类分子递呈抗原用于激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞, 使其分化为细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL), 行使杀

收稿日期: 2021-03-28; 修回日期: 2021-04-29.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31900993); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD); 江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目 (创新类项目) (20191117102Y).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-514-87931730, E-mail: gang\_chen2015@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0452

伤功能。MHC-II类分子则将抗原递呈给 $CD4^+$ T细胞,活化的 $CD4^+$ T细胞进一步辅助 $CD8^+$ T细胞的增殖与分化及B细胞的类别转换。与巨噬细胞只能刺激已活化的记忆性T细胞不同,DC具有诱导初始T细胞增殖的独特能力,可诱导的免疫反应更为广泛<sup>[1,2]</sup>。因此,DC在免疫反应中起着举足轻重的作用。根据目前相关体内实验报道,全细胞抗原、核酸、多肽、蛋白或纳米粒负载的DC疫苗都可以识别、激活靶细胞,实现特异性的免疫应答,近来研究发现DC疫苗在恶性肿瘤及传染性疾病的治疗中取得了良好的效果。现就基于DC的疫苗递送研究进展进行综述(图1)。

### 1 DC的生物学特性

目前研究认为,DC主要分为淋巴DC(lymphoid DC),又称浆细胞样DC(plasmacytoid dendritic cell, pDC)和骨髓DC(myeloid dendritic cell, mDC)。mDC由髓样干细胞经粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)诱导分化形成,而pDC则由淋巴样干细胞分化而来。在免疫系统中,DC主要表现为未成熟和成熟两种状态<sup>[3]</sup>。在不同状态下,DC表现的特性与功能也不同。由干细胞分化来的pDC与mDC为未成熟的DC,经抗原刺激后,将会转变为成熟的DC。摄取抗原、分化成熟并通过淋巴管迁移至淋巴结是DC的重

要特征,也是实现抗原递呈的必要条件。未成熟DC具有强大的抗原摄取能力,而成熟的DC则具有较强抗原加工与递呈能力;未成熟的DC低表达抗原递呈分子MHC-I、MHC-II及表面共刺激分子CD40、CD80、CD86,高表达FcR、CR和TLR等,而成熟的DC则与之相反;此外,未成熟DC分泌的细胞因子主要有TNF- $\alpha$ 、IL-1和IL-6等,并且表达CCR1、CCR2、CCR5、CXCR1和CXCR2等炎性趋化受体;而成熟DC主要分泌IL-2和IL-4,表达CCR7和CXCR4,这就使得DC具有针对不同的趋化因子发生响应,并迁移到不同部位的能力<sup>[4]</sup>。

### 2 DC疫苗的种类与研究进展

传统意义的疫苗是一种将病原体通过灭活或减毒等过程制备的可以预防疾病的制剂,属于预防性疫苗。而近年来通过诱导机体免疫应答,用于抵抗疾病的治疗性疫苗也成为疫苗领域研究的重点。DC凭借其强大的抗原摄取、加工及递呈能力成为疫苗制备的理想选择,具有防治结合功能的DC疫苗也为多种疾病,如乙肝、恶性肿瘤等提供了新的应对手段。本文将对不同类型的DC疫苗展开综述,并分析其各自的制备方法及其特点。

#### 2.1 DC递送全细胞抗原

全细胞抗原负载的DC疫苗是指用整个细胞作为抗原负载至DC获得的疫苗。全细胞抗原DC疫苗主

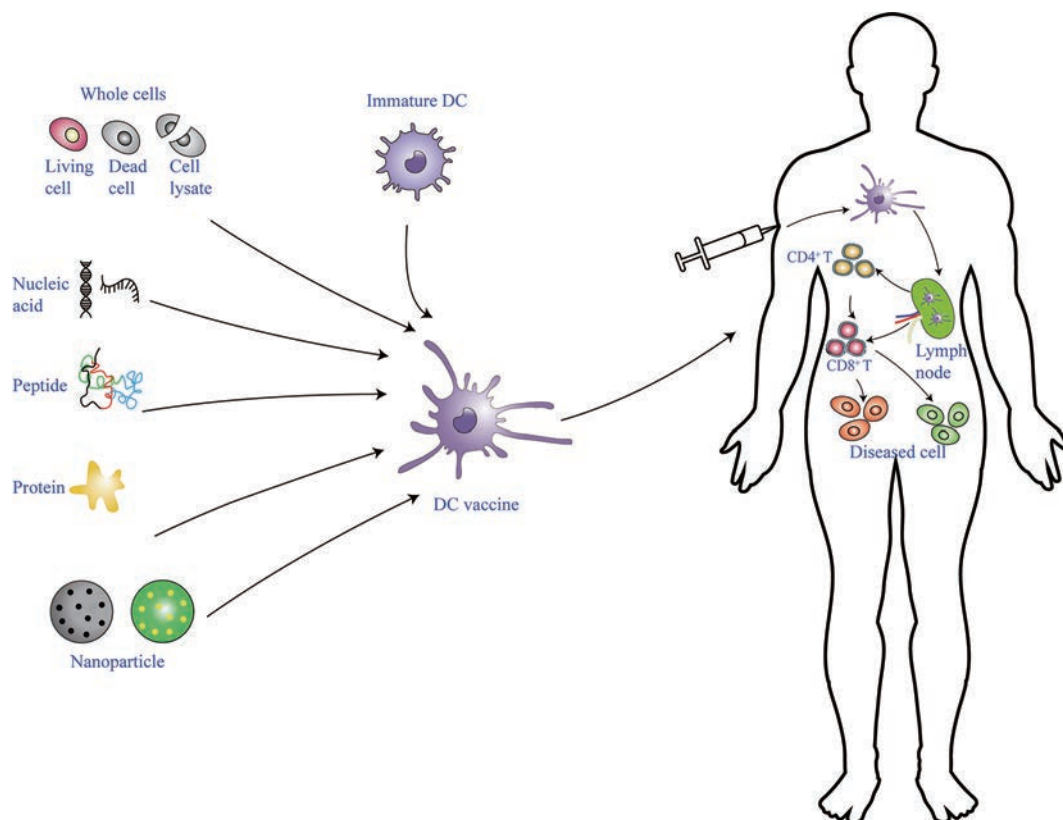


Figure 1 Dendritic cell (DC) vaccine generation and action in patient's body

要分为三种:

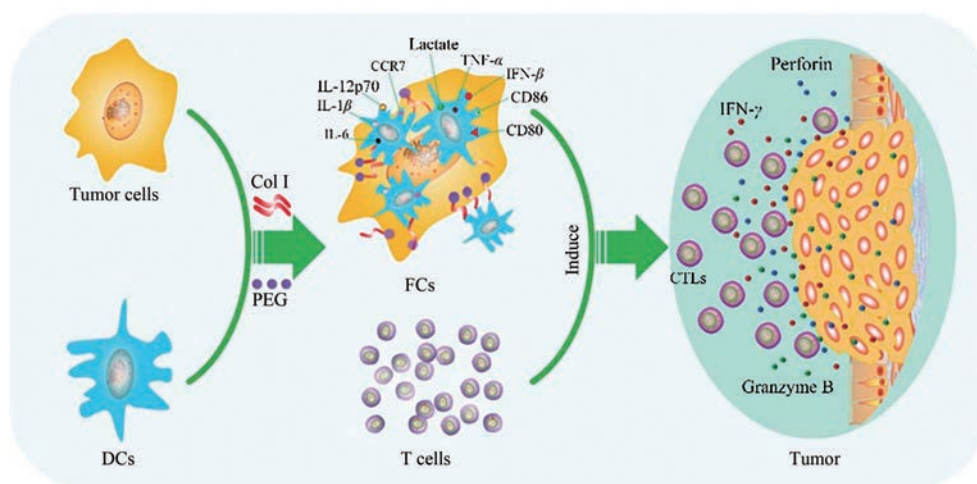
第一种是使用死细胞作为抗原,未成熟的DC可以吞噬凋亡细胞来进行抗原的加工和递呈。通过物理、生物或化学手段,如紫外照射、射线辐射、病毒感染、丝裂霉素C及神经酰胺处理等均可诱导细胞凋亡。Xie等<sup>[5]</sup>利用经X射线辐射诱导凋亡的膀胱癌细胞制备DC疫苗,结果显示负载凋亡肿瘤细胞的DC疫苗对小鼠膀胱癌肿瘤生长具有显著的抑制作用。另外,DC疫苗与免疫调节药物联合使用是提高特异性T细胞免疫应答和根除残余病灶的一种新方法,Lapenta等<sup>[6]</sup>通过对淋巴瘤细胞进行热休克处理、 $\gamma$ 射线及紫外照射诱导其凋亡并制备DC疫苗,进一步联合具有抗癌及免疫调节功能的来那度胺治疗滤泡性淋巴瘤,这种联合治疗显著增强了抗肿瘤效果。

第二种是使用活细胞作为抗原与DC融合构建肿瘤疫苗,目前主要有两种融合方法:聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)法和电融合法。PEG法具有操作简单,适用范围广的优势,然而,其介导的细胞融合效率会受到PEG分子量、pH、温度和处理时间等多种因素的影响,并且在不同条件下融合效率差异较大,导致实验的重复性差。此外,PEG的毒性也会导致融合细胞的活性处于较低的水平<sup>[7]</sup>。为解决PEG法融合效率低的问题,He等<sup>[8]</sup>利用I型胶原蛋白能够修复受损细胞膜、上调DC中CXCL1和CXCL2受体表达的特性,将其应用于PEG法融合小鼠黑色素瘤B16细胞与DC,研究表明I型胶原蛋白可以显著提高PEG法的融合效

率,增强融合疫苗的抗肿瘤活性(图2)。电融合法是在直流电脉冲作用下,降低细胞膜表面氧化还原电位,利用细胞间的极性形成融合体<sup>[7]</sup>。近年多项研究表明,应用电融合法融合DC与肿瘤细胞,如人前列腺癌细胞和乳腺癌细胞等,制得的DC疫苗可以显著增强体内抗肿瘤免疫效应。相较于PEG法,电融合法融合效率高,能够在显微镜下观察或录像融合过程,具有较强的重复性,省去了PEG法诱导后的洗涤过程,可以对诱导过程进行更精细的控制。然而,这种方法往往受到多方面因素的制约,包括细胞外缓冲液条件的限制,高压电脉冲长时间作用对细胞活力的影响,以及电泳环境离子外渗造成的细胞损伤等<sup>[9]</sup>。

第三种是将细胞裂解液负载于DC制备疫苗。通过超声、反复冻融等手段裂解肿瘤细胞,制备细胞裂解液,而后与DC孵育获得DC疫苗。该方法不要求获得新鲜的肿瘤组织或活的肿瘤细胞,这是目前最成熟的全细胞抗原DC疫苗的制备方法。Sun等<sup>[10]</sup>开展了一项利用患者自体肝癌细胞裂解液制备DC疫苗的临床试验,将160例肝癌患者随机平均分成2组,其中一组术后接受6周期自体肝癌细胞裂解液制备的DC肿瘤疫苗治疗,另一组术后接受6周期奥沙利铂、氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸钙治疗。术后随访18个月,DC肿瘤疫苗组患者的生存率高于化疗组,其转移复发率也明显低于化疗组。该结果表明,利用自体肝癌细胞裂解液制备的DC疫苗,对肝癌复发和转移具有良好的干预作用。

全细胞抗原负载的优势在于不需要事先鉴定肿瘤



**Figure 2** DC/tumor fusion cell vaccine induced by collagen I/PEG. Collagen I/PEG promotes the expression of DC surface molecules, including CD80, CD86, CCR7, and MHC-I and II proteins, and significantly increases the secretion of lactate and cytokines IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , and IL-12p70 in fusion cells, thus promoting the maturation of DC/tumor fusion cells, enhancing the antigen presentation ability of DCs and activating T cells more efficiently, which resulted in higher anti-tumor activity. FCs: Fusion cells; CTLs: Cytotoxic T lymphocytes; CCR: Chemokine receptor; IFN: Interferon; TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; IL: Interleukin; Col I: Collagen I; PEG: Polyethylene glycol; CD: Clusters of differentiation; CD80: Cluster of differentiation 80; CCR7: Chemokine receptor 7; MHC-I: Major histocompatibility complex class I; IL-6: Interleukin 6. (Adapted from Ref. 8 with permission. Copyright © 2017 Landes Bioscience)

特异性抗原 (tumor-specific antigen, TSA) 或者肿瘤相关性抗原 (tumor-associated antigen, TAA), 拥有大量的抗原表位, 可以诱导针对多种抗原决定簇的 CTL 反应, 从而进行更为有效的免疫治疗。但由于这种全细胞性抗原负载的 DC 疫苗含有数量巨大、种类繁多的非肿瘤性抗原, 因此存在着诱发自身免疫性疾病的风险<sup>[11]</sup>。

## 2.2 DC 递送核酸疫苗

核酸负载的 DC 疫苗是指将抗原的基因 (DNA) 或抗原的 mRNA 载入 DC 所制成的疫苗。核酸主要通过病毒载体介导法和非病毒载体介导法转染 DC。病毒载体介导法主要利用腺病毒、牛痘病毒和流感病毒等传递基因进入靶细胞进行转染<sup>[12]</sup>。病毒载体介导法虽然具有较高的转染效率, 然而病毒表达的相关蛋白可能影响 DC 活性甚至诱发非特异性 T 细胞免疫反应, 对机体产生致病性。此外, 还无法排除病毒基因与 DC 基因发生随机重组的可能性<sup>[13]</sup>。非病毒载体介导法主要包括脂质体法及基因枪法等。与病毒载体相比, 非病毒载体不仅免疫原性低, 安全性有保障, 而且便于进行修饰改造, 实现靶向传输等功能。

在免疫反应的诱导中, RNA 负载的疫苗相比 DNA 具有更高效的作用, 也更为常见<sup>[14,15]</sup>。Landi 等<sup>[14]</sup>的研究证明了这一点, 他们比较了体外 RNA 与质粒 DNA 转染未成熟 DC 的效果, 结果表明同种条件下 RNA 转染的 DC 表型和功能特征更为全面, 提示 RNA 负载的 DC 疫苗相比 DNA 具有更强的诱导免疫反应的潜力。近 20 年来, 利用 mRNA 致敏 DCs 制备的抗肿瘤疫苗所开展的临床试验已达 47 项 (Clinicaltrial.gov 检索数据), 主要分布在美国、比利时、荷兰及挪威等国家, 我国有 4 项 mRNA 负载 DCs 的抗肿瘤疫苗也进入了临床试验阶段<sup>[16]</sup>。尽管如此, RNA 的不稳定性及易被降解的缺点仍然需要进一步改进。总体来说, RNA 或 DNA 负载的 DC 疫苗具有以下优点: ① 病毒类载体作为外源性物质可以促进 DC 成熟, 增强免疫应答<sup>[17,18]</sup>; ② 由于缺乏正常细胞抗原, 引起自身免疫反应或免疫耐受的可能性小<sup>[19]</sup>; ③ 无需明确个体 MHC 分子和抗原位点, 可以表达全蛋白序列并且包含全部的抗原位点<sup>[19]</sup>; ④ 可以长期表达共刺激分子或抗原和细胞因子, 增强 DC 细胞递呈抗原的能力, 促进 T 细胞的激活<sup>[19]</sup>; ⑤ 基因修饰也可以帮助 DC 延长自身寿命, 促进 T 细胞的活化<sup>[12,19]</sup>。然而, 核酸负载的 DC 疫苗对操作技术要求较高, 且在回输数量、接种途径、次数及间隔时间等方面的条件还需要进一步探索<sup>[12]</sup>。

## 2.3 DC 递送抗原肽

抗原肽负载的 DC 疫苗是指利用 TSA 或 TAA 负载 DC 而制备的疫苗, 负载抗原肽是 DC 疫苗制备中较为

常用的一种方法<sup>[20]</sup>。Yanagisawa 等<sup>[21]</sup>利用肿瘤中高表达的 Wilms 肿瘤 1 (Wilms' tumor 1, WT1) 抗原肽制备了 WT1-DC 疫苗, 联合化疗应用于胰腺癌术后患者治疗, 显示出良好的安全性及潜在的免疫活性, 为患者的预后带来了希望。与全细胞抗原负载的 DC 疫苗相比, 抗原肽负载的 DC 疫苗具有表位的特异性。由于只需要特定的多肽片段, 其安全性比全细胞抗原负载的 DC 疫苗也有很大提升。然而, 由于抗原表位单一, 无法对抗原变异的发生<sup>[13]</sup>。针对这个问题, 多靶点抗原肽免疫细胞治疗受到了人们的关注, 通过将多个抗原肽负载于 DC, 激活针对多种抗原表位的特异性免疫反应, 解决了单一抗原肽免疫激活受限的问题。Han 等<sup>[22]</sup>将该策略应用于肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者治疗, 结果显示, HCC 患者对该方案具有良好的耐受性, 并能产生针对多种肿瘤相关抗原的免疫反应, 获得了显著的抗肿瘤效果, 彰显了该策略的良好前景。

## 2.4 DC 递送蛋白质疫苗

利用蛋白质负载 DC 也是 DC 疫苗的重要组成部分, 携带肿瘤抗原表位的蛋白质被 DC 摄取加工, 进而递呈给 T 细胞以激活免疫反应。与多肽抗原相比, 其优点是可以诱导针对多种抗原的免疫反应, 且相较于多肽而言可以更好地激活 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞。在病毒引起的疾病中, 病毒抗原蛋白负载的 DC 疫苗发挥着重要作用。Akbar 等<sup>[23]</sup>将乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 负载于 DC, 进一步评价了这种 HBsAg 致敏 DC 疫苗对乙型肝炎疫苗无应答者的免疫效果。结果显示, 乙型肝炎疫苗无应答者使用该 DC 疫苗没有表现出立即、早期或延迟不良反应, 在使用 DC 疫苗后, 所有乙型肝炎疫苗无应答者的血清中均检测到 HBs 的抗体。2019 年 12 月至今, 新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 大流行带来了史无前例的大灾难, DC 疫苗也为新冠肺炎的防控提供了一种方案和思路。如 Aivita 医药公司制备出携带 SARS-CoV-2 抗原的 DC 疫苗, 以求能够预防成年人感染 COVID-19<sup>[24]</sup>。

值得关注的是, 近年来新生抗原已成为蛋白疫苗研究的热点。新生抗原是癌细胞在基因变异的基础上产生的带有特异性氨基酸突变序列的蛋白, 这种抗原制成的肿瘤疫苗的最大特点就是“个性化”。每个患者使用的疫苗都来自自体基因突变, 可以做到因人而异, 定制个性化的疫苗并实现个体化治疗<sup>[25]</sup>。基因测序技术的快速发展为新生抗原疫苗的研发提供了重要支持, 通过对患者进行全基因组和 RNA 测序, 找出所有的突变基因, 锁定最容易引发免疫反应的“靶点”, 再针

对性地设计疫苗对患者进行治疗。此外,新生抗原还具有肿瘤细胞中表达,不会导致机体免疫耐受的特点<sup>[26]</sup>。目前,越来越多的研究围绕新生抗原来制备DC疫苗,Carreno等<sup>[27]</sup>从产生特异性新抗原来源的角度出发,分析鉴定出一种人类黑色素瘤的新生抗原,即:HLA-A\*02:01,将其负载于DC中,制成DC疫苗。结果表明,这种针对肿瘤编码氨基酸替代的免疫接种可扩大抗肿瘤免疫的抗原宽度和克隆多样性。Zhang等<sup>[28]</sup>基于目前广泛研究的癌症疫苗的两种形式:TAA致敏的DC疫苗和蛋白质或多肽联合佐剂疫苗,使用鼠肺癌候选新生抗原,比较了这两种类型疫苗在诱导免疫和抗肿瘤作用上的差异,结果表明,新生抗原DC疫苗在激活免疫应答和抑制肿瘤生长方面均优于新生抗原佐剂疫苗。

## 2.5 DC递送纳米抗原

近年来,各种纳米材料层出不穷,纳米技术的发展为疾病治疗开辟了新的方向,纳米粒负载的DC疫苗也在疾病的防治中崭露头角。本文将负载DC的纳米粒分为无机与有机两种。

### 2.5.1 无机纳米系统负载的DC疫苗

金纳米粒(gold nanoparticle, AuNP)是广泛研究的无机纳米材料,这种粒子的优点是易于控制尺寸和形貌,易于表面修饰,不会在细胞内长期积累,具有良好的生物相容性等<sup>[29-32]</sup>。在DC疫苗中,AuNP也占有一席之地,Zhou等<sup>[33]</sup>为了提高DC体外抗原负载效率和体内归巢能力,通过对AuNP的粒径(10~90 nm)及形貌(球形、棒状及立方体)进行筛选,与游离抗原(OVA)相比,所有负载OVA的纳米粒均可显著提高DC的摄取效率,其中60 nm的球形颗粒(AuNP60)最优。进一步对各种金纳米载体的组合模式进行筛选,结果表明,60 nm(AuNP60/OVA)与80 nm(AuNP80/CpG)的球形颗粒按1:1的比例调配为最佳配伍模式,即纳米鸡尾酒组合模式(NanoAu-Cocktail)。将NanoAu-Cocktail负载至DC制备疫苗,通过体内外实验分析发现,该DC疫苗的总淋巴组织归巢数量和肝脏引流淋巴结归巢数量分别提高了15倍和36倍,可有效激活特异性CD8<sup>+</sup>T细胞反应,与游离的CpG和OVA负载的DC相比,分别高6.5倍和3.4倍。攻毒实验表明,该DC疫苗可有效保护小鼠免受肝脏病毒的感染。这也展现出了以AuNP为代表的无机纳米粒在DC疫苗中的良好应用前景(图3)。

此外,氧化铁纳米粒也是一种具有良好安全性的无机纳米材料。在DC疫苗方面,Mou等<sup>[34]</sup>将氧化铁纳米粒负载于体外培养的DC中,通过 $\beta$ -半乳糖苷酶测定氧化铁纳米粒对DC抗原递呈能力的影响,结果

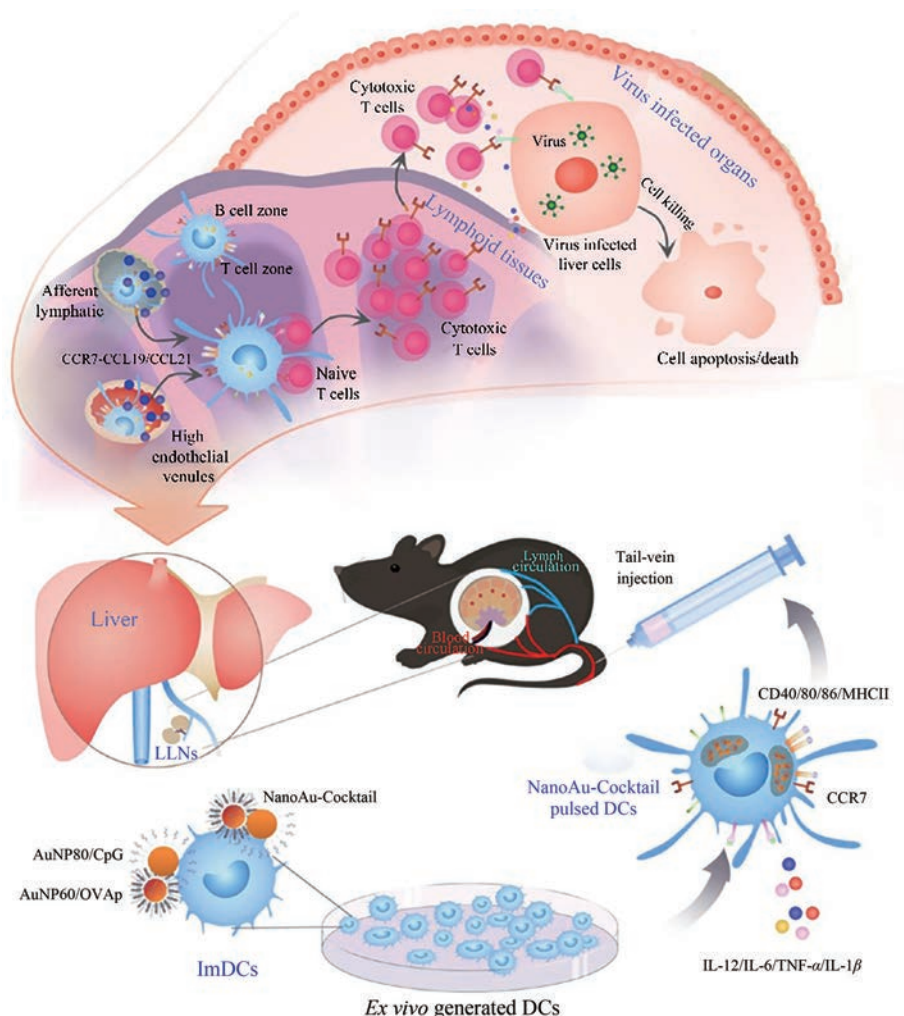
表明氧化铁纳米粒具有显著促进DC抗原递呈的能力,且具有良好的DC标记功能。此外,研究人员还证明了修饰3-氨丙基三乙氧基硅烷带正电荷的氧化铁纳米粒与修饰二巯基琥珀酸带负电荷的氧化铁纳米粒相比,带正电荷的粒子促进DC抗原递呈能力更强,表明氧化铁纳米粒作为DC疫苗佐剂具有潜在优势。

### 2.5.2 有机纳米系统负载的DC疫苗

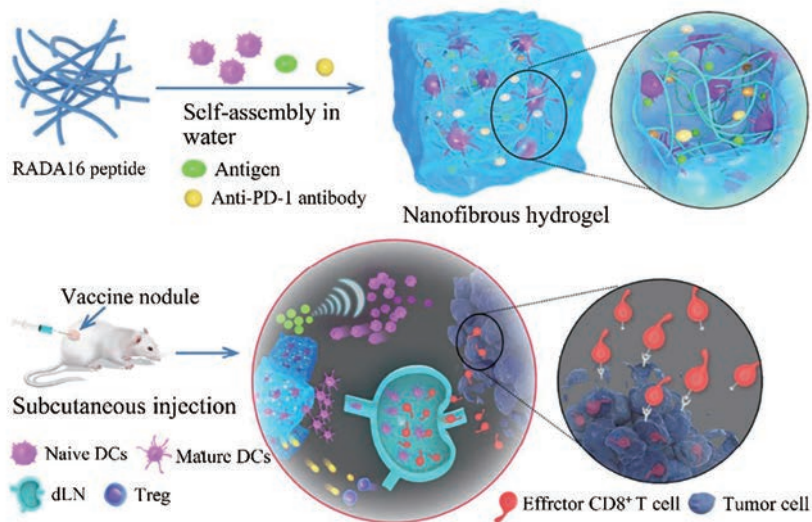
目前已经有多种有机材料用于DC疫苗设计,Jadidi-Niaragh等<sup>[35]</sup>评估了直接联合使用纳米颗粒与DC疫苗的抗肿瘤效果,为了阻断CD73在肿瘤生长、血管生成和新陈代谢中的关键作用,他们首先使用壳聚糖-乳酸纳米颗粒装载CD73特异性siRNA,进一步制备负载肿瘤细胞裂解物的DC疫苗,两者联合应用治疗小鼠4T1乳腺癌,结果显示,该策略可降低CD73在肿瘤细胞中的表达,从而降低肿瘤的生长和转移,提高小鼠的存活率,并能下调Treg、MDSC及肿瘤相关巨噬细胞的含量,增强CTL效应。因此,该纳米粒可以显著增强DC疫苗的抗肿瘤效果。Yang等<sup>[36]</sup>开发了一种由多肽纳米纤维、DC、抗PD-1抗体和肿瘤抗原简单混合组成的水凝胶,通过皮下注射,这种纳米纤维水凝胶不仅可以使内部封装的DC摄取抗原,同时可以募集体内的DC,并促进这些激活的DC到达淋巴结,增强抗原特异性脾细胞的增殖,诱发强烈的细胞免疫反应(图4)。值得关注的是, Yang等<sup>[37]</sup>为了避免DC疫苗制备的繁琐步骤,设计了一种三嵌段共聚物交联的纳米囊泡,通过光动力杀伤及低剂量多柔比星诱导肿瘤免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD),释放肿瘤抗原,生成DC捕获肿瘤抗原的“原位DC疫苗”,这种治疗模式对于原位及远端肿瘤均具有显著的抑制作用,该策略也为DC疫苗设计提供了全新理念。

### 2.5.3 其他

无机材料往往面临生物相容性与生物降解性差等一系列问题,而有机材料存在稳定性或结构刚性较差等缺陷,通过不同材料的复合,可以实现性质互补与优化,为制备性能优异的新材料提供可能,同时使用无机及有机材料制备的杂化纳米粒也被用于DC疫苗设计。Grippin等<sup>[38]</sup>设计了一种负载RNA的氧化铁磁性脂质体来启动有效的抗肿瘤免疫反应。该纳米粒可以促进DC激活,增强RNA转染效率,并能有效抑制肿瘤生长。另外,负载了这种纳米粒后,通过磁共振成像,可以用于追踪DC的体内分布。Xiang等<sup>[39]</sup>将阳离子聚合物PEI修饰于上转换纳米粒表面,通过静电作用载入抗原OVA,并与DC孵育制备DC疫苗,上转换纳米粒具有刺激DC成熟、细胞因子释放及体内示踪功能。与之类似的,Liu等<sup>[40]</sup>利用阳离子材料PDMAEMA修饰量子点,用于装载佐剂CpG及肿瘤抗



**Figure 3** Schematics of NanoAu-Cocktail pulsed DC induction of antiviral T cell responses. CCL: Continuous cell lines; LLNs: Liver-draining lymph nodes; AuNP: Gold nanoparticle; OVAp: OVA peptide; ImDCs: Immature DCs. (Adapted from Ref. 33 with permission. Copyright © 2016 American Chemical Society)



**Figure 4** Formation and the mechanism of action of the DC-based vaccine nodule engineered in the peptide nanofibrous hydrogel. (Adapted from Ref. 36 with permission. Copyright © 2018 American Chemical Society)

原,并将该量子点纳米粒负载于DC,制备DC疫苗,与上述报道不同的是,为了克服肿瘤的免疫抑制微环境,研究人员还将巨噬细胞极化调节剂(氯喹)与DC疫苗联合使用,结果表明,该策略可以实现巨噬细胞的M1型极化,显著刺激抗原特异性T细胞免疫反应,对于原位肿瘤及肿瘤转移具有强烈的抑制作用,该策略也为DC疫苗应用提供了新思路(图5)。此外,作为已知的最小生物,病毒也可以作为一种生物纳米粒子应用于DC疫苗。如Lu等<sup>[41]</sup>使用自体单核细胞衍生的DC,载入灭活的HIV-1病毒粒子,制成DC疫苗。使用该疫苗对18例慢性HIV-1感染患者进行治疗,结果表明这些患者的病毒载量在6个月内趋于稳定。在免疫后112天,血浆病毒载量降低了80%(中位数),其中,8例患者在一年内病毒载量降低超过90%。

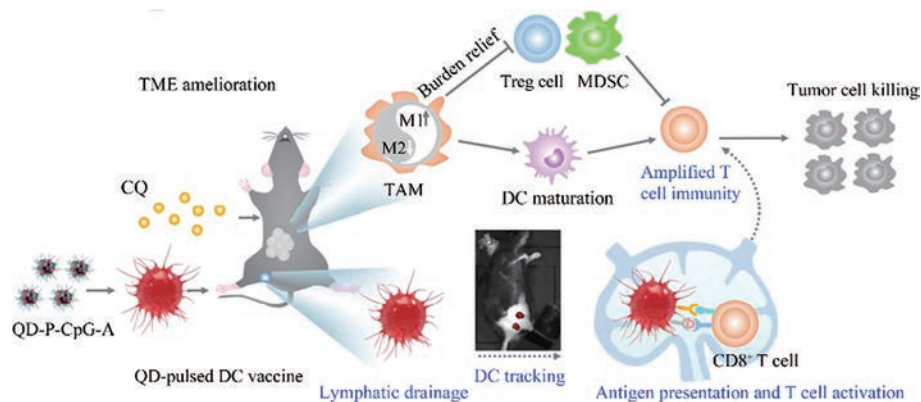
### 3 目前处于临床试验及临床应用的DC疫苗

目前,一种基于DC的癌症疫苗(Sipuleucel-T)已于2010年获得FDA批准,用于转移性去势抵抗性前列腺癌的治疗。此外,众多DC疫苗如肿瘤细胞裂解液负载的DC疫苗、新生抗原负载的DC疫苗和自体DC疫苗等已进入临床试验,主要用于治疗前列腺癌、黑色素瘤、胶质母细胞瘤及肾细胞癌等,这些研究也表明了DC疫苗在免疫治疗中的临床有效性与安全性<sup>[42-47]</sup>。目前正在进行临床试验的DC疫苗如表1所示。

DC疫苗联合疗法也逐渐成为了研究热点,多项正在进行的临床试验将DC疫苗与免疫检查点抑制剂联合使用,例如pbrobrolizumab、nivolumab、CD274(简称PD-L1)、avelumab、CTLA-4、ipilimumab等<sup>[48,49]</sup>。此外,DC免疫也与其他免疫治疗方式相结合,包括过继转移嵌合抗原受体表达T(CAR-T)细胞、CIK细胞或自体NK细胞、重组细胞因子免疫刺激抗体(varlilumab)或基于病原相关模式分子的免疫刺激剂(破伤风白喉疫苗或破伤风类毒素)。在临床应用中,DC疫苗的联合治疗还包括ICD诱导剂、放疗及靶向治疗等<sup>[50]</sup>。

### 4 总结与展望

近年来,基于DC的疫苗递送系统研究方兴未艾。DC疫苗与其他类型疫苗相比有如下的优势:①与传统疫苗(主要是对疾病起到预防的作用)相比,DC疫苗不仅能够有效防止病原体对人体的入侵,更能够在疾病发生后,起到及时和有效地治疗作用;②相较于其他种类的疫苗,DC疫苗直接在体外致敏,避免传统疫苗的体内清除与脱靶效应,可以诱导更为强效的免疫反应,功能更为强大;③DC疫苗发挥效力的持续时间长,基于DC疫苗修复和重建的免疫防护系统可以持续发挥作用达数十年;④基于高度特异性的全身及局部免疫重建,DC疫苗对病变细胞的清除更具有靶向性,更精准高效。尽管DC疫苗具有诸多优点,却也存



**Figure 5** Schematic illustration of QD-pulsed DC vaccines plus chloroquine as an amplified combination immunotherapy. TME: Tumor microenvironment; CQ: Chloroquine; QD: Quantum dot; TAM: Tumor associated macrophage; MDSC: Myeloid-derived suppressor cell. (Adapted from Ref. 40 with permission. Copyright © 2020 Elsevier)

**Table 1** The clinical trials of DC vaccines. TAA: Tumor-associated antigen

| Strategy                          | Indication  | Phase | TAA/s        | Combinatorial treatment             | Clinical trials identifier |
|-----------------------------------|---|-------|--------------|-------------------------------------|----------------------------|
| DCs loaded with tumor cell lysate | Pancreatic cancer   | I     | Tumor lysate | -                                   | NCT04157127                |
|                                   | Malignant melanoma of skin stage III, malignant melanoma of skin stage IV | II    | Tumor lysate | Radiation therapy, IFN- $\alpha$    | NCT01973322                |
|                                   | Recurrent glioblastoma  | I     | Tumor lysate | Operation, pembrolizumab, poly ICLC | NCT04201873                |
|                                   | Glioblastoma  | II    | Tumor lysate | Standard therapy                    | NCT03395587                |
|                                   | Ovarian cancer  | I/II  | Tumor lysate | Autologous NK cell-like CTLs        | NCT03735589                |

Continued

| Strategy  | Indication  | Phase    | TAA/s  | Combinatorial treatment  | Clinical trials identifier |
|---|---|----------|--|--|----------------------------|
|   | Mesothelioma  | I        | Tumor lysate                                   | Pembrolizumab, IL-2  | NCT03546426                |
|   | Renal neoplasma   | II       | Tumor lysate                                   | DC-CIK, IL-2/IFN- $\alpha$   | NCT02487550                |
|   | Head neck tumors, neuroendocrine tumors, soft tissue sarcoma, rare cancer | II       | Tumor lysate                                   | IL-2   | NCT04166006                |
| DC-cancer cell fusions  | Acute myeloid leukemia  | II       | Acute myeloid cells                            | -  | NCT03059485                |
|   | Acute myeloid leukemia  | I        | Acute myeloid cells                            | Decitabine   | NCT03679650                |
|   | Multiple myeloma  | II       | Myeloma cells                                  | Nivolumab  | NCT03782064                |
|   | Glioblastoma  | I/II     | Glioblastoma cells                             | Temozolomide, IL-12  | NCT04388033                |
| DCs loaded with nucleic acid  | COVID-19  | I/II     | COVID-19 minigene SMENP, immunomodulatory gene | Antigen-specific CTLs  | NCT04276896                |
|   | Glioblastoma  | I/II     | WT-1 mRNA                                      | Temozolomide   | NCT02649582                |
|   | Glioblastoma  | II       | CMV pp65-LAMP mRNA                             | Temozolomide, varlilumab   | NCT03688178                |
|   | Glioblastoma  | I        | Tumor-derived mRNA                             | TTRNA-xALT, temozolomide, autologous hematopoietic stem cells          | NCT03334305                |
|   | Glioblastoma  | II       | Human CMV pp65-LAMP mRNA                       | Temozolomide, tetanus-diphtheria toxoid, GM-CSF                        | NCT03927222                |
|   | Glioblastoma  | II       | pp65-shLAMP                                    | Tetanus-diphtheria toxoid  | NCT02465268                |
|   | Glioblastoma  | II/III   | Survivin mRNA, hTERT mRNA                      | Temozolomide   | NCT03548571                |
|   | Acute myeloid leukemia  | II       | WT-1 mRNA                                      | -  | NCT01686334                |
|   | Malignant pleural mesothelioma  | I/II     | WT1 mRNA                                       | Pt, pemetrexed, operation  | NCT02649829                |
|   | Diffuse intrinsic pontine glioma, brain stem glioma                       | I        | Tumor-derived mRNA                             | TTRNA-xALT, temozolomide, autologous hematopoietic stem cells          | NCT03396575                |
|   | Melanoma  | I        | Autologous tumor RNA                           | -  | NCT04335890                |
|   | Lung cancer   | II       | p53 gene                                       | Nivolumab, ipilimumab  | NCT03406715                |
|   | Hematological malignancies  | I/II     | MiHA mRNA (silenced DC PD-L1/L2)               | -  | NCT02528682                |
|   | DCs loaded with protein/peptide   | COVID-19 | I-II   | SARS-CoV-2 S protein   | GM-CSF                     |
| Melanoma  |   | I        | Melanoma tumor-specific peptides               | Cyclophosphamide, pembrolizumab  | NCT03092453                |
| Breast cancer   |   | II       | HER2   | -  | NCT03384914                |
| Breast cancer   |   | II       | HER2   | -  | NCT03630809                |
| Breast cancer   |   | I        | HER2   | Neoadjuvant chemotherapy, operation                                    | NCT03387553                |
| Metastatic triple-negative breast carcinoma   |   | II       | HER2/HER3                                      | Celecoxib, pembrolizumab, recombinant interferon alfa-2b, rintatolimod | NCT04348747                |
| Glioblastoma  |   | II       | Glioma stem cell-like associated antigen       | Operation, temozolomide, radiation therapy                             | NCT01567202                |
| Pancreatic cancer   |   | I        | KRAS mutated peptides                          | -  | NCT03592888                |
| Leukemia  |   | I/II     | bcr/abl, WT-1, protease-3 associated peptides  | -  | NCT02543749                |
| Colorectal carcinoma  |   | I        | Mutated peptides                               | -  | NCT03730948                |
| Cervical intraepithelial neoplasia  |   | I        | HPV16/18 E6/E7 antigen peptides                | -  | NCT03870113                |
| Hepatocellular carcinoma  |   | I        | Neoantigen                                     | Microwave ablation   | NCT03674073                |
| Gastric cancer, hepatocellular carcinoma, non-small-cell lung cancer, colon rectal cancer |   | I        | Neoantigen                                     | Operation  | NCT04147078                |
| Non-small-cell lung cancer, small cell lung cancer  |   | I        | Neoantigen                                     | -  | NCT03871205                |
| Others  | Advanced cancer, metastatic cancer  | I        | Tumor lysate, mRNA                             | Cyclophosphamide   | NCT03671720                |
|   | Ovarian cancer  | II       | Tumor lysate or tumor peptides, hemocyanin     | -  | NCT00703105                |
|   | Endometrial cancer  | II       | Tumor lysate, MUC1, survivin PepTivators       | Carboplatin, Taxol   | NCT04212377                |

在着若干问题: ① 作为新型疫苗, 其获取与制备的最优方法、接种的最佳程序以及联合治疗的合理方案还不完全清楚, 这些问题将影响 DC 疫苗的临床应用; ② 其长期使用过程中有可能诱发机体的自身免疫反应。据报道, 过量 DC 回输会导致 T 细胞耗竭和免疫功能下调, 或引发自身免疫病, 这些问题有待于进一步解决<sup>[11, 51]</sup>; ③ DC 进入淋巴结的比率不高, 对抗病原体或异常细胞效力仍然不足, 进一步提高 DC 疫苗疗效始终是科研工作者需要探索的问题。由于近些年来纳米技术的不断发展, 其对提高 DC 的抗原负载效率、促进 DC 的淋巴结归巢、提升 DC 的抗原递呈能力及辅助治疗等方面作用显著, 纳米粒负载的 DC 疫苗已成为极具前景的研究方向。相信随着科学技术的进步, DC 疫苗质量也会不断提高, 为应对传染性疾病及恶性肿瘤等重大疾病带来希望。

**作者贡献:** 沈亦池负责全文的撰写; 范雪莲和王飞参与撰写和校对; 陈刚负责对论文进行整体的指导和修改。

**利益冲突:** 所有作者声明无任何利益冲突。

## References

- [1] Cabeza-Cabrerizo M, Cardoso A, Minutti CM, et al. Dendritic cells revisited [J]. *Annu Rev Immunol*, 2021, 39: 131-166.
- [2] Wang Y, Xiang Y, Xin VW, et al. Dendritic cell biology and its role in tumor immunotherapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 107.
- [3] Harari A, Graciotti M, Bassani-Sternberg M, et al. Antitumor dendritic cell vaccination in a priming and boosting approach [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19: 635-652.
- [4] Gardner A, Pulido AM, Ruffell B. Dendritic cells and their role in immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 924.
- [5] Xie XF, Ding Q, Hou JG, et al. Inhibitory effects of a dendritic cell vaccine loaded with radiation-induced apoptotic tumor cells on tumor cell antigens in mouse bladder cancer [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 7548-7555.
- [6] Lapenta C, Donati S, Spadaro F, et al. Lenalidomide improves the therapeutic effect of an interferon- $\alpha$ -dendritic cell-based lymphoma vaccine [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2019, 68: 1791-1804.
- [7] Koido S. Dendritic-tumor fusion cell-based cancer vaccines [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 828.
- [8] He J, Zheng R, Zhang ZH, et al. Collagen I enhances the efficiency and anti-tumor activity of dendritic-tumor fusion cells [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6: e1361094.
- [9] Suo L, Wang F, Zhou GB, et al. Optimal concentration of calcium and electric field levels improve tetraploid embryo production by electrofusion in mice [J]. *J Reprod Develop*, 2009, 55: 383-385.
- [10] Sun TY, Yan W, Yang CM, et al. Clinical research on dendritic cell vaccines to prevent postoperative recurrence and metastasis of liver cancer [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 16222-16232.
- [11] Meng RR, Zhang YW, Zhao GS, et al. Recent progress in research of dendritic cell-based tumor vaccine [J]. *Chin J Cancer Prev Treat (中华肿瘤防治杂志)*, 2012, 19: 1597-1600.
- [12] Wang B, Wang HM, Xu FY, et al. Relationship of dendritic cells and tumor immunity [J]. *Chin J Cell Biol (中国细胞生物学学报)*, 2013, 35: 1666-1671.
- [13] Martin-Lluesma S, Graciotti M, Grimm AJ. Are dendritic cells the most appropriate therapeutic vaccine for patients with ovarian cancer? [J]. *Curr Opin Biotech*, 2020, 65: 190-196.
- [14] Landi A, Babiuk LA, van Drunen Littel-van den Hurk S. High transfection efficiency, gene expression, and viability of monocyte-derived human dendritic cells after nonviral gene transfer [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 82: 849-860.
- [15] Amano T, Kajiwara K, Yoshikawa K, et al. Antitumor effects of vaccination with dendritic cells transfected with modified receptor for hyaluronan-mediated motility mRNA in a mouse glioma model [J]. *J Neurosurg*, 2007, 106: 638-645.
- [16] Zhao X, Gu YZ, Song XR. Research progress of dendritic cells anti-tumor vaccine stimulated by mRNA [J]. *Acta Pharm Sin (药理学学报)*, 2019, 54: 1818-1823.
- [17] Tao R, Li L, Huang W, et al. Activation of human dendritic cells by recombinant modified vaccinia virus Ankara vectors encoding survivin and IL-2 genes *in vitro* [J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21: 98-108.
- [18] Rowe HM, Lopes L, Brown N, et al. Expression of vFLIP in a lentiviral vaccine vector activates NF-kappaB, matures dendritic cells, and increases CD8<sup>+</sup> T-cell responses [J]. *J Virol*, 2009, 83: 1555-1562.
- [19] Wang B, Han S, Lien L, et al. Lentiviral calnexin-modified dendritic cells promote expansion of high-avidity effector T cells with central memory phenotype [J]. *Insect Sci*, 2010, 128: 43-57.
- [20] Xin H. Active immunizations with peptide-DC vaccines and passive transfer with antibodies protect neutropenic mice against disseminated candidiasis [J]. *Vaccine*, 2016, 34: 245-251.
- [21] Yanagisawa R, Koizumi T, Koya T, et al. WT1-pulsed dendritic cell vaccine combined with chemotherapy for resected pancreatic cancer in a phase I study [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38: 2217-2225.
- [22] Han Y, Wu Y, Yang C, et al. Dynamic and specific immune responses against multiple tumor antigens were elicited in patients with hepatocellular carcinoma after cell-based immunotherapy [J]. *J Transl Med*, 2017, 15: 64.
- [23] Akbar SMF, Furukawa S, Yoshida O, et al. Induction of anti-HBs in HB vaccine nonresponders *in vivo* by hepatitis B surface antigen-pulsed blood dendritic cells [J]. *J Transl Med*, 2007, 47: 60-66.
- [24] Tregoning J, Brown E, Cheeseman H, et al. Vaccines for

- COVID-19 [J]. Clin Exp Immunol, 2020, 202: 162-192.
- [25] Alexandrov L, Nik-Zainal S, Vvedge D, et al. Signatures of mutational processes in human cancer [J]. Nature, 2013, 500: 415-421.
- [26] Liu YT, Wu JJ, Yang QF, et al. Advances in neoantigens and tumor immunotherapy [J]. Tumor (肿瘤), 2019, 39: 312-316.
- [27] Carreno BM, Magrini V, Becker-Hapak M, et al. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells [J]. Science, 2015, 348: 803-808.
- [28] Zhang R, Yuan F, Shu Y, et al. Personalized neoantigen-pulsed dendritic cell vaccines show superior immunogenicity to neoantigen-adjuvant vaccines in mouse tumor models [J]. Cancer Immunol Immun, 2020, 69: 135-145.
- [29] Almeida JPM, Lin AY, Figueroa ER, et al. *In vivo* gold nanoparticle delivery of peptide vaccine induces anti-tumor immune response in prophylactic and therapeutic tumor models [J]. Small, 2015, 11: 1453-1459.
- [30] Lee IH, Kwon HK, An S, et al. Imageable antigen-presenting gold nanoparticle vaccines for effective cancer immunotherapy *in vivo* [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2012, 51: 8800-8805.
- [31] Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, et al. Gold nanoparticles as a vaccine platform: influence of size and shape on immunological responses *in vitro* and *in vivo* [J]. ACS Nano, 2013, 7: 3926-3938.
- [32] Tran TH, Tran TTP, Nguyen HT, et al. Nanoparticles for dendritic cell-based immunotherapy [J]. Int J Pharm, 2018, 542: 253-265.
- [33] Zhou Q, Zhang Y, Du J, et al. Different-sized gold nanoparticle activator/antigen increases dendritic cells accumulation in liver-draining lymph nodes and CD8<sup>+</sup>T cell responses [J]. ACS Nano, 2016, 10: 2678-2692.
- [34] Mou Y, Chen B, Zhang Y. Influence of iron oxide nanoparticles on presentation capacity of dendritic cells [J]. Int J Nanomed, 2011, 6: 1779-1786.
- [35] Jadidi-Niaragh F, Atyabi F, Rastegari A, et al. CD73 specific siRNA loaded chitosan lactate nanoparticles potentiate the anti-tumor effect of a dendritic cell vaccine in 4T1 breast cancer bearing mice [J]. J Control Release, 2017, 246: 46-59.
- [36] Yang P, Song H, Qin Y, et al. Engineering dendritic-cell-based vaccines and PD-1 blockade in self-assembled peptide nanofibrous hydrogel to amplify antitumor T-cell immunity [J]. Nano Lett, 2018, 18: 4377-4385.
- [37] Yang W, Zhu G, Wang S, et al. *In situ* dendritic cell vaccine for effective cancer immunotherapy [J]. ACS Nano, 2019, 13: 3083-3094.
- [38] Grippin AJ, Wummer B, Wildes T, et al. Dendritic cell-activating magnetic nanoparticles enable early prediction of anti-tumor response with magnetic resonance imaging [J]. ACS Nano, 2019, 13: 13884-13898.
- [39] Xiang J, Xu L, Gong H, et al. Antigen-loaded upconversion nanoparticles for dendritic cell stimulation, tracking, and vaccination in dendritic cell-based immunotherapy [J]. ACS Nano, 2015, 9: 6401-6411.
- [40] Liu F, Sun J, Yu W, et al. Quantum dot-pulsed dendritic cell vaccines plus macrophage polarization for amplified cancer immunotherapy [J]. Biomaterials, 2020, 242: 119928.
- [41] Lu W, Arraes LC, Ferreira WT, et al. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection [J]. Nat Med, 2004, 10: 1359.
- [42] Bol KF, Schreiber G, Gerritsen WR, et al. Dendritic cell-based immunotherapy: state of the art and beyond [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22: 1897-1906.
- [43] Garg AD, Coulie PG, Van den Eynde BJ, et al. Integrating next-generation dendritic cell vaccines into the current cancer immunotherapy landscape [J]. Trends Immunol, 2017, 38: 577-593.
- [44] Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2014, 11: 509-524.
- [45] Saxena M, Bhardwaj N. Re-emergence of dendritic cell vaccines for cancer treatment [J]. Trends Cancer, 2018, 4: 119-137.
- [46] Weulek SK, Cueto FJ, Mujal AM, et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20: 7-24.
- [47] Xi HB, Wang GX, Fu B, et al. Survivin and PSMA loaded dendritic cell vaccine for the treatment of prostate cancer [J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38: 827-835.
- [48] Calmeiro J, Carrascal M, Tavares A, et al. Pharmacological combination of nivolumab with dendritic cell vaccines in cancer immunotherapy: an overview [J]. Pharmacol Res, 2021, 164: 105309.
- [49] Xing JL, Li HC, Ren WH. Experimental study of dendritic cell vaccine combined with anti-PD-L1 antibody in the treatment of liver cancer in mice [J]. J Henan Univ (Med Sci) [河南大学学报(医学版)], 2019, 38: 30-33.
- [50] Sprooten J, Ceusters J, Coosemans A, et al. Trial watch: dendritic cell vaccination for cancer immunotherapy [J]. Oncoimmunology, 2019, 8: e1638212.
- [51] Marchisone C, Pfeffer U, Del Grosso F, et al. Progress towards gene therapy for cancer [J]. J Exp Clin Oncol, 2000, 19: 261-270.