

胶质母细胞瘤的免疫治疗研究进展

吕英琪[#], 陈曜星[#], 卫晨萱[#], 江 淦^{*}, 高小玲^{*}

(上海交通大学医学院, 上海 200025)

摘要: 胶质瘤是成年人及儿童中最常见的原发中枢神经系统肿瘤, 其中以胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 恶性程度最高。肿瘤的高度异质性使 GBM 对放化疗耐受, 同时由于其侵袭性, 手术难以将其完全切除。因此患者普遍预后差、平均生存期短, 标准治疗后中位生存期仅为 14.6 个月, 5 年生存率不到 10%, 经治疗处理后极易复发。免疫疗法与传统疗法具有本质差异, 其目标是通过调控自身的免疫系统以及与肿瘤相关的免疫环境进行治疗, 具有较高的特异性、记忆性及安全性。免疫疗法作为有望改善 GBM 预后的新途径, 近年来受到越来越多的关注。本文对于胶质瘤免疫治疗固有的困难、现有主要的胶质瘤免疫疗法及仍然存在的瓶颈做一总结, 旨在为探索发展新的有效的 GBM 治疗手段提供新思路。

关键词: 胶质母细胞瘤; 免疫治疗; 纳米技术; 肿瘤微环境; 血脑屏障

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)10-1792-10

Research progress in immunotherapy for glioblastoma

LÜ Ying-qi[#], CHEN Yao-xing[#], WEI Chen-xuan[#], JIANG Gan^{*}, GAO Xiao-ling^{*}

(School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China)

Abstract: Glioma is the most common primary intracranial tumor, among which glioblastoma (GBM) is the most malignant subtype. Because of its high heterogeneity and invasiveness, GBM can't be completely removed by surgical resection and is also resistance to chemotherapy and radiotherapy. Even after a standard therapy, the median survival time is only 14.6 months, the five-year survival rate is less than 10%, and the relapse of GBM is common. Immunotherapy, a new treatment paradigm, treats cancer through regulating the autologous immune system and the tumor microenvironment. As a promising method to improve the prognosis of GBM, immunotherapy has attracted more and more attention. This paper gives a review to the difficulty, the mainly existing strategies and the bottlenecks in GBM immunotherapy, aiming at providing new direction to improve the prognosis of GBM patients.

Key words: glioblastoma; immunotherapy; nanotechnology; tumor microenvironment; blood-brain barrier

胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 是一种常见的并具有强侵袭性的脑肿瘤, 被世界卫生组织列为 IV 级肿瘤, 是所有脑肿瘤中等级和严重程度最高的一

种^[1]。目前, 临床常用的 GBM 疗法对疾病的治疗效果非常有限。近年来, 免疫疗法作为一种不同于传统方式的治疗手段, 在 GBM 治疗领域得到了广泛的关注。但由于 GBM 特殊的“冷肿瘤”特点, 免疫治疗也难以达到好的效果。本文总结了现有疗法的缺陷、GBM 免疫微环境的特点, 同时还介绍了 GBM 免疫疗法和存在的问题, 并提出了可能的解决方法和对未来 GBM 免疫疗法的展望。

1 传统疗法及其不足之处

对于胶质瘤患者的现有的治疗方案主要包括: 手

收稿日期: 2019-07-19; 修回日期: 2019-08-12.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573382, 81722043, 81803089);
上海市自然科学基金资助项目 (18ZR1421900); 上海交通大学
新进青年教师启动计划。

[#]共同第一作者。

*通讯作者 Tel: 86-21-63846590-776671,

E-mail: shellygao1@sju.edu.cn; scmcyidingkaixin@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0572

术切除、替莫唑胺化疗、放疗和贝伐单抗等。对于早期胶质瘤的治疗, 手术切除是主要的治疗手段。但由于脑部的特殊性和胶质瘤浸润性生长、边界不清的组织学特点, 传统的外科切除并不能在保全正常脑组织的条件下, 完全清除肿瘤组织, 这为其复发留下了隐患。除了手术, 放疗和化疗也是治疗胶质瘤的重要手段, 并且在一些临床研究中起到了提高患者生存期的积极作用。然而, 这些方法均面临着巨大挑战: ① 常规放化疗缺乏选择性, 易引起正常脑组织损伤; ② 胶质瘤内部存在异质性的、可耐受放化疗的胶质瘤干细胞样细胞, 其不易被杀灭, 且具有自我更新能力, 成为肿瘤复发的根源; ③ 化疗药物的使用易引起系统性的免疫抑制, 不利于机体利用自身免疫系统来发挥抗肿瘤的功能^[2]; ④ 药物难以透过血脑屏障, 肿瘤部位药物浓度较低, 难以达到杀灭肿瘤细胞的效果^[3]; ⑤ 贝伐单抗作用于新生血管的同时, 也会抑制正常血管的形成, 会导致高血压等不良反应。此外, 由于肿瘤微环境的复杂性和不断的动态变化, 化疗药物容易产生耐药性, 这也是胶质瘤治疗失败的原因之一^[3]。

2 GBM的免疫特性及其免疫治疗面临的困难

“冷肿瘤”被用来描述那些对免疫治疗不起反应的肿瘤。而GBM被认为属于冷肿瘤, 免疫治疗对其不起作用的原因有很多, 包括: 高度免疫抑制的肿瘤微环境、胶质瘤特殊的物理微环境及肿瘤抗原提呈少等。这些因素的相互作用, 加上T细胞活化招募和给药的困难, 共同导致了胶质瘤免疫治疗的困境。

2.1 免疫抑制微环境

GBM肿瘤免疫抑制微环境主要由肿瘤细胞、小胶质细胞、巨噬细胞、T细胞和骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)等组成^[2-4]。此外, 还有一些细胞因子在肿瘤的免疫抑制中发挥着重要作用。

2.1.1 肿瘤细胞 肿瘤细胞高表达某些免疫抑制因子, 如程序性死亡受体-配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)^[5]和吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)^[6], 同时通过下调主要组织相容性复合物类分子(major histocompatibility complex, MHC)的表达来减少自身抗原的提呈。

2.1.2 小胶质细胞 小胶质细胞是主要的GBM浸润细胞, 可以分泌转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)抑制免疫应答。小胶质细胞表面也表达PD-L1和凋亡相关因子配体(Fas配体), 通过免疫检查点的机制诱导T细胞活性下降, 最终导致免疫抑制^[7]。小胶质细胞还是GBM微环境中重要的抗原提呈细胞, 后文将具体阐述它的抗原提呈功能。

2.1.3 肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)

TAM浸润可加速疾病的进展, 疾病愈后往往较差。TAM具有M1和M2的分型。在GBM微环境中, 多种细胞因子如集落刺激因子1(colony stimulating factor 1, CSF1)、TGF- β 1和巨噬细胞抑制细胞因子-1(macrophages inhibit cytokine-1)诱导TAM转化为M2型, M2型的巨噬细胞吞噬功能下降, 并同时分泌白介素10(interleukin-10, IL-10)等细胞因子抑制T细胞增殖并使T细胞耗竭^[8], 增强调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)的功能, 产生免疫抑制效应^[7]。

2.1.4 MDSCs MDSCs下调抗肿瘤免疫应答关键机制已在大量体外和体内研究中得到证实。MDSCs可通过分泌一氧化氮合酶、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、环氧酶-2和TGF- β 阻止T细胞的增殖和活化。除抑制T细胞活化外, MDSCs还通过与巨噬细胞、自然杀伤细胞(nature killer cell)和自然杀伤T细胞(nature killer T cell)的相互作用参与先天免疫。

2.1.5 肿瘤浸润的淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)

GBM中浸润的TIL数量少, 即使存在浸润TIL, 这些TIL也表达如T细胞免疫球蛋白域黏蛋白域蛋白-3(T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3, TIM-3)和淋巴细胞活化基因-3(lymphocyte-activation gene 3, LAG-3)等高度耗竭相关分子标记, 或受到GBM微环境中其他细胞的调节失去增殖和效应能力。因为肿瘤细胞中浸润性免疫细胞数量和总突变数呈正相关^[7], TIL浸润数量少和GBM的低突变数存在一定关联。与此同时, 颅内肿瘤使T细胞的鞘氨醇-1-磷酸1(sphingosine 1-phosphate receptor 1)受体下降, 导致T细胞滞留在骨髓中, 无法有效浸润颅内肿瘤^[9]。

2.1.6 Treg细胞 在GBM微环境存在CD4⁺FOXP3⁺(X-linked transcription factor forkhead box P3) Treg细胞的浸润。Treg细胞的主要功能有: ① 调节免疫反应; ② 表达有免疫抑制性的细胞因子, 从而加剧肿瘤部位的免疫抑制。Treg细胞表达的趋化因子配体22或2(C-C motif ligand-22/2, CCL22/CCL2)通过与肿瘤细胞上的趋化因子受体4(C-C motif receptor 4, CCR4)结合, 将Treg招募至肿瘤处^[10]。

2.1.7 检查点分子 PD-1和细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4)是在GBM中两个被广泛研究的检查点分子^[11]。其他免疫检查点分子还包括TIM-3和LAG-3。有研究显示, GBM瘤内PD-L1水平与患者预后呈负相关。在GBM中高表达的PD-L1可以通过与T细胞表面的PD-1结合, 来抑制T细胞的增殖及白介素-2和 γ -干扰素等细胞因子的分泌, 从而使胶质瘤免受T细胞攻

击。研究表明,PD-L1表达水平越高,患者预后越差^[12,13]。考虑到并非所有患者都对抗PD-1或抗CTLA-4的治疗有反应,目前有更多的研究聚焦在替代性的免疫检查点分子和联合治疗上。

除PD-1和CTLA-4外,近年来TIM-3和LAG-3作为治疗靶标和预后预测因子得到越来越多的关注。TIM-3是辅助性T细胞1的表面蛋白,主要通过诱导T细胞凋亡以抑制免疫应答^[14,15]。一项关于TIM-3抑制剂与抗PD-1疗法或放疗联用的结果指出,TIM-3可以成为GBM的有效免疫治疗靶标和提示预后的生物标记^[16],但这需要进一步的临床试验来验证其作用。而同样作为T细胞的表面分子,LAG-3可通过结合主要组织相容性复合物II类分子(MHC II)而减少T细胞活化^[17]。

2.2 物理微环境的特征

胶质瘤的某些物理特征在减少抗肿瘤免疫反应中起着重要作用。胶质瘤血管的紊乱会导致组织缺乏氧气及能量物质,可引起肿瘤组织坏死。肿瘤组织的坏死会导致肿瘤微环境内钾离子浓度升高,这会导致浸润在肿瘤部位的T细胞失能,限制免疫治疗的作用^[18]。

2.3 肿瘤抗原提呈少

GBM中抗原提呈细胞有:小胶质细胞、树突状细胞(dendrite cell, DC)、巨噬细胞及外周淋巴结中的抗原提呈细胞。

2.3.1 小胶质细胞 小胶质细胞在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中可提呈抗原给初始CD8⁺T细胞(naive CD8⁺T)^[19]。但GBM微环境下调了小胶质细胞MHC II的表达^[20],从而导致小胶质细胞提呈抗原的能力下降,并释放IL-10阻止肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α)的释放,使抗原无法提呈,导致免疫抑制的发生。

2.3.2 DC DC作为专职抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),是天然免疫和细胞免疫之间的重要纽带,这些特性使它相较于小胶质细胞能够更好地激起免疫应答^[21-23]。研究者认为,在GBM中起APC作用的DC主要在大脑或颈深淋巴结中完成抗原提呈和活化T细胞的功能^[24]。然而,GBM微环境可能抑制肿瘤中的浸润性DC发挥抗原提呈作用^[4]。

2.3.3 巨噬细胞 巨噬细胞是GBM微环境浸润的主要免疫细胞。它的主要功能有:抗原提呈、激发免疫、清除细胞残渣和调节免疫应答。在GBM微环境浸润的TAM大多为M2型。尽管已有研究表明TAM仍有抗原提呈的能力并激发抗肿瘤的免疫反应^[25],但表达Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)的巨噬细胞并不会分泌如白介素1(interleukin-1)、白介素6(interleukin-6)

等促炎性分子。巨噬细胞虽然表达MHC II类分子,但由于共刺激分子CD86、CD80和CD40的表达减少,巨噬细胞仍无法有效激发T细胞的免疫应答^[26]。

2.3.4 外周淋巴结的抗原提呈 CNS中的肿瘤抗原可到达外周,随即被外周淋巴结中的DC识别并进行抗原提呈,激活外周T细胞的免疫应答。然而GBM患者不仅有局部中枢免疫抑制的表现,还有全身免疫抑制的表现。GBM介导的免疫缺陷包括:T细胞和CD4⁺细胞减少、Treg细胞增加、单核细胞表型改变、DC不能分化为成熟DC(mature dendrite cell)。其中,GBM患者高表达CD14⁺HLA-DR^{lo/neg}(human leukocyte antigen-DR expression)型单核细胞,使DC无法分化成熟,并抑制T细胞的免疫应答^[27]。

2.4 T细胞的活化招募及其困难

2.4.1 T细胞的活化 在CNS中表达的自身抗原或外来抗原,以可溶性形式或APC介导的方式,排入颈深淋巴结。存在于脑室和蛛网膜下腔的脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)以及大脑实质中细胞外的组织液(interstitial fluid, ISF)会流向颈淋巴结和腰淋巴结,但它们的路径存在着显著差异。对于CSF,可通过蛛网膜绒毛排入静脉窦的血液中,也可通过硬脑膜淋巴管等进行淋巴引流至颈部淋巴结^[28],还可从蛛网膜下腔穿过筛板进入鼻淋巴管和颈淋巴结。通过筛板和淋巴管的淋巴引流通道允许T细胞和APC通过^[29]。在腰椎蛛网膜下腔的CSF可排出到腰部淋巴结。对于来自脑实质的ISF,沿着毛细血管和动脉壁的100~150 nm厚的基底膜排到与颈内动脉相邻的颈部淋巴结,这种狭窄的血管周围引流通路不允许APC的通过^[29]。存在于淋巴结的T细胞活化后,发生淋巴细胞归巢,回到中枢神经系统,以介导免疫反应杀伤肿瘤。

2.4.2 T细胞通过血脑屏障进入大脑 白细胞进入CNS是由血脑屏障内皮细胞(endothelial cells, ECs)上的黏附分子介导的(图1)。在健康的CNS中,黏附分子在ECs上的表达有限,CNS内的免疫监视水平低下。在病理情况下,T细胞可由P选择素、趋化因子受体和整合素 α_4 介导从外周通过血脑屏障进入CNS^[30-33]。对于GBM患者而言,其血脑屏障受损,且GBM恶性程度越高,血脑屏障损伤范围越大,因而T细胞亦可通过受损的血脑屏障直接进入大脑^[34]。T细胞抵达毛细血管微静脉后,先穿过血管的内皮细胞,然后在血管周围间隙识别与它同源的APC后穿过胶质界膜进入大脑^[35]。在蛛网膜下静脉处,T细胞先穿过血管的内皮细胞,然后在蛛网膜下腔中识别与它同源的APC后穿过软脑膜或胶质界膜进入大脑实质^[36]。T细胞还可从血管进入脉络膜丛,然后穿透脉络膜丛上皮进入脑室中脑脊

液^[32], 并可能在识别与它同源的 APC 后通过软脑膜和胶质界膜进入大脑实质。趋化因子和趋化因子受体的表达在 T 细胞迁移至大脑的过程中起着重要的作用。胶质界膜是血脑屏障的最后一道屏障, CXCL12 对于阻止 T 细胞通过胶质界膜起着重要作用。要穿过胶质界膜, 激活的免疫细胞需清除 CXCL12, 并分泌基质金属蛋白酶 2 和基质金属蛋白酶 9, 从而使 T 细胞进入大脑实质^[37,38]。而趋化因子配体 10 可增强 T 细胞在肿瘤中的浸润^[39]。

2.4.3 T 细胞招募的困难 在正常情况下, CNS 中缺失初始 T 细胞。一些研究者认为初始 T 细胞不能通过

血脑屏障; 另一些研究者在 CNS 中发现了初始 T 细胞, 但他们注意到, 在没有微生物或其他炎症刺激的情况下, 它们可能介导免疫耐受^[40]。活化的 T 细胞进入 CNS 需要通过血脑屏障, 并需同源 APC 的识别来帮助介导此过程。血脑屏障的存在为大量快速募集 T 细胞造成了障碍^[40,29], T 细胞在 GBM 中的浸润比其他肿瘤中更加困难, 造成了免疫治疗的瓶颈之一。

值得注意的是, 虽然 GBM 中存在血脑屏障的破坏, 使免疫细胞的浸润相比正常脑组织更易进行, 但是被破坏的血脑屏障只是小部分, 这些肿瘤周围仍存在大片完整的血脑屏障, 所以依然需要 T 细胞通过完整

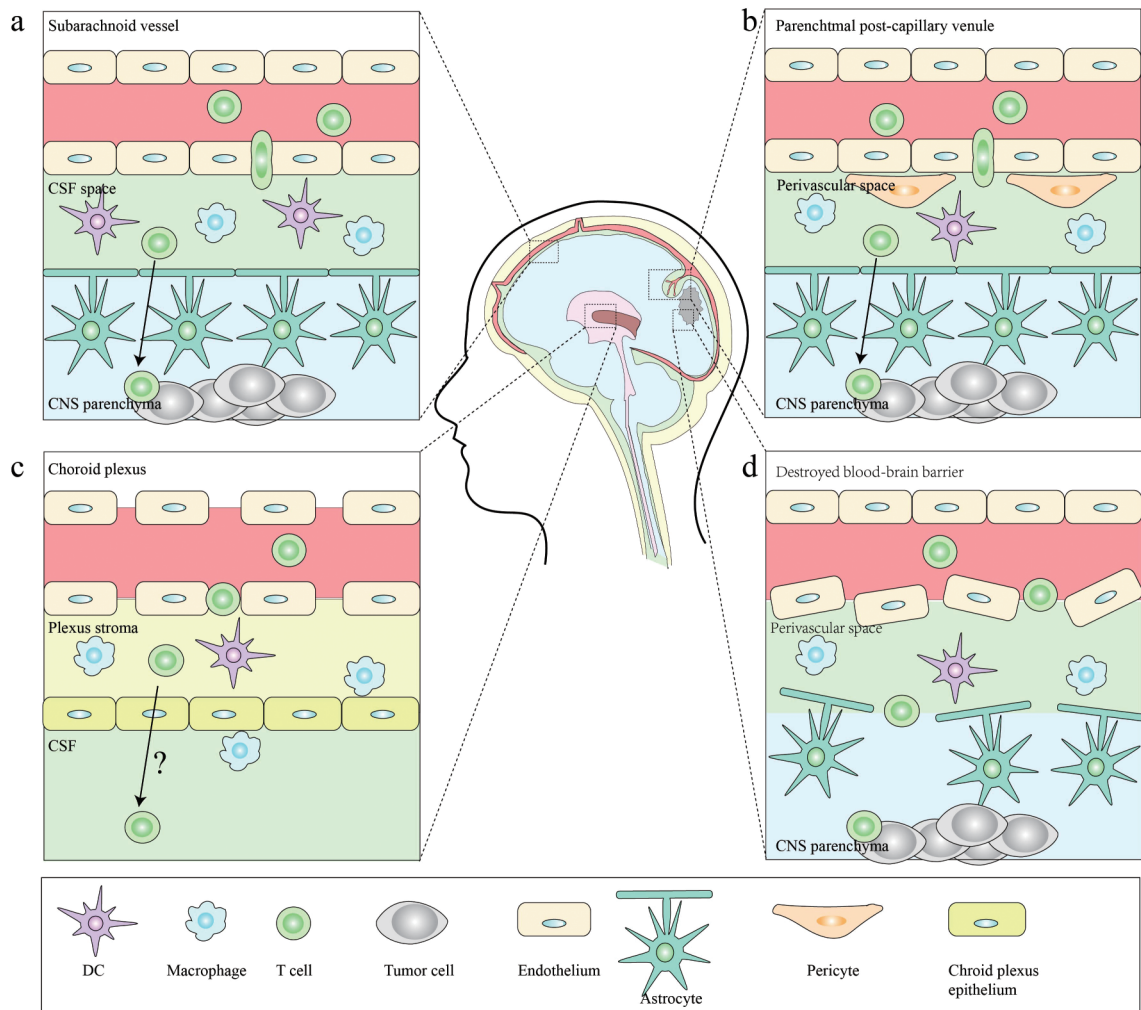


Figure 1 T cells enter brain parenchyma. The entry of immune cells into CNS is tightly controlled by BBB and BCSFB in the choroid plexus. Due to the special structure of the barriers of CNS, the entry of immune cells into the CNS parenchyma mainly involves two steps: the migration of immune cells through BBB or BCSFB to the CSF drainage space of the CNS, and then through the glia limitans membrane into the CNS parenchyma. a: T cells can enter the brain through BBB from subarachnoid vessels; b: There are perivascular spaces around the parenchyma post-capillary venules. It contains APCs, including perivascular macrophages and dendritic cells; c: The capillaries of choroid plexus are fenestrated capillaries, which are relatively easy for immune cells to pass, however, the specific mechanism of its crossing BCSFB has not been fully clarified; d: For glioblastoma (GBM) patients, their BBB is partially destroyed, and T cells can enter the brain through the broken blood-brain barrier. CNS: Central nervous system; CSF: Cerebro-spinal fluid; BBB: Blood-brain barrier; BCSFB: Blood-cerebrospinal fluid barrier; APCs: Antigen presenting cell

的血脑屏障来彻底清除肿瘤^[41]。

2.5 递药的困难

除了T细胞进入GBM部位受到限制外,药物进入GBM部位也受到诸多限制。血脑屏障、血脑脊液屏障(blood-cerebrospinal fluid barrier, BCSFB)和蛛网膜屏障是血液和中枢神经系统之间物质交换的屏障。脑微血管内皮水平的血脑屏障是血和脑脊液交换的主要部位。血脑屏障上存在内皮细胞紧密连接形成的物理屏障以及膜转运体和囊泡机制形成的转运屏障,阻止大多数药物的转运。

物质主要可通过两个途径穿过血脑屏障:一是细胞旁转运,即从两个内皮细胞之间穿过;二是跨细胞转运,其主要涉及物质穿过内皮细胞。在完整的血脑屏障中,紧密连接带的存在是其关键特性,可显著阻碍极性溶质从细胞旁途径穿过内皮细胞间由血液进入脑;而跨细胞途径主要依靠主动运输和被动运输两种机制,主动运输机制主要针对于分子量较大且亲脂性较低的营养素和蛋白质,如葡萄糖通过葡萄糖转运蛋白1进行载体介导的转运(carrier-mediated transport, CMT)、胰岛素通过受体介导的胞吞转运作用(receptor-mediated transcytosis, RMT)及细胞穿透肽通过吸附介导的胞吞转运作用(adsorptive-mediated transcytosis, AMT)^[41]。在RMT中,需由大分子配体与细胞表面上的特定受体结合引发内吞作用;在AMT中,则需要分子上存在过量的正电荷,与细胞表面结合位点相互作用诱导胞吞转运作用,因此对药物的理化性质有严格要求^[42]。而药物穿过内皮细胞的被动运输受理化性质,如分子量、电荷和亲脂性等影响,亲脂性高、分子量低的药物易于通过血脑屏障,大于400 Da和多于8个氢键的分子通常不能进入血脑屏障^[43]。大多数药物不具备能够穿过血脑屏障的化学特性,包括多肽、重组蛋白、单克隆抗体、基于RNA干扰的药物和基因治疗在内的所有大分子药物和98%的小分子都不能通过血脑屏障^[41]。而对于能通过血脑屏障的分子,血脑屏障还可通过外排转运蛋白如P-糖蛋白等主动运回血液系统^[7]。这些主动外排转运蛋白可识别多种化合物(占有上市药物的60%以上),并会导致耐药^[44]。

而现有的针对胶质瘤的药物递送系统多为口服与静脉注射,药物需通过血脑屏障。传统化疗药物如替莫唑胺多通过口服途径服用,运用的是其小分子亲脂性烷化剂的性质。而贝伐单抗、纳武单抗等抗体类药物多通过静脉给药,但由于其蛋白质的理化特性,较难透过血脑屏障,给药效率低^[2,45]。

综上,血脑屏障的存在对胶质瘤的治疗带来了极大困难,如何使免疫疗法中的疫苗、免疫检查点分子抑

制剂等进入胶质瘤部位成为一个难点。

3 现有免疫疗法

现有的用于GBM的免疫疗法包括溶瘤病毒疗法、疫苗、嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法、免疫检查点分子抑制剂等(图2)。

3.1 溶瘤病毒疗法

溶瘤病毒疗法主要是基于病毒选择性地对肿瘤细胞内扩增、裂解细胞,以杀死肿瘤细胞,并且使得肿瘤抗原可以得到更好的暴露。而且病毒还可以通过病原相关分子模式和模式识别受体来激活免疫系统,如通过TLR等受体激活巨噬细胞;被激活的髓系细胞可以改善T细胞在肿瘤组织中的浸润情况。此外,一些病毒对CNS有天然的趋向性,可以通过静脉给药进而自行跨越血脑屏障,如塞姆利基森林病毒^[46]和微小核糖核酸病毒^[47]等。因此,溶瘤病毒疗法是一个潜在的克服GBM免疫抑制微环境的方法。

目前的溶瘤病毒疗法主要有两种:一种主要是依靠病毒选择性地对肿瘤细胞内扩增,进一步裂解杀死肿瘤细胞。Desjardins等^[48]在2018年报道了在I期临床试验中利用脊髓灰质炎病毒-鼻病毒嵌合体治疗复发性GBM的进展,其使用对流增强的递送以实现肿瘤内输注重组来克服血脑屏障的障碍。该疗法取得了一定的成功;另一种是将病毒和前药相结合的复合型疗法,病毒和前药到达肿瘤部位后,经过基因编辑过的病毒选择性地进入肿瘤细胞,其基因在细胞中转录翻译出特定的酶作用于前体药物,将其转化为活性代谢产物(多为核苷酸类似物),从而抑制肿瘤的生长。Philbrick等^[49]报道在I期临床试验中将Toca FC和Toca 511相结合的疗法,Toca 511(手术时注入切除腔)是一种非溶解性逆转录病毒复制载体,用于递送酵母胞嘧啶脱氨酶,可将前体药物Toca FC(可通过血脑屏障)转化为抗代谢物5-氟尿嘧啶。应用这种疗法的患者的中期生存时间也得到了延长。其成功不仅是抗代谢药物对肿瘤的杀伤作用,也是由病毒引起的系统性抗肿瘤免疫反应的作用^[50]。

3.2 疫苗

疫苗接种疗法是通过注射外来抗原刺激机体的肿瘤特异性免疫反应,主要可分为肽疫苗和DC疫苗两种。肽疫苗通过注射代表肿瘤抗原特异性靶标的肽序列,来诱导机体产生特异性的免疫反应,如注射表皮生长因子受体III型突变体(EGFR variant III, EGFRvIII)^[51]。但由于GBM肿瘤内部的高度异质性,缺乏共同的特异性抗原表达,单独一种肽疫苗很难使机体杀灭所有肿瘤细胞,联用多个肽序列可能可以产生更好的效果。

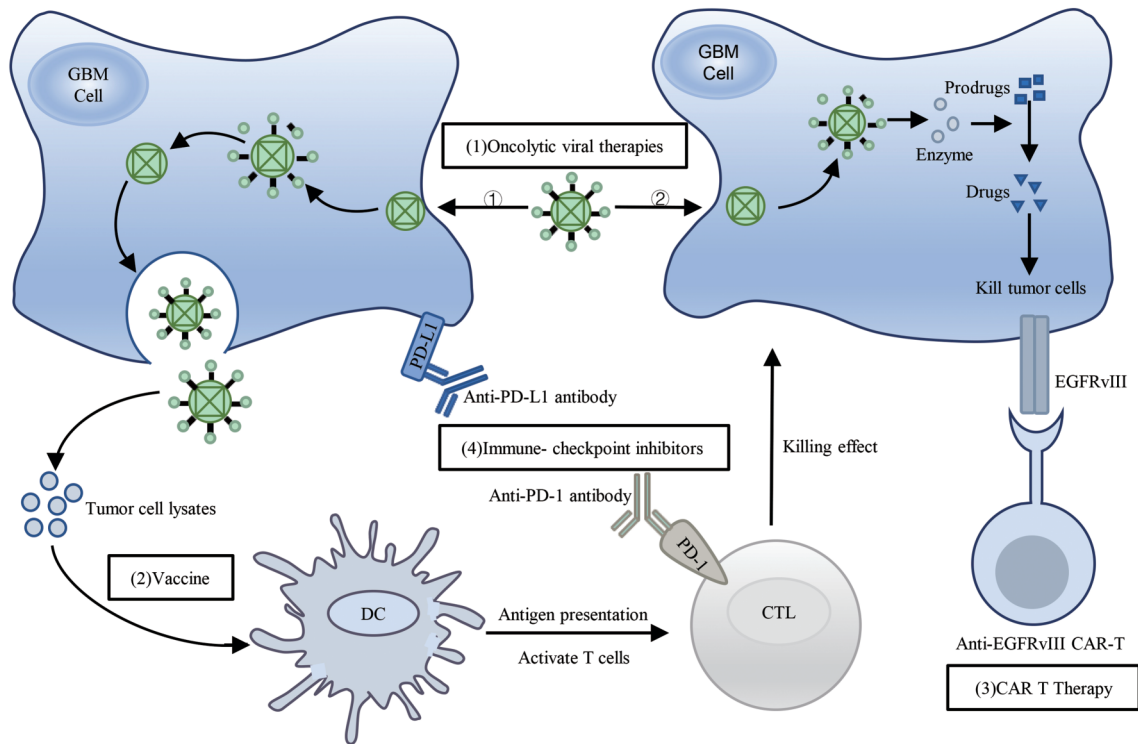


Figure 2 Current immunotherapies for glioblastoma include: (1) oncolytic viral therapy, (2) vaccine, (3) CAR-T therapy, (4) the immune-checkpoint inhibitors. CAR-T: Chimeric antigen receptor T-cell; CTL: Cytotoxic T lymphocyte; EGFRvIII: EGFR variant III

Migliorini 等^[52]在 I / II 期临床试验中, 选用 IMA950 (9 种 MHC I 类分子和 2 种 MHC II 类分子的混合物) 作为肽疫苗, 并使用佐剂 poly-ICLC (polyinosinic-polycytidylic acid-poly-L-lysine carboxymethylcellulose)。该方法使患者体内产生特异性的 T 细胞反应, 取得了一定的效果。DC 疫苗通过采用患者自体的单核细胞在体外培养诱导生成 DC, 并负载相应的肿瘤抗原。这些 DC 被注入体内后通过抗原提呈作用, 刺激体内的特异性的 CTL 增殖, 发挥长期免疫监视作用和肿瘤杀伤作用, 以达到杀灭肿瘤的目的。因 GBM 的肿瘤相关抗原多样, 故多采用肿瘤裂解物等荷载 DC。目前已有 III 期临床试验使用自体肿瘤裂解物致敏的树突状细胞疫苗 (DCVax[®]-L) 标准治疗新诊断的胶质母细胞瘤^[53]。该疗法具有较高的可行性和安全性, 并在一定程度上延长了患者的寿命。

3.3 CAR-T 免疫疗法

T 细胞可以通过基因编辑手段表达嵌合抗原受体。CAR 是 CAR-T 的核心部件, 赋予 T 细胞 MHC 非依赖方式识别肿瘤抗原的能力, 这使得经过 CAR 改造的 T 细胞相较于天然 T 细胞能够识别更广泛的目标。另外, 通过基因编辑, T 细胞可同时表达一些共刺激分子^[54,55], 以帮助 CAR-T 细胞克服肿瘤微环境中的免疫抑制性因素。在胶质瘤中, CAR-T 细胞的靶点主要是胶质瘤中高表达的 EGFRvIII 和白介素 13 受体 $\alpha 2$ 亚单

位。尽管两者的临床试验都没有显著改善患者的生存情况, 但在一个 I 期临床试验中观察到 CAR-T 细胞在肿瘤部位的浸润和活化, 对肿瘤组织有一定的杀伤作用^[56]。

总的来说, CAR-T 疗法的临床试验表明, CAR-T 细胞可以浸润胶质瘤, 并被活化。在 1 例患者身上, 这种疗法清除了大部分的恶性肿瘤组织^[57], 但在许多实体肿瘤中仅使用 CAR-T 疗法不足以杀灭肿瘤^[58]。在一个高度异质的肿瘤组织中仅靶向一种抗原, 并不足以杀灭所有的肿瘤细胞, 可能是导致 CAR-T 疗法失败的原因。在大多数患者中, CAR-T 疗法需要与其他疗法联合使用, 或同时靶向多个不同的抗原。另外, 肿瘤组织中免疫抑制的微环境也会限制 CAR-T 细胞的活性^[59,60]。所以, 提高 CAR-T 疗法有效性的方法有 CAR-T 细胞覆盖更多的抗原和联合疗法 (与免疫检查点分子抑制剂、IDO 抑制剂或 CSF1R 抑制剂等药物联用^[61,62])。

3.4 免疫检查点分子抑制剂

一些针对抑制 T 细胞活性的因子的抗体是过去 10 年中肿瘤治疗领域最重要的进展之一^[63,64], 其出现大大提高了极难治疗肿瘤患者的生存率。其中, 最主要的是针对免疫检查点蛋白 CTLA-4 和 PD-1 及其配体的抗体。这些抗体通过与免疫检查点分子结合来阻断免疫检查点分子与其配体之间的相互结合, 从

而减少对免疫系统的抑制。尽管胶质瘤中PD-L1的表达程度暂未阐明,但有研究表明PD-L1表达越高,患者的预后越差,这可能与抗肿瘤免疫的抑制有关^[12]。有文献^[65-67]报道,抗PD-1的治疗对于胶质瘤患者可能是有用的。

然而,免疫检查点分子抑制剂疗法也有明显的不足之处。由于胶质瘤位置的特殊性,免疫检查点分子抑制剂并不能很好地穿过血脑屏障。据估计,大约只有0.1%单克隆抗体可以通过被动扩散进入CNS^[68,69]。这也提示需要新的递药系统以改善疗效。同时由于胶质瘤本身肿瘤微环境的复杂性和不断的动态变化,单用免疫检查点分子抑制剂在胶质瘤治疗方面并没有取得很好的效果,可能需要与其他疗法联合使用以取得更好的效果。

3.5 纳米技术介导的免疫治疗

为提高免疫疗法的效果,近年来,纳米技术结合免疫疗法的运用逐渐增多。相比于传统的多肽疫苗,由纳米包载的多肽疫苗有更多的优势。

3.5.1 疫苗的靶向运输 传统疫苗中的抗原通过静脉注射的方式递呈给患者出现抗原的非特异性递送;而纳米疫苗则可以通过血液和淋巴管之间的压力梯度,促使纳米粒通过淋巴管有效递送至淋巴结,从而有效呈递抗原。淋巴结靶向纳米疫苗递送的效率可取决于一系列因素,包括大小、电荷、疏水性和弹性。一般来说,粒径小的纳米粒(<5 nm)可能会渗入血液循环,因为它们小于血液外渗的最大尺寸(约45 kDa);中等大小的纳米粒(5~100 nm)通过淋巴管有效地排入到淋巴结中,并在淋巴结中保留相对长的时间;粒径大的纳米粒(>100 nm)可以被注射部位的DC所吸收,这些APC随后携带内化的纳米疫苗进入淋巴结^[70-72]。此外,为了提高纳米疫苗的安全性,仿生纳米粒正逐步代替人工合成的纳米粒。

3.5.2 纳米佐剂 当包载抗原的纳米粒进入淋巴结后,纳米粒中的抗原可被DC摄取。纳米粒也可将发生变异的新生抗原和未突变抗原共同递送,以激起更强烈的免疫反应^[73]。纳米粒除包载抗原外,还可递送用于促进DC成熟的佐剂,如TLR样受体9,促进DC成熟和抗原递呈;包载抗PD-1抗体或抗CTLA-4抗体等免疫检查点抑制分子以减少肿瘤部位的免疫抑制,增强免疫反应。而且,纳米粒结构本身可以促进机体细胞与免疫相关的基因的表达,如PC7A纳米粒诱导STING基因激活^[74],同样达到增强免疫的效果。抗原递呈后可引发特异性T细胞的免疫反应,杀伤肿瘤细胞,并有记忆T细胞的形成,进一步防止肿瘤复发。尽管在一些纳米疫苗试验中已经检测到患者肿瘤部位特

异性记忆T细胞的形成^[73-77],然而临床试验结果显示仍有肿瘤复发,但复发肿瘤处浸润的特异性T细胞数量上升^[75]。

4 总结与展望

免疫治疗无疑是肿瘤治疗领域的一场革新,尤其是免疫检查点抑制剂和CAR-T细胞的应用,在许多其他类型的肿瘤中已经取得了惊人的效果。但在胶质瘤中,由于免疫抑制的肿瘤微环境和血脑屏障对给药的阻碍,免疫治疗的结果依然不尽如人意。大量研究显示,胶质瘤是一种“冷肿瘤”。因此,对于特异性新抗原和肿瘤标志物的研究、对于激起机体免疫系统反应方法的探索和多种治疗手段的联合使用,或许是使胶质瘤转化为“热肿瘤”的方式。疫苗和溶瘤病毒疗法是两种潜在的可行性较高的治疗手段。同时,如何使药物更好地透过血脑屏障,使药物更好地富集于肿瘤部位,也是有待解决的一大问题。纳米技术或许是可以克服现有免疫疗法局限性的平台,它们的特殊属性使其可以跨越血脑屏障,并且靶向肿瘤部位。如今,免疫治疗已经是GBM的治疗手段之一,这些不断更新的临床及实验方法也为未来治愈GBM带来了希望。

References

- [1] Wirsching HG, Galanis E, Weller M. Glioblastoma [J]. *Handb Clin Neurol*, 2016, 134: 381-397.
- [2] Lim M, Xia Y, Bettgowda C, et al. Current state of immunotherapy for glioblastoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 422-442.
- [3] Da RM, De Gregorio V, Iorio AL, et al. Glioblastoma chemoresistance: the double play by microenvironment and blood-brain barrier [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 2879.
- [4] Razavi SM, Lee KE, Jin BE, et al. Immune evasion strategies of glioblastoma [J]. *Front Surg*, 2016, 3: 11.
- [5] Antonios JP, Soto H, Everson RG, et al. Immunosuppressive tumor-infiltrating myeloid cells mediate adaptive immune resistance via a PD-1/PD-L1 mechanism in glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19: 796-807.
- [6] Uyttenhove C, Pilotte L, Theate I, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *Nat Med*, 2003, 9: 1269-1274.
- [7] Li B, Severson E, Pignon JC, et al. Comprehensive analyses of tumor immunity: implications for cancer immunotherapy [J]. *Genome Biol*, 2016, 17: 174.
- [8] Wu A, Wei J, Kong LY, et al. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12: 1113-1125.
- [9] Chongsathidkiet P, Jackson C, Koyama S, et al. Sequestration of T cells in bone marrow in the setting of glioblastoma and other

- intracranial tumors [J]. *Nat Med*, 2018, 24: 1459-1468.
- [10] Crane CA, Ahn BJ, Han SJ, et al. Soluble factors secreted by glioblastoma cell lines facilitate recruitment, survival, and expansion of regulatory T cells: implications for immunotherapy [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14: 584-595.
- [11] Wainwright DA, Chang AL, Dey M, et al. Durable therapeutic efficacy utilizing combinatorial blockade against IDO, CTLA-4, and PD-L1 in mice with brain tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 5290-5301.
- [12] Nduom EK, Wei J, Yaghi NK, et al. PD-L1 expression and prognostic impact in glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18: 195-205.
- [13] Preusser M, Berghoff AS, Wick W, et al. Clinical neuropathology mini-review 6-2015: PD-L1: emerging biomarker in glioblastoma? [J]. *Clin Neuropathol*, 2015, 34: 313-321.
- [14] Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease [J]. *Nature*, 2002, 415: 536-541.
- [15] Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6: 1245-1252.
- [16] Kim JE, Patel MA, Mangraviti A, et al. Combination therapy with anti-PD-1, anti-TIM-3, and focal radiation results in regression of murine gliomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 124-136.
- [17] Huard B, Tournier M, Hercend T, et al. Lymphocyte-activation gene 3/major histocompatibility complex class II interaction modulates the antigenic response of CD4⁺ T lymphocytes [J]. *Eur J Immunol*, 1994, 24: 3216-3221.
- [18] Eil R, Vodnala SK, Clever D, et al. Ionic immune suppression within the tumour microenvironment limits T cell effector function [J]. *Nature*, 2016, 537: 539-543.
- [19] Jarry U, Jeannin P, Pineau L, et al. Efficiently stimulated adult microglia cross-prime naive CD8⁺ T cells injected in the brain [J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43: 1173-1184.
- [20] Schartner JM, Hagar AR, Van Handel M, et al. Impaired capacity for upregulation of MHC class II in tumor-associated microglia [J]. *Glia*, 2005, 51: 279-285.
- [21] Srivastava S, Jackson C, Kim T, et al. A characterization of dendritic cells and their role in immunotherapy in glioblastoma: from preclinical studies to clinical trials [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11: 537.
- [22] Lasky JR, Panosyan EH, Plant A, et al. Autologous tumor lysate-pulsed dendritic cell immunotherapy for pediatric patients with newly diagnosed or recurrent high-grade gliomas [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33: 2047-2056.
- [23] Prins RM, Wang X, Soto H, et al. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded *versus* autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients [J]. *J Immunother*, 2013, 36: 152-157.
- [24] D'Agostino PM, Gottfried-Blackmore A, Anandasabapathy N, et al. Brain dendritic cells: biology and pathology [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 124: 599-614.
- [25] Tseng D, Volkmer JP, Willingham SB, et al. Anti-CD47 antibody-mediated phagocytosis of cancer by macrophages primes an effective antitumor T-cell response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 11103-11108.
- [26] Hussain SF, Yang D, Suki D, et al. The role of human glioma-infiltrating microglia/macrophages in mediating antitumor immune responses [J]. *Neuro Oncol*, 2006, 8: 261-279.
- [27] Gustafson MP, Lin Y, New KC, et al. Systemic immune suppression in glioblastoma: the interplay between CD14⁺HLA-DR^{lo/neg} monocytes, tumor factors, and dexamethasone [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12: 631-644.
- [28] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels [J]. *Nature*, 2015, 523: 337-341.
- [29] Engelhardt B, Vajkoczy P, Weller RO. The movers and shapers in immune privilege of the CNS [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18: 123-131.
- [30] Calzascia T, Masson F, Di Bernardino-Besson W, et al. Homing phenotypes of tumor-specific CD8 T cells are predetermined at the tumor site by crosspresenting APCs [J]. *Immunity*, 2005, 22: 175-184.
- [31] Carrithers MD, Visintin I, Kang SJ, et al. Differential adhesion molecule requirements for immune surveillance and inflammatory recruitment [J]. *Brain*, 2000, 123: 1092-1101.
- [32] Kivisakk P, Mahad DJ, Callahan MK, et al. Human cerebrospinal fluid central memory CD4⁺ T cells: evidence for trafficking through choroid plexus and meninges *via* P-selectin [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100: 8389-8394.
- [33] Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10: 514-523.
- [34] Sarkaria JN, Hu LS, Parney IF, et al. Is the blood-brain barrier really disrupted in all glioblastomas? A critical assessment of existing clinical data [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20: 184-191.
- [35] Bartholomaeus I, Kawakami N, Odoardi F, et al. Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions [J]. *Nature*, 2009, 462: 94-98.
- [36] Schlager C, Korner H, Krueger M, et al. Effector T-cell trafficking between the leptomeninges and the cerebrospinal fluid [J]. *Nature*, 2016, 530: 349-353.
- [37] Agrawal S, Anderson P, Durbeej M, et al. Dystroglycan is selectively cleaved at the parenchymal basement membrane at sites of leukocyte extravasation in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Exp Med*, 2006, 203: 1007-1019.
- [38] Song J, Wu C, Korpos E, et al. Focal MMP-2 and MMP-9 activity at the blood-brain barrier promotes chemokine-induced leukocyte

- migration [J]. *Cell Rep*, 2015, 10: 1040-1054.
- [39] Nishimura F, Dusak JE, Eguchi J, et al. Adoptive transfer of type 1 CTL mediates effective anti-central nervous system tumor response: critical roles of IFN-inducible protein-10 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 4478-4487.
- [40] Korn T, Kallies A. T cell responses in the central nervous system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17: 179-194.
- [41] Pardridge WM. Blood-brain barrier delivery [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12: 54-61.
- [42] Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, et al. Structure and function of the blood-brain barrier [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37: 13-25.
- [43] Pardridge WM. Drug transport across the blood-brain barrier [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32: 1959-1972.
- [44] Silva R, Vilas-Boas V, Carmo H, et al. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 149: 1-123.
- [45] Saran F, Chinot OL, Henriksson R, et al. Bevacizumab, temozolomide, and radiotherapy for newly diagnosed glioblastoma: comprehensive safety results during and after first-line therapy [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18: 991-1001.
- [46] Ramachandran M, Yu D, Dyczynski M, et al. Safe and effective treatment of experimental neuroblastoma and glioblastoma using systemically delivered triple microRNA-detargeted oncolytic Semliki forest virus [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 1519-1530.
- [47] Liu Z, Zhao X, Mao H, et al. Intravenous injection of oncolytic picornavirus SVV-001 prolongs animal survival in a panel of primary tumor-based orthotopic xenograft mouse models of pediatric glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15: 1173-1185.
- [48] Desjardins A, Gromeier M, Herndon JN, et al. Recurrent glioblastoma treated with recombinant poliovirus [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379: 150-161.
- [49] Philbrick BD, Adamson DC. Early clinical trials of Toca 511 and Toca FC show a promising novel treatment for recurrent malignant glioma [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28: 207-216.
- [50] Cloughesy TF, Landolfi J, Hogan DJ, et al. Phase 1 trial of vocimagene amiretrorepvec and 5-fluorocytosine for recurrent high-grade glioma [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 341r-375r.
- [51] Schuster J, Lai RK, Recht LD, et al. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in newly diagnosed glioblastoma: the ACT III study [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17: 854-861.
- [52] Migliorini D, Dutoit V, Allard M, et al. Phase I/II trial testing safety and immunogenicity of the multipeptide IMA950/poly-ICLC vaccine in newly diagnosed adult malignant astrocytoma patients [J]. *Neuro Oncol*, 2019, 21: 923-933.
- [53] Liao LM, Ashkan K, Tran DD, et al. First results on survival from a large phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma [J]. *J Transl Med*, 2018, 16: 142.
- [54] Morgan RA, Johnson LA, Davis JL, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma [J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23: 1043-1053.
- [55] Finney HM, Akbar AN, Lawson AD. Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors: costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR zeta chain [J]. *J Immunol*, 2004, 172: 104-113.
- [56] O'Rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma [J]. *Sci Transl Med*, 2017. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa0984.
- [57] Brown CE, Alizadeh D, Starr R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2561-2569.
- [58] Dai H, Wang Y, Lu X, et al. Chimeric antigen receptors modified T-cells for cancer therapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016. DOI: 10.1093/jnci/djv439.
- [59] Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 566-581.
- [60] Morales-Kastresana A, Labiano S, Quetglas JI, et al. Better performance of CARs deprived of the PD-1 brake [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 5546-5548.
- [61] Ninomiya S, Narala N, Huye L, et al. Tumor indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19-CAR T cells and is down-regulated by lymphodepleting drugs [J]. *Blood*, 2015, 125: 3905-3916.
- [62] Pyonteck SM, Akkari L, Schuhmacher AJ, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression [J]. *Nat Med*, 2013, 19: 1264-1272.
- [63] Topalian SL, Taube JM, Anders RA, et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16: 275-287.
- [64] Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, et al. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14: 463-482.
- [65] Roth P, Valavanis A, Weller M. Long-term control and partial remission after initial pseudoprogression of glioblastoma by anti-PD-1 treatment with nivolumab [J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19: 454-456.
- [66] Bouffert E, Larouche V, Campbell BB, et al. Immune checkpoint inhibition for hypermutant glioblastoma multiforme resulting from germline biallelic mismatch repair deficiency [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 2206-2211.
- [67] Johanns TM, Miller CA, Dorward IG, et al. Immunogenomics of hypermutated glioblastoma: a patient with germline POLE deficiency treated with checkpoint blockade immunotherapy [J].

- Cancer Discov, 2016, 6: 1230-1236.
- [68] Poduslo JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91: 5705-5709.
- [69] St-Amour I, Pare I, Alata W, et al. Brain bioavailability of human intravenous immunoglobulin and its transport through the murine blood-brain barrier [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2013, 33: 1983-1992.
- [70] Irvine DJ, Hanson MC, Rakhra K, et al. Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy [J]. Chem Rev, 2015, 115: 11109-11146.
- [71] Reddy ST, van der Vlies AJ, Simeoni E, et al. Exploiting lymphatic transport and complement activation in nanoparticle vaccines [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25: 1159-1164.
- [72] Zhu G, Zhang F, Ni Q, et al. Efficient nanovaccine delivery in cancer immunotherapy [J]. ACS Nano, 2017, 11: 2387-2392.
- [73] Hilf N, Kuttruff-Coqui S, Frenzel K, et al. Actively personalized vaccination trial for newly diagnosed glioblastoma [J]. Nature, 2019, 565: 240-245.
- [74] Luo M, Wang H, Wang Z, et al. A STING-activating nanovaccine for cancer immunotherapy [J]. Nat Nanotechnol, 2017, 12: 648-654.
- [75] Keskin DB, Anandappa AJ, Sun J, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial [J]. Nature, 2019, 565: 234-239.
- [76] Kuai R, Ochyl LJ, Bahjat KS, et al. Designer vaccine nanodiscs for personalized cancer immunotherapy [J]. Nat Mater, 2017, 16: 489-496.
- [77] Park HJ, Kuai R, Jeon EJ, et al. High-density lipoprotein-mimicking nanodiscs carrying peptide for enhanced therapeutic angiogenesis in diabetic hindlimb ischemia [J]. Biomaterials, 2018, 161: 69-80.