

## 基于纳米递药系统的肿瘤微环境多靶点调控策略研究进展

李菁<sup>1,2</sup>, 潘婷<sup>1,2</sup>, 赵思垚<sup>1,2</sup>, 陈晓晴<sup>1,2</sup>, 尹昊天<sup>1,2</sup>, 吉小烨<sup>1,2</sup>,  
吴玓璠<sup>1,2</sup>, 王伟<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国药科大学药学院药剂系, 江苏南京 210098; 2. 中国药科大学, 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏南京 210098)

**摘要:** 肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 是由内皮细胞、周细胞、免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs)、肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 等成分组成的复杂生物环境。TME 与肿瘤细胞间通过大量信号通路相互作用, 参与肿瘤的发展、侵袭和转移进程。因此, TME 成为了癌症治疗的潜在靶点, 在肿瘤治疗领域展示出良好的治疗潜力和研究价值。目前, 新型纳米技术被广泛应用于抗肿瘤治疗, 纳米技术介导的药物递送系统正在被研究应用于 TME 调控从而抑制肿瘤生长。与传统治疗方式相比, 纳米技术介导的药物递送具有许多优点, 包括延长循环时间、提高生物利用度和降低毒性。本文综述了基于 TME 调控的靶向纳米递药系统研究现状, 包括基于 CSCs、CAFs、免疫细胞、ECM、肿瘤血管系统、外泌体、微生物群的调控策略。此外, 本文总结了与传统治疗策略相比 TME 调控策略的优势及面临的机遇与挑战, 为基于 TME 调控策略的纳米递药系统应用于肿瘤精准治疗提供了参考和借鉴。

**关键词:** 肿瘤微环境; 纳米技术; 调控; 靶向; 肿瘤治疗

中图分类号: R945 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)03-0536-14

## Research progress on multi-target regulation strategies of tumor microenvironment based on nano-drug delivery system

LI Jing<sup>1,2</sup>, PAN Ting<sup>1,2</sup>, ZHAO Si-yao<sup>1,2</sup>, CHEN Xiao-qing<sup>1,2</sup>, YIN Hao-tian<sup>1,2</sup>, JI Xiao-ye<sup>1,2</sup>,  
WU Qi-fan<sup>1,2</sup>, WANG Wei<sup>1,2\*</sup>

(1. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210098, China;  
2. State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210098, China)

**Abstract:** Tumor microenvironment (TME) is composed of endothelial cells, pericytes, immune cells, cancer-associated fibroblasts (CAFs), cancer stem cells (CSCs), extracellular matrix (ECM) and other components of the complex biological environment. TME interacts with the tumor cells through a large amount of signaling pathways, participates in the process of tumor progression, invasion, and metastasis. Hence, TME has become a potential therapeutic target for cancer treatment, exhibiting excellent therapeutic potential and research value in the field of cancer treatment. Currently, the novel nanotechnology has been widely applied in anticancer therapy, and nanotechnology-mediated drug delivery system is being explored to apply in TME modulation to inhibit tumor progression. Nanotechnology-mediated drug delivery has many advantages over traditional therapeutic modalities, including longer circulation times, improved bioavailability, and reduced toxicity. This review summarized the research of targeted nano-drug delivery based on TME regulation, including regulation strategies based on CSCs, CAFs,

收稿日期: 2022-07-31; 修回日期: 2022-09-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31872756, 32071387).

\*通讯作者 Tel: 86-25-86185328, E-mail: wangcpu209@cpu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0939

immune cells, ECM, tumor vascularization, exosomes, and microbiota. In addition, we summarized the advantages, opportunities, and challenges of TME regulation strategy compared with traditional treatment strategy, which provides a reference for the application of nano-drug delivery system based on TME regulation strategy in tumor precision therapy.

**Key words:** tumor microenvironment; nanotechnology; regulation; targeting; tumor therapy

肿瘤是由机体局部组织增生, 阻碍机体其他正常细胞功能发挥作用的恶性细胞。早在19世纪, 近代病理学之父 Paget 就提出了肿瘤生长的“种子-土壤学说”, 该理论指出, 肿瘤细胞的生长需依附于合适的肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME)<sup>[1]</sup>。TME 是指肿瘤细胞存在的周围环境, 包括免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs)、脂肪细胞、骨髓源性炎性细胞等除肿瘤细胞外的细胞及非细胞结构的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)<sup>[2]</sup>, 还包括各种细胞分泌的细胞因子、炎性因子、囊泡等, 以及致密的血管和淋巴管网络<sup>[3]</sup>。TME 中的多种信号因子及大多数成分都有利于肿瘤细胞的生长及转移, 通过 ECM 导致肿瘤的发展恶化<sup>[4]</sup>。

传统肿瘤治疗方式虽可直接杀伤肿瘤细胞, 但往往也多因直接作用于肿瘤细胞而存在许多弊端, 如易使肿瘤细胞产生耐药性、药物渗透率低、复发率高、不良反应大等<sup>[5]</sup>。随着人们对 TME 在肿瘤发生及发展过程中作用的深入探索, 逐渐提出了在肿瘤治疗过程中, 通过靶向调控 TME 中相关细胞和各种因子水平来实现对恶性肿瘤的控制与治疗<sup>[6]</sup>。纳米递药系统通常具有良好的生物相容性与药物稳定性, 一般在 10~200 nm, 可于 TME 中被动积聚, 同时也具有良好的可降解性, 安全性高。此外, 经修饰的纳米递药系统可锚定 TME 中的不同生物靶点, 进而选择性地控制药物释放, 进行针对性治疗<sup>[7]</sup>。如 TME 中的各种成分会通过相互作用共同构建免疫抑制环境以帮助肿瘤细胞实现免疫逃逸, 可采用纳米技术靶向重塑 TME, 实现基于 TME 抑制途径的特异性阻断, 为有效杀伤肿瘤细胞提供了思路<sup>[8]</sup>。

本文综述了基于 TME 调控的靶向纳米递药系统研究现状, 包括基于肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs)、CAF s、免疫细胞、ECM、肿瘤血管系统、外泌体、微生物群的调控策略 (图 1), 此外, 还总结了与传统治疗策略相比 TME 调控策略的优势及面临的机遇与挑战。

## 1 TME 靶向策略

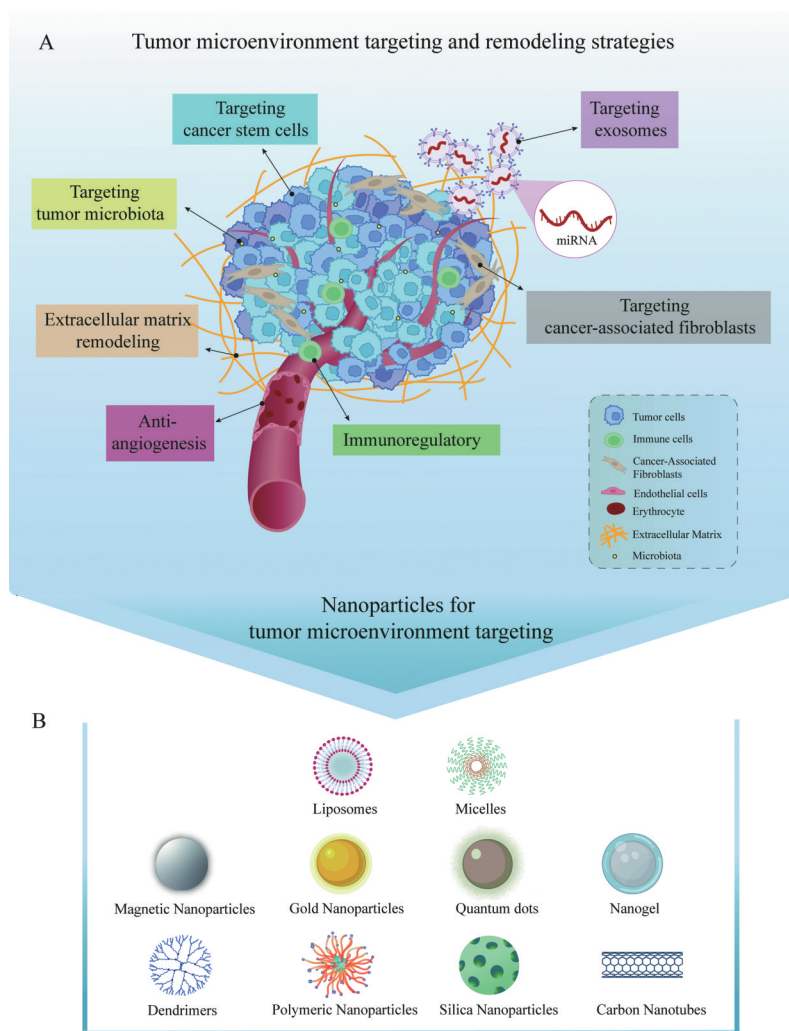
### 1.1 CSCs 靶向纳米递药系统

CSCs 是 TME 中重要的细胞亚群, 具有自我更新、

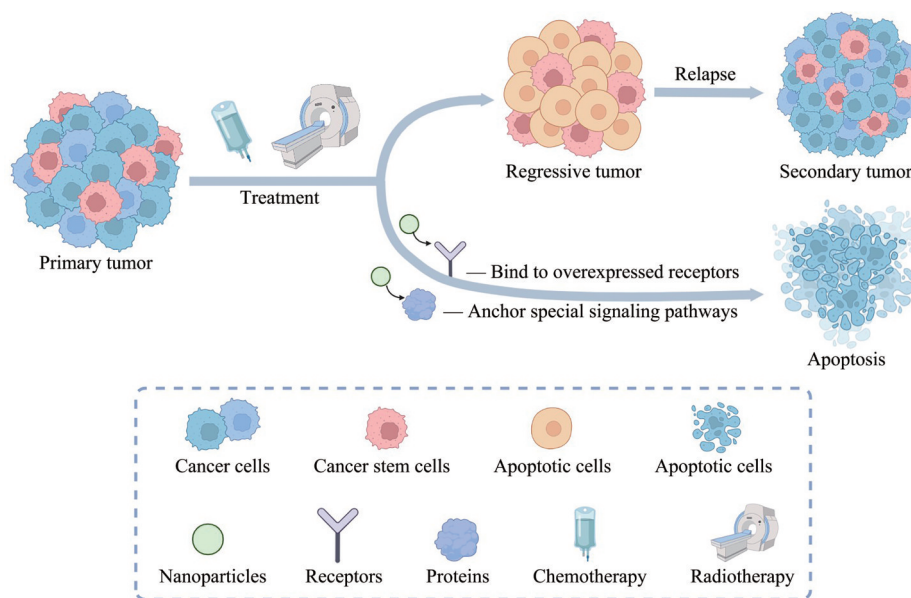
多向分化、耐药性及致瘤性等特征<sup>[9]</sup>。CSCs 是肿瘤形成及不断生长的根源, 对调节 TME 有很大作用, 且是导致肿瘤形成、发展、转移、复发和预后不良的关键因素<sup>[10]</sup>。虽然传统放疗和化疗对肿瘤有一定治疗作用, 但 CSCs 具有耐药性, 能通过各种机制避免被杀灭, 包括增强药物转运蛋白的表达、维持缓慢分裂状态和快速修复 DNA 的能力等, 是肿瘤转移和复发的关键原因<sup>[11]</sup>。临床观察表明, 在转移过程中大多数细胞都会死亡, 但仍有少数细胞能存活并渗透到靶器官, 进入潜伏期长期生存, 最终复发<sup>[12]</sup>。原发肿瘤内的肿瘤细胞在经过化疗或放疗后, 不能完全被杀灭, 残留的耐药 CSCs 可能会引起肿瘤复发, 进一步形成继发性肿瘤 (图 2)。

纳米技术介导的药物递送系统通过靶向 TME 的 CSCs 能有效根除肿瘤, 降低复发和转移的风险。CSCs 在化疗期间发展耐药性是癌症治疗中最难克服的障碍, 通过靶向 CSCs, 能大幅提高协同抗癌效果, 克服当前疗法下 CSCs 相关的化疗耐药性, 预防肿瘤复发, 具有可观的临床应用潜力。

胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 恶性程度高, 生存率低且预后差<sup>[13]</sup>。替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 与放射治疗相结合可延长患者生存时间, 但治疗效果受到 DNA 修复蛋白 O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT) 的限制, 该蛋白可帮助修复 TMZ 诱导的 DNA 损伤, 使肿瘤细胞存活。通过全身施用 MGMT 抑制剂 (O<sup>6</sup>-苄基鸟嘌呤) 来抑制 MGMT 活性的效果并不好<sup>[14]</sup>, 所以 Wang 等<sup>[15]</sup>选择了基于小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 的 MGMT 抑制剂 siMGMT, 制备了一种以氧化铁 (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) 为核心, 涂有壳聚糖-聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)-聚乙烯亚胺 (polyethylenimine, PEI) 共聚物的纳米粒, 并负载 siMGMT 和氯毒素 (chlorotoxin, CTX)。与正常脑组织相比, CTX 对脑肿瘤细胞表现出特异性靶向, 且 CTX 还可通过受体介导的胞吞作用提高血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 渗透性<sup>[16]</sup>, 构建的纳米递药系统可成功穿透 BBB, 保护 siRNA 不被核酸酶降解, 且毒性较小。与单独使用 TMZ 相比, siRNA-CTX 和 TMZ 的联合治



**Figure 1** Schematic illustration of the targeting and remodeling strategies of tumor microenvironment (TME) based on nanotechnology. A: Several anti-tumor targets in the tumor microenvironment; B: Several drug delivery vehicles



**Figure 2** Schematic illustration of the therapeutic approaches against tumor growth

疗抑制了MGMT的表达和活性,使GBM细胞对TMZ敏感,大大增强了对耐药性GBM和GBM干细胞的杀伤力,并延长了GBM6原位异种移植小鼠的存活时间。Shen等<sup>[17]</sup>开发了一种TME响应性纳米治疗策略,将分化诱导剂全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)和化疗药物喜树碱(camptothecin, CPT)负载到同一纳米胶束中,让ATRA和CPT保持固定的药物比例。ATRA/CPT纳米粒在TME缺氧条件的触发下,结构上从疏水性的硝基咪唑基团变为亲水性的氨基咪唑基团,疏水作用减弱,ATRA被加速释放,诱导了CSC的分化。CSC分化后细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平上升,导致与CPT相连的化学键断裂,CPT被释放,进一步杀伤肿瘤细胞。与单独使用分化诱导剂或化疗药物相比,分化诱导剂可使肿瘤细胞向正常的成熟方向分化,且毒性较小,缺点是对实体瘤的疗效较差。而使用细胞毒性药物的传统单一化疗不仅不能有效杀死耐药的CSC,还会增加其干性。分化诱导剂和化疗药物的结合大大提高了抗癌效果。这些发现为探索新的纳米治疗手段和克服与CSC相关的化疗耐药性提供了光明的发展前景,靶向TME内的CSCs将为肿瘤治疗提供更多可能性。

## 1.2 CAFs靶向纳米递药系统

CAFs是肿瘤间质中含量最丰富的细胞<sup>[18]</sup>,参与肿瘤细胞的生成、增殖、侵袭和转移过程<sup>[19,20]</sup>。CAFs还可分泌很多生长因子,包括转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、肝细胞生长因子、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等。作为TME的主要组成部分,抑制CAFs是一种重塑TME,实现肿瘤治疗的潜在手段。CAF不仅可通过分泌多种细胞因子参与调节免疫反应,抑制免疫细胞功能,从而形成免疫抑制性TME,促进肿瘤生长,CAF还可重塑ECM,对药物产生屏障作用<sup>[21]</sup>。利用CAFs作为治疗靶点,靶向调控CAFs可增强药物在靶部位的蓄积,增强药物抗癌效果。CAFs的作用主要是促进肿瘤的发生,但同时也具有抑制肿瘤的可能性,但由于缺乏特定的生物标志物,所以要找到一种专门针对CAF促肿瘤亚型的治疗方法是比较困难的。

联合放射治疗靶向CAFs、调节T细胞和肿瘤相关巨噬细胞已被报道可有效治疗癌症<sup>[22]</sup>。Chen等<sup>[23]</sup>用6-磷酸基己酸修饰聚-L-赖氨酸,生成PDGL,然后装入吉西他滨(gemcitabine, GEM),制成纳米递药系统PDGL-GEM,再将其与自噬抑制剂磷酸氯喹(chloroquine phosphate, CQ)和磷酸钙(calcium phosphate, CAP)共沉淀后生成PDGL-GEM@CAP/CQ纳米复合物。这种“纳米炸弹”对pH敏感,在酸性TME中CAP

被分解,释放出CQ和PDGL-GEM,CQ会被周围的CAFs内化,通过抑制自噬来减少纤维化从而重塑TME,使化疗药物GEM可深入肿瘤,增强化疗效果。两种药物通过协同作用,抑制肿瘤的生长和转移。与单独使用化疗药物GEM或自噬抑制剂CQ相比,PDGL-GEM@CAP/CQ更能抑制成纤维细胞的自噬,表现出更强的抗肿瘤作用。Son等<sup>[24]</sup>在4T1原位肿瘤模型中使用含有马西替坦(micitentan, MCT)的纳米聚合物胶束,通过调节CAFs来抑制癌细胞产生外泌体,并调节T细胞亚群在TME中的分布,达到阻止纤维化进展的作用。使用含有MCT的纳米粒实现了将MCT被动靶向至具有免疫抑制性的TME,从而重塑TME,与免疫检查点疗法联用时,可显著增强抗肿瘤效果并抑制肿瘤转移。

## 1.3 免疫调控型纳米递药系统

免疫系统作为人体与生俱来的防线,其中的特异性免疫具有高度识别能力,一旦将癌细胞视为“异己”,即可针对性消灭肿瘤,避免对于正常组织的伤害。TME中存在大量免疫细胞,这些细胞与肿瘤的生长与转移密切相关。目前存在一些通过调节细胞免疫来实现肿瘤治疗的手段,如免疫功能检查点疗法、癌症抗体疗法、单克隆细胞抗体疗法等<sup>[25]</sup>。然而,由于肿瘤组织的低免疫原性和TME中存在大量抑制免疫的因素,抗肿瘤效应受到极大限制。免疫细胞对免疫调节的效用可分为两种:①免疫反应刺激细胞,如树突状细胞(dendritic cells, DCs)、细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、M1表型巨噬细胞(tumor associated macrophages with M1 phenotype, M1 TAMs)等;②免疫抑制细胞,如骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)、M2表型巨噬细胞(tumor associated macrophages with M2 phenotype, M2 TAMs)、调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)等<sup>[26]</sup>。使用纳米技术介导的递药系统增强免疫刺激性细胞的能力,同时规避免疫抑制性细胞对免疫调节的不利影响是目前肿瘤免疫治疗的主要策略。

**1.3.1 免疫反应刺激细胞** DCs被认为是人体内最强大的抗原递送细胞,未分化成熟前的DCs具有强大的肿瘤抗原识别和吞噬应答能力,分化成熟后高度表达肿瘤共刺激抗原与附着力因子<sup>[27]</sup>。DEC-205受体是一种内吞受体,在淋巴组织中的DCs上含量丰富。Bonifaz等<sup>[28]</sup>设计了一种可有效靶向DCs的纳米递药系统,将卵清蛋白掺入到DEC-205受体的单克隆抗体中,同时注射激动剂 $\alpha$ -CD40抗体,使DCs成熟。结果表明,纳米递药系统可通过靶向内吞受体促进DCs成熟从而表

达肿瘤刺激抗原。CTLs由CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞成熟得来,对肿瘤的免疫治疗发挥重要作用<sup>[29]</sup>。由于CTLs上特异性的组织相容性复合体I类(MHC-I)的限制,肿瘤细胞可被精确杀死而不影响到其他细胞。另外,CTLs还可分泌穿孔素与细胞毒素更进一步发挥免疫调节作用。除DCs和CTLs外,还存在一些其他种类的免疫刺激细胞,在癌症治疗中也发挥重要作用,如辅助性T细胞(helper T cell, Th)、NK、M1 TAMs等。Th细胞可在其表面表达CD4,不同类型Th1、Th2、Th17可分泌不同的细胞因子来对免疫调节产生影响<sup>[30]</sup>。NK可直接调节细胞毒效应,在活化后释放穿孔素、颗粒酶等参与抗肿瘤治疗<sup>[31]</sup>。M1 TAMs主要存在于实体瘤环境中,能释放多种因子,也能进行肿瘤抗原的呈递<sup>[32]</sup>。尽管以上免疫刺激细胞可产生许多免疫刺激性反应,但同时产生很多问题。比如,随着肿瘤的发展,NK的能力会逐渐弱化,TAMs的能力也会根据TME的变化而变化等<sup>[33]</sup>。

**1.3.2 免疫抑制性细胞** Tregs可通过多种途径抑制免疫反应,产生多种免疫抑制性细胞因子,削弱肿瘤免疫反应,明显抑制CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的增殖活化,并削弱NK的细胞毒效应<sup>[34]</sup>。此外,Tregs还会下调DCs的核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)通道以抑制抗原递送过程,使DCs的活化与免疫反应受到影响<sup>[35]</sup>。

与M1 TAMs不同,M2 TAMs在TME中表现出免疫抑制特性,会增加TME中多种可溶性蛋白分子数量,也会导致TME中T淋巴细胞失效,造成免疫抑制性TME,降低杀伤肿瘤的能力<sup>[36]</sup>。因此,在抗肿瘤的免疫治疗中需降低M2 TAMs数量。TAMs会对TME中分子的改变做出反应,包括细胞因子、趋化因子、模块识别因子和激素,具有良好的可塑性。因此,将具有促进肿瘤生长的M2 TAMs转化为具有杀伤肿瘤能力的M1 TAMs可作为治疗肿瘤的潜在策略。然而,这种转变是非特异性的,且会导致全身炎症,因此Zhang等<sup>[37]</sup>便描述了一种不会引起炎症反应且可提供M1偏向转录因子的体外转录的mRNA。在卵巢癌、黑色素瘤和胶质母细胞瘤模型中,输入含有编码干扰素因子5的mRNA及其激活激酶kappa B抑制因子激酶(inhibitor of kappa B kinase  $\beta$ , IKK $\beta$ )的纳米粒用来逆转TAMs对于肿瘤的支持作用并将其重新转化为具有抗肿瘤效用的表型,促进肿瘤消退。

#### 1.4 ECM靶向纳米递药系统

ECM是一种存在于细胞周围的三维高分子复杂网络,可为细胞提供多功能支持<sup>[38]</sup>,由胶原蛋白、蛋白聚糖、层黏连蛋白和纤维连接蛋白等成分组成。ECM

中蛋白质的多样性也赋予了不同细胞不同的生理属性,从而调节各种细胞的生理过程<sup>[39]</sup>。ECM不仅作为细胞间质存在,在构成TME中也起到重要作用。Senthebane等<sup>[40]</sup>通过搭建三维细胞模型证明了ECM能削弱抗癌药物对肿瘤细胞的细胞周期和增殖的影响,并会对顺铂(cisplatin, CDDP)、5-氟尿嘧啶和表柔比星(epirubicin, EPI)产生耐药性。同时,ECM中的胶原蛋白和透明质酸(hyaluronic acid, HA)等成分可在肿瘤组织附近聚集,并阻碍药物向肿瘤组织内部渗透<sup>[41]</sup>。此外,当免疫系统积极参与癌症部位受损组织的再生时,会促进ECM的形成和沉积<sup>[42]</sup>,反之,肿瘤部位的ECM又有助于免疫抑制网络的构建,在新形成的网络中,分泌的细胞因子和趋化因子可协助肿瘤细胞逃避免疫系统<sup>[43-45]</sup>,这种现象通常被视为免疫反应障碍,并可阻止药物扩散和肿瘤细胞的细胞坏死<sup>[46,47]</sup>。由此可知,靶向肿瘤微环境ECM中的HA或胶原蛋白是一种肿瘤治疗的有效手段。

**1.4.1 降解透明质酸的纳米递药系统** HA是ECM中的重要组分,是一种带有负电荷的酸性黏多糖,广泛分布于动物体的关节等部位<sup>[48]</sup>。HA在肿瘤组织中过度表达,形成胶状致密ECM,可抑制化疗药物积聚,同时增加肿瘤间质液体压力(interstitial fluid pressures, IFP)<sup>[49]</sup>。这将导致递送到肿瘤组织中的化疗药物浓度降低,无法渗透入致密的肿瘤组织,阻碍药物向更深层次扩散,治疗效果大打折扣。因此,HA可作为一个理想的抗癌药物靶点,通过降解HA来增强化疗药物的渗透,充分发挥化疗药物的肿瘤杀伤效果。Chen等<sup>[50]</sup>设计一种透明质酸酶(hyaluronidase, HAase)负载EPI的纳米粒,通过降解ECM中的HA促进载药纳米粒在实体肿瘤组织中的渗透和扩散,大幅增加EPI渗透深度,结合纳米递药系统本身具有pH敏感性的特点,在减小不良反应的同时增强对体内实体瘤生长的抑制。

**1.4.2 调节胶原蛋白的纳米递药系统** 胶原蛋白是ECM的基本组成成分之一,是人体组织中发现的28种独特亚型中含量最丰富的蛋白质<sup>[51]</sup>。ECM中的胶原蛋白为肿瘤免疫浸润提供了物理屏障,含有大量胶原蛋白的TME可把肿瘤组织与免疫系统隔开,使肿瘤组织躲避免疫系统的攻击。含有胶原蛋白的TME也可作为免疫抑制受体的配体,如白细胞相关免疫球蛋白样受体1(leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1, LAIR-1),此受体广泛表达于免疫细胞表面,是一种在免疫细胞上广泛表达的免疫检查点。当LAIR-1与胶原样结构域结合后,会释放免疫抑制信号,不仅会影响T细胞的正常功能,还会抑制NK、单核细胞、DCs等免疫细胞的激活和正常功能。此外,胶原

蛋白与 TGF- $\beta$  联合作用可把 TME 转化为一个免疫抑制性环境<sup>[52,53]</sup>。Horn 等<sup>[51]</sup>报道了靶向抑制 LAIR-1 并阻断 TGF- $\beta$  与细胞程序性死亡-配体 1 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 相结合的疗法, 重塑了肿瘤基质, 增强了肿瘤浸润和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活化, 并实现巨噬细胞复极化, 在结肠癌和乳腺癌的小鼠模型中实现了高治愈率和长期肿瘤特异性保护。

### 1.5 抗血管生成纳米递药系统

血管在肿瘤的发生、发展与转移过程中发挥不可或缺的作用, 为维持肿瘤细胞的正常生命活动提供多种保障, 包括营养供应、代谢废物处理及与其他组织间的交流等<sup>[54]</sup>。正常的血管网络由成熟血管均匀分布, 分层组织, 靠促血管生成因子及抗血管生长因子间的动态平衡维持有序的血液供应, 并与体内细胞进行正常的物质交换<sup>[55]</sup>。血管形成要经过原血管基底膜酶解、内皮细胞迁移、内皮细胞增殖、新生血管的构建与成熟 4 个过程, 在正常生理条件下严格受控<sup>[56]</sup>。然而, 为满足肿瘤生长需求, 肿瘤血管的生长是连续且失控的<sup>[57]</sup>, 呈现紊乱、曲折、不成熟等特征, 极大降低了运送营养物质与代谢废物的能力<sup>[58]</sup>。促血管生成因子的过度表达导致肿瘤新生血管生成迅速, 生长速度快且呈持续性, 最终使肿瘤血管网络变得杂乱无章。肿瘤血管相比于正常血管具有不成熟性, 细胞间连接松散, 部分毛细血管壁缺乏内皮细胞, 使机体无法正常调控血管活动。肿瘤组织内的血流量仅为正常的 1%~10%, 血管结构异常导致 TME 缺氧、灌注不良和 IFP 升高<sup>[59]</sup>。

另外, 肿瘤组织无氧酵解会产生大量 H<sup>+</sup>, 使 TME 呈现低营养、低 pH、低氧状态。这些因素一方面会促进肿瘤细胞进一步增殖, 不利于对肿瘤的控制; 另一方面使得抗肿瘤药物向肿瘤组织的输送和渗透受阻, 降低了化疗和放疗的疗效, 甚至产生耐药性和免疫抑制<sup>[60]</sup>。值得注意的是, 当肿瘤组织直径大于 2 mm 时, 就具备了诱导血管形成的能力, 需生成血管以获取其生存和发展的营养<sup>[61]</sup>。而肿瘤部位不成熟、不规则、渗漏的血管特征也为肿瘤细胞的增殖和转移提供了重要途径<sup>[62]</sup>。因此, 通过抗血管生成来重塑 TME 是肿瘤靶向治疗中极具潜力的策略之一 (图 3)。

新生血管是肿瘤生长和转移的基础, 一般来说, 肿瘤血管的生成受 VEGF 调节<sup>[63]</sup>。因此, VEGF 信号系统成为了大多数抗血管生成药物的靶点。Li 等<sup>[64]</sup>用血小板膜 (platelet membrane, PM) 涂层介孔二氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticle, MSN) 联合负载了血管破坏剂康普瑞汀 A4 (combrestatin A4, CA4) 和抗血管生成药物阿帕替尼 (apatinib, Apa), 组装成 MSN@PM-C-A 纳米递药系统。CA4 的优势为快速破坏肿瘤血管内皮, 并诱导继发性血栓形成来阻断对肿瘤的营养供应。而 Apa 可通过选择性抑制血管内皮生长因子受体-2 (VEGFR-2) 酪氨酸激酶, 来妨碍 VEGFR-2 与其受体间的相互作用, 抑制肿瘤新生血管生长与扩张。两者的巧妙结合再加上 PM 对肿瘤血管受损部位的主动靶向能力, 进一步增强纳米粒在肿瘤组织中的积累。在 MHCC-97H 肝肿瘤模型实验中,

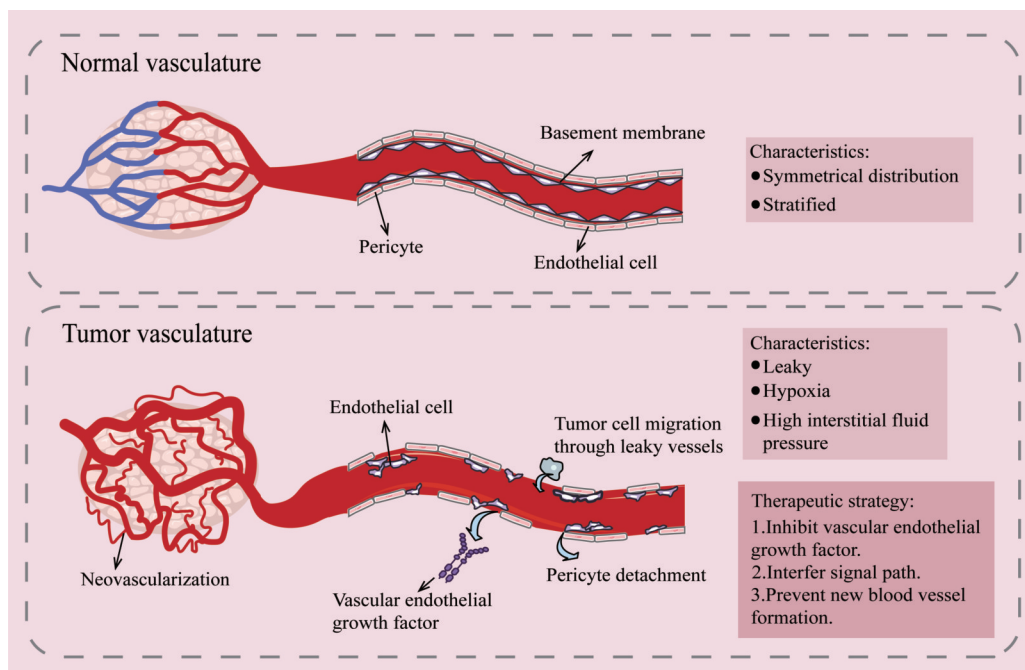


Figure 3 Schematic illustration of the differences between normal vasculature and tumor vasculature

MSN@PM-C-A 被证实能有效抑制肿瘤部位的血管生成, 显著提高抗肿瘤效率。

化疗后, 肿瘤还可通过重建血管的方式复发, 此过程与在巨噬细胞及内皮细胞中过表达的血管生成素受体, 包含免疫球蛋白和表皮生长因子源性-2的酪氨酸激酶受体 (Tie2) 密切相关<sup>[65]</sup>。为防止肿瘤复发, 抑制 Tie2 活性是关键。Zhang 等<sup>[66]</sup>利用一种双响应型两性性肽修饰疏水肽 T4, 组装成抑制 Tie2 的纳米粒 (P-T4)。T4 是一种能抑制信号转导、细胞迁移和血管生成的生物活性肽<sup>[67]</sup>, P-T4 在酸性 TME 中会自发膨胀, 随后在巨噬细胞与内皮细胞表面释放 T4 与 Tie2 相互作用, 干扰血管生成素 (angiopoietin, ANG)/Tie2 信号通路, 从而抑制血管生成和肿瘤细胞迁移。此设计的优势在于, 通过双响应型两性性肽的装载, 克服了 T4 溶解度差, 生物利用度低, 循环时间短等缺点<sup>[68]</sup>, 并减少了网状内皮系统的非特异性吞噬, 进一步延长血液循环<sup>[69]</sup>, 同时纳入疏水分子二乙氨基丙酯, 在肿瘤细胞外 pH 6.7~7.1 时质子化<sup>[70]</sup>, 对疏水性靶向 Tie2 的抗肿瘤肽进行了修饰, 在 pH 7.4 时可自组装成纳米粒。该实验运用了 4T1 乳腺癌肿瘤细胞模型, 在使用化疗药物 Lipo-Dox 治疗后肿瘤复发的情况下, P-T4 成功抑制了 Tie2 表达及内皮细胞的迁移与血管形成, 具有良好的抗血管生成活性, 表现出在防止肿瘤复发方面巨大的潜力。除内皮依赖性血管 (endothelium-dependent vessel, EDV) 外, 肿瘤血管生成中另一种关键形式是血管生成拟态 (vasculogenic mimicry, VM), 是一种不依赖内皮细胞的肿瘤微循环模式, 指肿瘤细胞通过自身变形、基质重塑形成的管道结构<sup>[71]</sup>。着眼于与 EDV 和 VM 相关的原位恶性转移肿瘤的治疗, Luo 等<sup>[72]</sup>设计了一种自组装纳米递药系统 (VE-CDDP-Pro), 将 cRGD-叶酸-肝素纳米粒 (VE) 与 CDDP 整合, 并通过静电相互作用修饰到鱼精蛋白 (protamine, Pro) 纳米粒的表面。在酸性 TME 下, Pro 因带正电荷而易被 H<sup>+</sup> 吸引<sup>[73]</sup>, 与 VE-CDDP 分离, 使其释放到卵巢癌细胞中。释放的 VE-CDDP 可特异性结合整合素  $\alpha\beta3$  或  $\alpha5\beta1$ , 调控 AKT/mTOR/MMP-2 层黏连蛋白和 AKT/mTOR/EMT 信号通路, 同时下调基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 抑制 VEGF 的表达<sup>[74]</sup>, 并减少上皮-间充质转化, 触发抗 VM 和抗 EDV。该实验运用了 SKOV3-Luc 卵巢癌细胞模型。相比于传统的抗 EDV 药物, VE-CDDP-Pro 整合了 CDDP 对卵巢癌细胞的抗增殖作用和 VE 纳米粒诱导的抗 EDV 和 VM 能力, 并通过 Pro 改善细胞摄取, 将纳米粒精准递送到肿瘤组织, 显著增加了药物在肿瘤中的积累, 具有良好的肿瘤靶向性、细胞内化能力, 能

效抑制恶性卵巢癌肿瘤细胞的生长和转移。

## 1.6 外泌体靶向纳米递药系统

肿瘤细胞比正常细胞的代谢更旺盛, 即使在氧气充足条件下, 也主要是靠相对低效的糖酵解形式获取能量, 而不是高效的氧化磷酸化, 所以为了快速增殖, 肿瘤细胞会消耗大量葡萄糖<sup>[75]</sup>。因此, 肿瘤细胞的糖代谢重编程能力是其区别于正常细胞的特征之一。肿瘤细胞可通过分泌携带 miRNA 的细胞外囊泡 (extracellular vesicle, EV), 减少糖酵解途径中的关键酶, 即丙酮酸激酶, 抑制转移前 TME 中非肿瘤细胞葡萄糖的摄取, 有效地将 TME 内的细胞代谢重新编程<sup>[76]</sup>。EV 最初被认为是转移细胞代谢废物的载体, 现在被证明能在细胞微环境中发挥多种作用, 因其能携带多种物质, 包括脂质、蛋白质、核酸和代谢废物等, 所运载的货物取决于母细胞的类型<sup>[77]</sup>。一般来说, EV 包括外泌体和微囊泡, 其组成、大小和产生的机制各不相同, 30~100 nm 的直径可涵盖各种细胞产生的外泌体大小的典型范围<sup>[78]</sup>。外泌体在细胞间信号传导和调节细胞微环境中发挥着关键作用, 作为细胞释放的天然纳米载体, 其具有天然磷脂双分子层结构、稳定性强且生物相容性较好, 可通过靶向至肿瘤细胞来提高治疗效果, 同时最大限度减少对机体的不良反应, 因此, 外泌体有望成为有效的药物输送载体<sup>[79]</sup>。外泌体也被证明可通过受体介导的途径主动靶向至特定细胞, 即在载药外泌体表面设计的配体可将外泌体引导至相应细胞表面过度表达的生物标志物目标位点<sup>[80,81]</sup>。

EV 已被证明能通过携带各种蛋白质和核酸来参与肿瘤转移过程<sup>[82]</sup>。肿瘤细胞在低氧 TME 中通过肿瘤衍生外泌体 (tumor-derived exosomes, TDEs) 介导细胞间通信, 为肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移提供了有利条件。TDEs 能向肿瘤细胞和基质细胞提供信号, 促进 TME 内的肿瘤发展。因此, 外泌体被认为是调节 TME 的关键信号介质, TDEs 在抗癌治疗中具有重要意义<sup>[83]</sup>。TDEs 不仅可作为药物递送的载体, 还可作为治疗的靶点。此外, 由于其携带的各种货物, TDEs 也可被用作癌症诊断和预后的生物标志物<sup>[84]</sup>。

免疫细胞衍生的外泌体在免疫调节中发挥重要作用, 如巨噬细胞衍生的 EV 可激活免疫系统, 促进肿瘤免疫反应<sup>[85]</sup>。肿瘤细胞通常会过度表达 CD47, 通过与巨噬细胞上表达的信号调节蛋白 (signal-regulatory protein alpha, SIRP  $\alpha$ ) 结合, 抑制巨噬细胞的吞噬作用<sup>[86]</sup>。Nie 等<sup>[87]</sup>开发了一种响应性外泌体纳米生物偶联物, 将二苯并环辛炔 (dibenzocyclooctyne, DBCO) 修饰的抗 CD47 抗体 (anti-CD47 antibody, aCD47) 和抗信号调节蛋白  $\alpha$  抗体 (anti-SIRP  $\alpha$  antibody, aSIRP  $\alpha$ ) 通

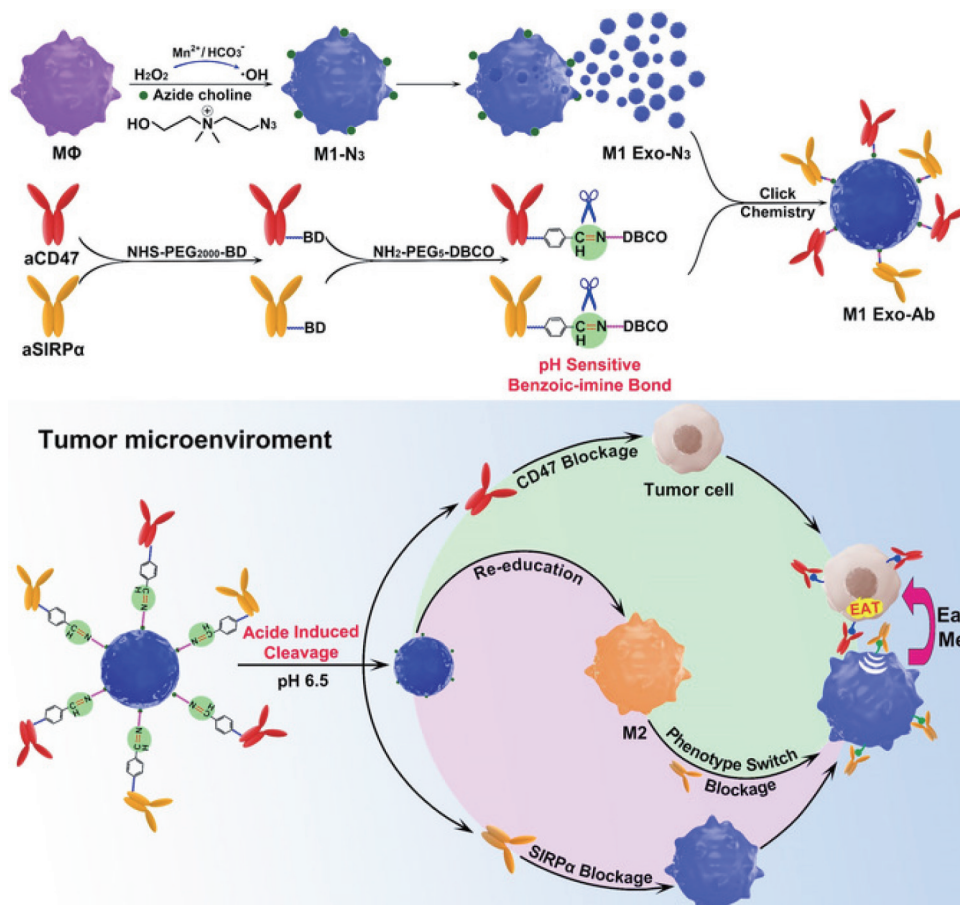
过 pH 敏感的苯甲酸亚胺键连接到叠氮化物修饰的 M1 TAMs 外泌体 (M1 macrophage exosomes, M1 Exo) 上 (图 4)。通过 aCD47 的靶向能力, 纳米生物偶联物可在肿瘤细胞中有效积累, 在酸性 TME 中, 苯甲酸亚胺键被裂解, 释放出两种抗体, 分别与巨噬细胞上的抑制性受体 SIRP  $\alpha$  和肿瘤细胞上的 CD47 结合, 从而增强巨噬细胞的吞噬作用。同时, M1 Exo 可将 M2 TAMs 重编程, 让促肿瘤的 M2 TAMs 重新被诱导为抗肿瘤 M1 TAMs, 这种重编程能力在与抗体偶联后不会受到影响。此协同作用产生了有效抗癌作用, 且不良反应较小。DCs 是 TME 中启动并调节先天性和适应性免疫的核心, 具有呈递肿瘤相关抗原的能力, 因此将抗原和免疫佐剂靶向递送至 DCs 是开发肿瘤疫苗的重要思路与方法<sup>[88]</sup>。Huang 等<sup>[89]</sup>合成了一种原位 DCs 疫苗 (HELA-Exos), 将免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD) 诱导剂—中性粒细胞弹性蛋白酶 (ELANE) 和 TLR3 激动剂 (hiltonol) 加载到  $\alpha$ -乳白蛋白 ( $\alpha$ -LA) 工程化的乳腺癌细胞衍生的外泌体上, 共同用于治疗乳腺癌。HELA-Exos 通过激活 I 型常规

DCs, 引发 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应, 增强了三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 细胞的免疫原性, 在小鼠 TNBC 模型和乳腺癌患者衍生的肿瘤类器官中表现出强大的抗肿瘤活性。除了乳腺癌, 向肿瘤细胞递送 ICD 诱导剂和可控佐剂的治疗方法可扩展到各种类型的癌症。

外泌体不仅是癌症治疗药物递送新载体, 也是治疗的新靶点, 许多临床前研究<sup>[90,91]</sup>都证明了外泌体在 TME 中的重要作用。重视开发基于外泌体的抗肿瘤治疗策略是十分必要的。

### 1.7 微生物群调节型纳米递药系统

正常人体内存在超过 100 万亿个细菌<sup>[92]</sup>, 组成了人体微生物群, 其中约 97% 为结肠内细菌, 约 2%~3% 为结肠外细菌, 分布于近端肠道、皮肤和肺部等, 约 0.1%~1% 为古生菌和真核生物<sup>[93,94]</sup>。人体微生物系统的组成与癌症风险密切相关<sup>[95]</sup>。越来越多的证据表明, 有一类重要的“共谋”微生物会促进致癌作用, 但不足以导致癌症<sup>[96-103]</sup>。位于肿瘤部位的微生物群系及其具有生物活性的代谢产物在肿瘤的产生和发展中发挥



**Figure 4** Schematic of Mn<sup>2+</sup> induced M1 macrophages polarization and the synergistic anticancer effect of M1 macrophage exosomes (M1 Exo) engineered with anti-CD47 antibody (aCD47) and anti-signal-regulatory protein alpha antibody (aSIRP $\alpha$ ). Adapted from Ref. 87 with permission. Copyright © 2019 Angewandte Chemie

着许多免疫调节功能,并可能通过肿瘤间质反馈回路、炎症或功能失调的免疫监视系统促进癌症进展<sup>[104]</sup>。例如,*Kras*基因突变和*p53*基因缺失无法在无菌或接受过抗生素治疗的小鼠体内导致肺癌产生,共生肺部微生物群促进 $\gamma\delta$ T细胞的增殖和激活,后者通过在局部释放白细胞介素IL-17和IL-23来推动促癌炎症的产生。不同的肿瘤类型具有不同的微生物组成,微生物的遗传异质性可能可为癌症的诊断和肿瘤的定位提供机会。Nejman等<sup>[105]</sup>证明了肿瘤组织内的细菌主要存在于癌细胞和免疫细胞胞内。迄今为止通过修饰的减毒型、营养缺陷型和诱导型的大肠杆菌、双歧杆菌、李斯特氏菌、志贺氏菌、梭状芽孢杆菌、乳球菌、弧菌和沙门氏菌已被设计出来,并在静脉给药、瘤内给药和口服给药3种途径中显示出了抗肿瘤效果<sup>[106]</sup>。Din等<sup>[107]</sup>通过实验将非致病性大肠杆菌和沙门氏菌改造为工程菌,以实验所需周期为间隔向TME中释放趋化因子、溶血素和促凋亡蛋白。Chowdhury等<sup>[108]</sup>使用被编程以生长-死亡-再生的细菌种群来循环递送药物,设计出针对性生产和释放CD47抗体片段的纳米粒,肿瘤可表达抗体来抑制DC吞噬作用,同时此过程刺激了CD8<sup>+</sup>T细胞反应,进一步阻止肿瘤细胞转移,还能使远端未注射的肿瘤退化,具有良好的抗肿瘤效果。

目前对于肿瘤部位微生物群的研究存在争议,针对肿瘤微生物群的临床观察和临床干预仍存在较大空缺,且抗生素的使用可能会对诊断或靶向肿瘤部位特异微生物群的治疗造成干扰。同时,在实验过程中还存在很多关键问题,如细菌污染、药物毒性、不可重复性等仍是要面对的挑战,但利用微生物群作为癌症治疗靶点是未来治疗癌症的一个重要方向。

## 2 总结与展望

目前的基于TME调控的靶向纳米递药系统主要包括CSCs、CAFs、免疫细胞、ECM、肿瘤血管系统、外泌体、微生物群等(表1<sup>[15,17,23,24,28,37,50,51,64,66,72,87,89,107,108]</sup>)。

CSCs具有耐药性,可经各种机制避免被传统治疗途径灭杀,使肿瘤转移、复发、形成继发性肿瘤。纳米技术介导的药物递送系统可提高对CSCs的杀伤力,有效根除肿瘤,并降低不良反应。抑制CAFs,可有效重塑TME,可通过纳米复合物递送药物,药物经CAFs内化可有效抑制其纤维化,或抑制癌细胞产生外泌体,阻止纤维化进展。肿瘤组织具有低免疫原性,且TME中存在大量抑制免疫因素,因此抗肿瘤效应受限。使用纳米技术介导的递药系统可增强免疫刺激性细胞的能力,规避免疫抑制性细胞对免疫调节的不利影响。靶向TME ECM中的透明质酸或胶原蛋白是一种肿瘤治疗的有效手段,通过靶向ECM中的透明质酸或胶原蛋

白,可强化药物渗透与扩散,从而提高肿瘤治疗效果。经传统治疗方式给药后,肿瘤可通过重建血管的方式复发,因此可通过抗血管生成的方法重塑TME,利用纳米递药系统破坏肿瘤血管内皮,阻断对肿瘤营养供应,该方法不良反应小,安全性好。除上述调控策略外,外泌体作为调节TME的关键信号介质,可作为癌症治疗药物递送载体及治疗新靶点,是癌症诊断和预后的良好生物标志物。微生物菌群微生态的失调会增加肿瘤发生的机率,恢复健康微生物群可作为一种免疫治疗的新形式,通过纳米递药系统可将药物靶向递送至生物菌群栖息的黏膜层中,有效抑制生物菌群微生态的失调。

综上所述,各种靶向调控策略虽较传统治疗方式治疗效果更好,不良反应更小,但其针对性更强,并不能很好地适用于所有的肿瘤治疗及所有的患者,普适性较差。并且,大部分治疗策略仍处于研究中,缺乏完善可行的治疗方案,操作难度较高,仍需进一步研究完善。

纳米技术能改善传统给药方式带来的药物在体内分布无选择性的弊端,提高药物在局部肿瘤组织中的药物浓度,并有助于提高细胞内化能力,增强抗肿瘤效果,抑制肿瘤细胞转移,有效防止肿瘤复发,同时减轻药物的不良反应,提高安全性,为临床抗肿瘤的治疗提供了新思路<sup>[109]</sup>。

然而,就现阶段纳米技术发展水平而言,制备高效的纳米递药系统并将其投入临床治疗并获得广泛应用仍要面对多方面挑战。患者体质存在差异,需提供个性化的治疗方案。而TME是一个机制完整且构造复杂的系统,对于其中各组分之间的相互作用机制把控还不全面,这为将不同作用效果的药物分子锚定在单一纳米载体中带来困难。因此,还需深入探究纳米材料与不同生物体间的相互作用。此外,纳米递药系统也存在设计复杂、理化性质不稳定、质量控制不理想,难以实现工业化大生产等问题,都限制了纳米技术广泛应用于临床肿瘤治疗。但相信随着材料学、生物学及相关衍生学科的发展,基于多功能纳米技术的TME靶向及重塑策略有望为抗肿瘤治疗开拓出一个极具光明及应用前景的新型治疗方式。

**作者贡献:**李菁负责构思文章框架并进行文章总体整理;潘婷负责文献汇总及文章撰写;赵思垚负责信息整理及表格汇总;陈晓晴负责构思作图及文章撰写;尹昊天、吉小焯、吴玗璠负责文献调研并参与文章撰写;王伟负责文章指导、修改及审校。

**利益冲突:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**Table 1** Summary of various nanostructures to deliver therapeutic agents target TME for anti-tumor therapy. CTX: Chlorotoxin; GBMs: Glioblastomas; GSCs: Glioblastomas stem-like cells; TMZ: Temozolomide; ATRA: All-*trans*-retinoic acid; CPT: Camptothecin; GEM: Gemcitabine; CQ: Chloroquine phosphate; MMP-2: Matrix Metalloproteinase 2; MCT: Macitentan; OVA: Ovalbumin; DCs: Dendritic cells; IRF5: Interferon regulatory factor 5; IKK $\beta$ : Inhibitor of kappa B kinase  $\beta$ ; EPI: Epirubicin; HAase: Hyaluronidase; PD-L1: Programmed cell death protein 1; PM: Platelet membrane; CA4: Combretastatin A4; Apa: Apatinib; VEGFR-2: Vascular endothelial growth factor receptor-2; T4: NLLMAAS; Tie2: Tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology-2; ANG: Angiopoietin; cRGD: Cyclic RGD peptide; VE: cRGD-folate-heparin nanoparticles; DDP: Cisplatin; Pro: Protamine; SKOV3-Luc: SKOV3-luciferase; VEGF: Vascular endothelial growth factor; ELANE: Neutrophil elastase; cDC1s: Type one conventional DCs; TNBC: Triple-negative breast cancer; SLC: Solute carriers; eSLC-CD47nb: Synchronized lysis circuit CD47 nanobody; EDV: Endothelium-dependent vessel; VM: Vasculogenic mimicry

Targeting type	Type of nanostructures	Active drug	Tumor model	Therapeutic efficacy	Ref.
Cancer stem cells	Iron oxide nanoparticle	CTX and siMGMT	Glioblastomas	Enhance the killing effect of drug-resistant GBMs and GSCs as compared to TMZ alone, significantly extend the survival of mice bearing GBM6 orthotopic xenografts	[15]
	Micelle	ATRA and CPT	MCF-7 breast cancer	Reduce stemness-related drug resistance, enhance the chemotherapeutic response, suppress the tumor growth and metastasis	[17]
Fibroblasts	Micelle	GEM and CQ	Pancreatic cancer	Suppress tumor fibrosis and down-regulate MMP-2 by inhibiting autophagy, inhibit tumor growth and metastasis, reshape TME and enhance the effect of chemotherapy	[23]
	Dendrimer	MCT	4T1 breast cancer	Inhibit the production of exosomes produced by cancer cells, regulate the distribution of T cell subsets in TME, and prevent the progression of fibrosis	[24]
Immune regulation	-	OVA and $\alpha$ -CD40 antibody	B16 melanoma	Better harnessing the immunizing functions of DCs, antibody-mediated antigen targeting <i>via</i> the DEC-205 receptor increases the efficiency of vaccination for T cell immunity	[28]
	Polymer	IRF5 and IKK $\beta$	Ovarian cancer, melanoma, and glioblastoma	Reverse the immunosuppressive microenvironment and transform tumor-associated macrophages into anti-tumor M1 subtypes	[37]
Extracellular matrix	Micelle	EPI and HAase	HepG2 hepatoma carcinoma	Show a better accumulation and deeper tumor penetration in HepG2 tumors, inhibit tumor proliferation with minor side effects	[50]
	-	Bintrafusp alfa, NC410 and PD-L1	Colon and breast cancer	Remould the tumor collagen matrix, enhances tumor infiltration and activation of CD8 <sup>+</sup> T cells, realize macrophage repolarization, and achieves high cure rate and long-term tumor specific protection	[51]
Anti-angiogenesis	Silica nanoparticle	PM, CA4 and Apa	MHCC-97H liver cancer	Damage the tumor vascular endothelium to interfere with the interaction between VEGFR-2 and its receptor, thereby inhibiting tumor angiogenesis and expansion	[64]
	Polymeric nanoparticle	T4	4T1 breast cancer	Expand in acidic TME, and then release T4 on macrophages and endothelial cells to interact with Tie2 and ANG/Tie2 signaling pathway, thereby inhibiting angiogenesis and tumor cell migration	[66]
	Self-assembled VE-DDP-Pro nanoparticle	DDP, cRGD peptide and folate	SKOV3-Luc ovarian cancer	Bind to integrin $\alpha$ v $\beta$ 3 or $\alpha$ 5 $\beta$ 1 to reduce MMP-2/VEGF expression and epithelial-mesenchymal transformation, resulting in a self-resistant EDV and VM capacity	[72]
Exosomes	Exosome	aCD47 and aSIRP $\alpha$	4T1 breast cancer	Repolarize the pro-tumoral M2 to anti-tumoral M1, inhibit tumor growth	[87]
	Exosome	ELANE and hiltonol	MDA-MB-231 breast cancer	Promote the activation of cDC1s, improve the tumor-reactive CD8 <sup>+</sup> T cell responses, enhance the immunogenicity of TNBC cells, inhibit tumor growth	[89]
Microbiota	-	SLC strain	HeLa cervical cancer	Lead to a notable reduction of tumor activity	[107]
	-	eSLC-CD47nb	A20 B cell lymphoma cancer, 4T1 breast cancer, B16-F10 melanoma	Prevent the metastasis of tumor cells and degenerate the distal uninjected tumors	[108]

## References

- [1] Maman S, Witz IP. A history of exploring cancer in context [J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18: 359-376.
- [2] Zhao C, Wu M, Zeng N, et al. Cancer-associated adipocytes: emerging supporters in breast cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39: 156.
- [3] Chen F, Zhuang XQ, Lin LY, et al. New horizons in tumor micro-environment biology: challenges and opportunities [J]. BMC Med, 2015, 13: 13.
- [4] Guo S, Deng CX. Effect of stromal cells in tumor microenvironment

- on metastasis initiation [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14: 2083-2093.
- [5] Zhang L, Hao P, Yang D, et al. Designing nanoparticles with improved tumor penetration: surface properties from the molecular architecture viewpoint [J]. *J Mater Chem B*, 2019, 7: 953-964.
- [6] Li J, Burgess DJ. Nanomedicine-based drug delivery towards tumor biological and immunological microenvironment [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 2110-2124.
- [7] Roma-rodrigues C, Mendes R, Baptista PV, et al. Targeting tumor microenvironment for cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 31.
- [8] Gao S, Yang DJ, Fang Y, et al. Engineering nanoparticles for targeted remodeling of the tumor microenvironment to improve cancer immunotherapy [J]. *Theranostics*, 2019, 9: 126-151.
- [9] Cao Z, Weygant N, Chandrakesan P, et al. Tuft and cancer stem cell marker DCLK1: a new target to enhance anti-tumor immunity in the tumor microenvironment [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 3801.
- [10] Das M, Law S. Role of tumor microenvironment in cancer stem cell chemoresistance and recurrence [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 103: 115-124.
- [11] Bao S, Wu Q, Mclendon RE, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response [J]. *Nature*, 2006, 444: 756-760.
- [12] Massague J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells [J]. *Nature*, 2016, 529: 298-306.
- [13] Gilbertson RJ. Driving glioblastoma to drink [J]. *Cell*, 2014, 157: 289-290.
- [14] Quinn JA, Jiang SX, Reardon DA, et al. Phase II trial of temozolomide plus O<sup>6</sup>-benzylguanine in adults with recurrent, temozolomide-resistant malignant glioma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27: 1262-1267.
- [15] Wang K, Kievit FM, Chiarelli PA, et al. siRNA nanoparticle suppresses drug-resistant gene and prolongs survival in an orthotopic glioblastoma xenograft mouse model [J]. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2007166.
- [16] Cohen G, Burks SR, Frank JA. Chlorotoxin-a multimodal imaging platform for targeting glioma tumors [J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10: 496.
- [17] Shen S, Xu X, Lin S, et al. A nanotherapeutic strategy to overcome chemotherapeutic resistance of cancer stem-like cells [J]. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16: 104-113.
- [18] Truffi M, Mazzucchelli S, Bonizzi A, et al. Nano-strategies to target breast cancer-associated fibroblasts: rearranging the tumor microenvironment to achieve antitumor efficacy [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1263.
- [19] Buchsbaum RJ, Oh SY. Breast cancer-associated fibroblasts: where we are and where we need to go [J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8: 19.
- [20] Zhang J, Zuo T, Yang J, et al. Hierarchically releasing bio-responsive nanoparticles for complete tumor microenvironment modulation *via* TGF-beta pathway inhibition and TAF reduction [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 2256-2268.
- [21] Chen Y, Mcandrews KM, Kalluri R. Clinical and therapeutic relevance of cancer-associated fibroblasts [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18: 792-804.
- [22] Darragh L, Oweida A, Karam S. Overcoming resistance to combination radiation-immunotherapy: a focus on contributing pathways within the tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3154.
- [23] Chen X, Tao Y, He M, et al. Co-delivery of autophagy inhibitor and gemcitabine using a pH-activatable core-shell nanobomb inhibits pancreatic cancer progression and metastasis [J]. *Theranostics*, 2021, 11: 8692-8705.
- [24] Son S, Shin J, Shin S, et al. Repurposing macitentan with nanoparticle modulates tumor microenvironment to potentiate immune checkpoint blockade [J]. *Biomaterials*, 2021, 276: 121058.
- [25] Zhang H, Chen J. Current status and future directions of cancer immunotherapy [J]. *J Cancer*, 2018, 9: 1773-1781.
- [26] Bashyam H. Ralph Steinman: dendritic cells bring home the Lasker [J]. *J Exp Med*, 2007, 204: 2245-2248.
- [27] Kochman S, Bernard J. Antitumor immune response and cancer vaccination: the critical role of dendritic cells [J]. *Curr Med Res Opin*, 1999, 15: 321-326.
- [28] Bonifaz LC, Bonnyay DP, Charalambous A, et al. *In vivo* targeting of antigens to maturing dendritic cells *via* the DEC-205 receptor improves T cell vaccination [J]. *J Exp Med*, 2004, 199: 815-824.
- [29] Van Stipdonk MJ, Lemmens EE, Schoenberger SP. Naïve CTLs require a single brief period of antigenic stimulation for clonal expansion and differentiation [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2: 423-429.
- [30] Xu X, Wang R, Su Q, et al. Expression of Th1- Th2- and Th17-associated cytokines in laryngeal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12: 1941-1948.
- [31] Terrén I, Orrantia A, Vitallé J, et al. NK cell metabolism and tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2278.
- [32] Shi L, Wang Y, Wang Q, et al. Transforming a toxic drug into an efficacious nanomedicine using a lipoprodrug strategy for the treatment of patient-derived melanoma xenografts [J]. *J Control Release*, 2020, 324: 289-302.
- [33] Chretien AS, Le Roy A, Vey N, et al. Cancer-induced alterations of NK-mediated target recognition: current and investigational pharmacological strategies aiming at restoring NK-mediated anti-tumor activity [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 122.
- [34] Zhu Y, Yu X, Thamphiwatana SD, et al. Nanomedicines modulating tumor immunosuppressive cells to enhance cancer immunotherapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 2054-2074.
- [35] Vander Lugt B, Riddell J, Khan AA, et al. Transcriptional deter-

- minants of tolerogenic and immunogenic states during dendritic cell maturation [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216: 779-792.
- [36] Kim KJ, Wen XY, Yang HK, et al. Prognostic implication of M2 macrophages are determined by the proportional balance of tumor associated macrophages and tumor infiltrating lymphocytes in microsatellite-unstable gastric carcinoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0144192.
- [37] Zhang F, Parayath NN, Ene CI, et al. Genetic programming of macrophages to perform anti-tumor functions using targeted mRNA nanocarriers [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 3974.
- [38] Walker C, Mojares E, Del Río Hernández A. Role of extracellular matrix in development and cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3028.
- [39] Tang L, Mei Y, Shen Y, et al. Nanoparticle-mediated targeted drug delivery to remodel tumor microenvironment for cancer therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 5811-5829.
- [40] Senthane DA, Jonker T, Rowe A, et al. The role of tumor microenvironment in chemoresistance: 3D extracellular matrices as accomplices [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 2861.
- [41] Provenzano PP, Inman DR, Eliceiri KW, et al. Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression [J]. *BMC Med*, 2008, 6: 11.
- [42] Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer [J]. *EMBO Rep*, 2014, 15: 1243-1253.
- [43] Nikitovic D, Papoutsidakis A, Karamanos NK, et al. Lumican affects tumor cell functions, tumor-ECM interactions, angiogenesis and inflammatory response [J]. *Matrix Biol*, 2014, 35: 206-214.
- [44] Chakravarthy A, Khan L, Bensler NP, et al. TGF- $\beta$ -associated extracellular matrix genes link cancer-associated fibroblasts to immune evasion and immunotherapy failure [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 4692.
- [45] Gao S, Yang D, Fang Y, et al. Engineering nanoparticles for targeted remodeling of the tumor microenvironment to improve cancer immunotherapy [J]. *Theranostics*, 2019, 9: 126-151.
- [46] Vaday GG, Lider O. Extracellular matrix moieties, cytokines, and enzymes: dynamic effects on immune cell behavior and inflammation [J]. *J Leukoc Biol*, 2000, 67: 149-159.
- [47] Hwang HJ, Oh MS, Lee DW, et al. Multiplex quantitative analysis of stroma-mediated cancer cell invasion, matrix remodeling, and drug response in a 3D co-culture model of pancreatic tumor spheroids and stellate cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38: 258.
- [48] Haider T, Sandha KK, Soni V, et al. Recent advances in tumor microenvironment associated therapeutic strategies and evaluation models [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 116: 111229.
- [49] Fu Y, Zhang X, Liu X, et al. The DNMT1-PAS1-PH20 axis drives breast cancer growth and metastasis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 81.
- [50] Chen E, Han S, Song B, et al. Mechanism investigation of hyaluronidase-combined multistage nanoparticles for solid tumor penetration and antitumor effect [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 6311-6324.
- [51] Horn L, Chariou P, Gameiro S, et al. Remodeling the tumor microenvironment *via* blockade of LAIR-1 and TGF- $\beta$  signaling enables PD-L1-mediated tumor eradication [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132: e155148.
- [52] Carvalheiro T, Garcia S, Pascoal Ramos MI, et al. Leukocyte associated immunoglobulin like receptor 1 regulation and function on monocytes and dendritic cells during inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1793.
- [53] Rygiel TP, Stolte EH, De Ruiter T, et al. Tumor-expressed collagens can modulate immune cell function through the inhibitory collagen receptor LAIR-1 [J]. *Mol Immunol*, 2011, 49: 402-406.
- [54] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis [J]. *Cell*, 1996, 86: 353-364.
- [55] Siemann DW. The unique characteristics of tumor vasculature and preclinical evidence for its selective disruption by tumor-vascular disrupting agents [J]. *Cancer Treat Rev*, 2011, 37: 63-74.
- [56] Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20: 409-426.
- [57] Martin J, Seano G, Jain R. Normalizing function of tumor vessels: progress, opportunities, and challenges [J]. *Ann Rev Physiol*, 2019, 81: 505-534.
- [58] Jain R. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307: 58-62.
- [59] Zhang Y, Ho SH, Li B, et al. Modulating the tumor microenvironment with new therapeutic nanoparticles: a promising paradigm for tumor treatment [J]. *Med Res Rev*, 2020, 40: 1084-1102.
- [60] Duru G, Van Egmond M, Heemskerk N. A window of opportunity: targeting cancer endothelium to enhance immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 584723.
- [61] Zhu D, Li Y, Zhang Z, et al. Recent advances of nanotechnology-based tumor vessel-targeting strategies [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19: 435.
- [62] Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2016, 39: 397-410.
- [63] Hu H, Chen Y, Tan S, et al. The research progress of antiangiogenic therapy, immune therapy and tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 802846.
- [64] Li B, Chu T, Wei J, et al. Platelet-membrane-coated nanoparticles enable vascular disrupting agent combining anti-angiogenic drug for improved tumor vessel impairment [J]. *Nano Lett*, 2021, 21: 2588-2595.
- [65] Zou W, Qian C, Zhang S, et al. Targeting the Ang2/Tie2 axis

- with tanshinone IIA elicits vascular normalization in ischemic injury and colon cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 7037786.
- [66] Zhang L, Qi Y, Min H, et al. Cooperatively responsive peptide nanotherapeutic that regulates angiopoietin receptor Tie2 activity in tumor microenvironment to prevent breast tumor relapse after chemotherapy [J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 5091-5102.
- [67] Wu D, Gao Y, Chen L, et al. Anti-tumor effects of a novel chimeric peptide on S180 and H22 xenografts bearing nude mice [J]. *Peptides*, 2010, 31: 850-864.
- [68] Adessi C, Soto C. Converting a peptide into a drug: strategies to improve stability and bioavailability [J]. *Curr Med Chem*, 2002, 9: 963-978.
- [69] Klibanov A, Maruyama K, Torchilin V, et al. Amphipathic poly-ethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes [J]. *FEBS Lett*, 1990, 268: 235-237.
- [70] Oh N, Oh K, Baik H, et al. A self-organized 3-diethylamino-propyl-bearing glycol chitosan nanogel for tumor acidic pH targeting: *in vitro* evaluation [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 78: 120-126.
- [71] Hendrix M, Seftor E, Seftor R, et al. Tumor cell vascular mimicry: novel targeting opportunity in melanoma [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 159: 83-92.
- [72] Luo J, Zhong X, Peng Y, et al. Self-anti-angiogenesis nanoparticles enhance anti-metastatic-tumor efficacy of chemotherapeutics [J]. *Bioact Mater*, 2022, 13: 179-190.
- [73] Gong M, Wu J, Chen B, et al. Self-assembled polymer/inorganic hybrid nanovesicles for multiple drug delivery to overcome drug resistance in cancer chemotherapy [J]. *Langmuir*, 2015, 31: 5115-5122.
- [74] Altei W, Pachane B, Dos Santos P, et al. Inhibition of  $\alpha v \beta 3$  integrin impairs adhesion and uptake of tumor-derived small extracellular vesicles [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18: 158.
- [75] Luengo A, Gui DY, Vander Heiden MG. Targeting metabolism for cancer therapy [J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24: 1161-1180.
- [76] Fong MY, Zhou W, Liu L, et al. Breast-cancer-secreted miR-122 reprograms glucose metabolism in premetastatic niche to promote metastasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17: 183-194.
- [77] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go [J]. *Cell*, 2016, 164: 1226-1232.
- [78] Meng W, Hao Y, He C, et al. Exosome-orchestrated hypoxic tumor microenvironment [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18: 57.
- [79] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871: 455-468.
- [80] Nam G, Choi Y, Kim G, et al. Emerging prospects of exosomes for cancer treatment: from conventional therapy to immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2020, 32: e2002440.
- [81] Tran P, Xiang D, Tran T, et al. Exosomes and nanoengineering: a match made for precision therapeutics [J]. *Adv Mater*, 2020, 32: e1904040.
- [82] Walker S, Busatto S, Pham A, et al. Extracellular vesicle-based drug delivery systems for cancer treatment [J]. *Theranostics*, 2019, 9: 8001-8017.
- [83] Kok VC, Yu CC. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 8019-8036.
- [84] Tai YL, Chen KC, Hsieh JT, et al. Exosomes in cancer development and clinical applications [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109: 2364-2374.
- [85] Veerman RE, Gucluler Akpinar G, Eldh M, et al. Immune cell-derived extracellular vesicles - functions and therapeutic applications [J]. *Trends Mol Med*, 2019, 25: 382-394.
- [86] Chao MP, Weissman IL, Majeti R. The CD47-SIRP $\alpha$  pathway in cancer immune evasion and potential therapeutic implications [J]. *Curr Opin Immunol*, 2012, 24: 225-232.
- [87] Nie W, Wu G, Zhang J, et al. Responsive exosome nano-bioconjugates for synergistic cancer therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59: 2018-2022.
- [88] Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy *via* dendritic cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 265-277.
- [89] Huang L, Rong Y, Tang X, et al. Engineered exosomes as an *in situ* DC-primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21: 45.
- [90] Chen H, Chengalvala V, Hu H, et al. Tumor-derived exosomes: nanovesicles made by cancer cells to promote cancer metastasis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 2136-2149.
- [91] Liu J, Ren L, Li S, et al. The biology, function, and applications of exosomes in cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 2783-2797.
- [92] Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project [J]. *Nature*, 2019, 569: 641-648.
- [93] Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body [J]. *PLoS Biol*, 2016, 14: e1002533.
- [94] Almeida A, Mitchell AL, Boland M, et al. A new genomic blueprint of the human gut microbiota [J]. *Nature*, 2019, 568: 499-504.
- [95] Routy B, Gopalakrishnan V, Daillère R, et al. The gut microbiota influences anticancer immunosurveillance and general health [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 382-396.
- [96] Aykut B, Pushalkar S, Chen R, et al. The fungal mycobiome promotes pancreatic oncogenesis *via* activation of MBL [J]. *Nature*, 2019, 574: 264-267.
- [97] Dejea CM, Fathi P, Craig JM, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria [J]. *Science*, 2018, 359: 592-597.
- [98] Jin C, Lagoudas GK, Zhao C, et al. Commensal microbiota pro-

- mote lung cancer development *via* gammadelta T cells [J]. Cell, 2019, 176: 998-1013.e16.
- [99] Kadosh E, Snir-alkalay I, Venkatachalam A, et al. The gut microbiome switches mutant p53 from tumour-suppressive to oncogenic [J]. Nature, 2020, 586: 133-138.
- [100] Le Noci V, Guglielmetti S, Arioli S, et al. Modulation of pulmonary microbiota by antibiotic or probiotic aerosol therapy: a strategy to promote immunosurveillance against lung metastases [J]. Cell Rep, 2018, 24: 3528-3538.
- [101] Ma C, Han M, Heinrich B, et al. Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer *via* NKT cells [J]. Science, 2018, 360: eaan5931.
- [102] Sepich-poore GD, Zitvogel L, Straussman R, et al. The microbiome and human cancer [J]. Science, 2021, 371: eabc4552.
- [103] Tsay JJ, Wu BG, Sulaiman I, et al. Lower airway dysbiosis affects lung cancer progression [J]. Cancer Discov, 2021, 11: 293-307.
- [104] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144: 646-674.
- [105] Nejman D, Livyatan I, Fuks G, et al. The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria [J]. Science, 2020, 368: 973-980.
- [106] Kramer MG, Masner M, Ferreira FA, et al. Bacterial therapy of cancer: promises, limitations, and insights for future directions [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 16.
- [107] Din MO, Danino T, Prindle A, et al. Synchronized cycles of bacterial lysis for *in vivo* delivery [J]. Nature, 2016, 536: 81-85.
- [108] Chowdhury S, Castro S, Coker C, et al. Programmable bacteria induce durable tumor regression and systemic antitumor immunity [J]. Nat Med, 2019, 25: 1057-1063.
- [109] Yang MM, Han SP, Qin C, et al. Strategies for targeting and remodeling tumor microenvironment [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 98-108.