

综 述

免疫佐剂在肿瘤免疫疗法中的应用进展*

钱颖 钱晨 白晓庆 王晶晶**

(南京中医药大学药学院 南京 210023)

摘要 免疫疗法是预防和治疗疾病的有效手段之一。近年来,肿瘤免疫疗法已成为一种新型治疗方法,相关肿瘤疫苗已在多种肿瘤的治疗中被证明有效。然而,在肿瘤疫苗的设计中,肿瘤抗原免疫原性弱、应答率低等问题是目前面对的一大挑战,佐剂的加入为问题的解决提供了一种新的方法和思路。免疫佐剂在提高肿瘤抗原免疫原性、激活机体适应性免疫应答等方面起着十分重要的作用。为了解近几年免疫佐剂的发展及其研究现状,针对目前常用的抗肿瘤佐剂进行综述,并总结了其对免疫系统的作用机制,为后续的疫苗设计策略提供帮助。

关键词 佐剂 肿瘤疫苗 免疫应答

中图分类号 Q5

肿瘤免疫疗法是一种新兴的癌症治疗方式。随着单克隆抗体(mAbs)免疫检查点抑制剂PD-1/PD-L1和CTLA-4在临床试验中取得了成功的结果,癌症免疫疗法逐渐被应用于临床治疗中^[1-2]。

肿瘤疫苗是免疫疗法的一种,其根据来源可分为肿瘤细胞疫苗、DNA疫苗、肿瘤特异性抗原疫苗、多肽疫苗等^[3]。肿瘤抗原能够激活患者的免疫系统,使免疫细胞识别和消除不受控制的肿瘤细胞^[4],可有效防止肿瘤细胞免疫逃避,在抑制癌症转移和复发方面有很大的潜力^[5-6]。研究发现,抗原多肽可以直接与MHC I类分子结合,促进CD8⁺T细胞增殖,诱导CTL反应;部分抗原多肽还可被DC细胞摄取,通过MHC II途径激活CD4⁺T细胞,起到辅助杀伤肿瘤的作用^[7]。尽管这些策略已在多种肿瘤上被证明有效,但仍存在总体响应率低的问题^[8]。

肿瘤疫苗通常由肿瘤抗原和免疫佐剂组成。佐剂作为提高机体对抗原适应性免疫应答的物质,可弥补肿瘤抗原免疫原性弱的问题,增强肿瘤抗原的免疫应答^[9],并且能有效避免未成熟的抗原提呈细胞(APCs)与抗原接触后诱导产生的免疫耐受^[10],提高肿瘤疫苗

的免疫治疗效率。在过去的几十年里,佐剂在肿瘤免疫治疗方面得到了飞速的发展,除传统铝盐佐剂外,模式识别受体(PRRs)类激动剂(如Toll样受体激动剂、C型凝集素受体激动剂)、聚合物材料、多肽等新型佐剂均被发现有良好的免疫激活作用。本文针对近年来出现的常用免疫佐剂进行综述,希望为以后的疫苗设计提供参考。

1 PRRs 免疫佐剂

PRRs是在天然免疫细胞中表达的重要共刺激分子,在介导天然免疫中起着重要作用。PRRs是由细菌编码的宿主传感器,用于识别病原体相关分子模式受体(PAMPs)和其他引发无菌炎症的生物分子。这些受体能启动天然免疫信号通路,导致促炎症细胞因子的产生,进而引导适应性免疫应答^[11]。许多天然或合成的PRR激动剂可作为免疫刺激剂,结合肿瘤相关抗原或肿瘤特异性新抗原用于癌症疫苗的设计,而PRR激动剂本身也可作为抗原来源激活体内免疫反应^[12-13]。

1.1 TLRs 依赖性佐剂

Toll样受体(TLRs)是一种位于细胞外表面和核内室的跨膜蛋白,通常在APCs如树突状细胞(DC)和巨噬细胞中表达,是调节宿主固有和适应性免疫应答重

收稿日期:2019-06-13 修回日期:2019-10-10

* 江苏高校优势学科建设工程(PAPD)资助项目

**通讯作者,电子邮箱:jingjingwang123456@163.com

要的病原感受器, PAMPs 如脂多糖(LPS)、胞嘧啶磷酸鸟嘌呤二核苷酸(CpG)等基序被 TLRs 识别后, 可有效激活免疫系统^[14]。在庞大的 TLRs 家族体系中, TLR3、TLR4、TLR7、TLR8、TLR9 是常见的抗肿瘤免疫激动剂作用受体^[15], 识别后会导致 TRIF、MyD88 依赖的信号转导, 激活免疫系统。

1.1.1 TLR3 激动剂: Poly I:C Poly I:C 是由聚肌苷酸和聚胞苷酸通过碱基配对形成的双链 RNA(dsRNA), 在人和小鼠的免疫治疗中已有较长时间的应用^[16]。它能通过上调 dsRNA 识别受体 TLR3 和细胞质核糖核酸解旋酶(RLR), 诱导产生天然免疫^[17]。体外研究显示, Poly I:C 还能直接诱导表达 TLR3 的肿瘤细胞(如乳腺癌、肝癌等)自身发生凋亡, 进而抑制肿瘤生长^[18]。Azuma 等^[19]用 Poly I:C 免疫治疗 WT1-C1498/OVA-EG7 肿瘤小鼠, 结果发现 Poly I:C 能通过靶向 DC 中的 TLR3 和含 IL-1R 同源结构域的适配器分子 1(TICAM-1)通路促进肿瘤 T 细胞的增殖和迁移, 并通过上调 CXCR3 配体, 增加对肿瘤细胞毒性 T 细胞的募集, 有助于抗肿瘤反应的发生。目前, 微作修饰的 TLR3 激动剂(如 Poly-ICLC)已在癌症治疗的近期研究中作为单一疗法或组合疗法进行了研究^[20]。

1.1.2 TLR7/8 激动剂 TLR7/8 激动剂已被证明在癌症免疫治疗中具有显著活性, 在黑色素瘤小鼠瘤内注射 MEDI9197(一种 TLR7/8 激动剂)可产生全身抗肿瘤免疫, 增强抗-CTLA-4 和抗-PD-L1 单克隆抗体的治疗效果^[21]。TLR7 和 TLR8 均在内小体中表达, 并通过 MyD88 依赖的信号转导发挥作用, 两者皆可被富含鸟嘌呤和尿嘧啶的病毒单链 RNA(ssRNA)天然激动剂激活。然而, 由于 ssRNA 易被胞外核糖核酸酶(RNases)快速降解, 因此在不进行修饰或制剂的情况下, ssRNA 难以直接作为佐剂进行使用^[22]。研究发现, 最初被开发为 I 型干扰素诱导剂的合成化合物咪喹莫特(R837)和瑞奎莫特(R848)可成功激活 TLR7 和 TLR8 受体, 是很好的 TLR7/8 受体激动剂。近期有研究表明, 通过对 R837 和 R848 进行制剂改善可有效提高识别能力, 更好的靶向细胞内发挥免疫激动的功能^[23]。例如, Rodell 等^[24]研制了一种用于静脉注射 R848 的 β -环糊精纳米粒子(CDNP-R848)。在水相反应条件下, L-赖氨酸与琥珀酰- β -环糊精通过酰胺键连接合成了 CDNPs, 并通过 R848 与 β -环糊精的相互作用将 R848 负载到 NPs 中。在多种临床前肿瘤模型中检测 CDNP-R848, 使肿瘤微环境中的巨噬细胞向 M1 表型倾斜, 有利于抗肿瘤

反应。

1.1.3 TLR9 激动剂: CpG ODNs CpG 寡脱氧核苷酸(CpG ODNs)是人工合成的非甲基化 CpG 基序, 能刺激激活 TLR9 依赖的固有免疫应答^[25]。在抗肿瘤免疫治疗中, CpG ODNs 不仅能促进 Th1、促炎细胞因子、趋化因子的产生, 增强体内免疫应答, 还能刺激 APCs 的成熟和活化, 改善抗原提呈功能^[26]。无论在体内实验还是在体外实验中, CpG ODNs 均可通过不同途径在肿瘤部位产生积聚效应, 对肿瘤生长有良好的抑制作用。Sato 等^[27]探讨了 CpG 对非小细胞肺癌的治疗效果, 结果显示, CpG 在肺部肿瘤部位有良好的滞留和聚集效果, 并可通过诱导强有效的 Th1 反应, 减少免疫抑制 Tregs 细胞以及增加 CD8⁺ T 细胞和 M1 型巨噬细胞数量等途径逆转肿瘤微环境的免疫抑制作用, 诱导肿瘤细胞毒性 T 淋巴细胞(CTLs)反应, 促进肿瘤消退, 使肿瘤小鼠的存活率达到 82%^[28]。另外, CpG ODN 还可联合不完全弗氏佐剂、明矾等其他佐剂, 研发同时诱导 Th1 和 Th2 混合反应的组合佐剂^[28], 在黑色素瘤模型中, 混合佐剂诱导的抗原特异性 CD8⁺ T 细胞数量明显增加, 疗效优于单佐剂疫苗^[29]。

1.1.4 TLR4 激动剂: 脂多糖 细菌脂多糖(LPS)长期以来被公认为一种有效的免疫佐剂, 但由于其热活性问题难以直接作为人用佐剂使用。为降低脂多糖在使用时的安全问题, 目前应用较多的为 LPS 的水解脱毒衍生物单磷酸脂质 A(MPL)。LPS 和 MPL 均可被 TLR4 特异性识别, 但 MPL 仅通过 TRIF 适配器导致信号转导, 而 LPS 通过 TRIF 和 MyD88 途径导致 TLR4 激活, 后者可导致许多炎性细胞因子如 TNF- α 等显著表达, 这也是 MPL 低毒性的原因^[30]。由 MPL 和铝盐组成的 AS04 现已成为 HBV 和乳头状瘤疫苗的组成部分, 其安全性和有效性均已被证明^[31]。

1.2 CLR 依赖性佐剂

CLRs 是定位在质膜上的大型跨膜受体, 它以钙依赖的方式与微生物细胞表面表达的甘露糖、岩藻糖、糖聚糖等受体结合^[16], 有利于 Th1 和 Th17 细胞因子的表达, 促进 CD8⁺ CTL 驱动的免疫应答^[32], 在抗肿瘤方面具有一定的潜力。

甘露糖受体是一种在 APCs 上表达的 PRR, 它识别并锚定在病原体表面表达的甘露糖重复单位上, 对补体系统介导的内吞和微生物吞噬有促进作用。Yang 等^[33]将含 R837 佐剂的纳米粒子包裹在甘露糖修饰的癌细胞膜表面制备了一种免疫疫苗, 其中甘露糖作为

APCs 识别的一部分,有利于纳米粒子与 APCs 的结合和细胞摄取,进一步提高纳米疫苗在淋巴结的保留。岩藻糖可通过清除受体调节、抗血管生成、阻断转移等途径对肿瘤产生抑制作用,并且对机体的适应性免疫应答有一定的免疫刺激作用^[34]。Chiang 等^[35]利用岩藻多糖制备了一种超顺磁性天然治疗纳米粒子,通过激活肿瘤浸润淋巴细胞来修复免疫抑制微环境,诱导 T 细胞活化,在结肠癌模型中,小鼠生存时间与对照组相比延长了 2.48 倍。其他 CLR 类激动剂和拮抗剂如 β -葡聚糖在抗肿瘤方面的作用也有所证明^[36]。

2 合成材料

2.1 铝佐剂

铝盐是第一个被美国食品和药物管理局(FDA)批准的人用免疫佐剂,主要由磷酸铝和氢氧化铝沉淀组成,具有便宜、安全、合成简单的优点。铝佐剂发挥免疫激动作用的机制普遍认为是仓储作用,一方面,抗原可被吸附在高电荷的强氧化铝和磷酸铝凝胶上形成一个长期的抗原库,随后被 APC 识别和摄取;另一方面,铝佐剂可在局部缓慢释放抗原,延长抗原提呈细胞与 T 淋巴细胞相互作用的时间^[37]。巨噬细胞和 DCs 的体外研究表明,铝佐剂可以激活 NLRP3 炎症体,促使溶酶体释放组织蛋白酶 B 到细胞质,在细胞质中该酶定位于 caspase-1 相关的炎症活性位点,诱导产生成熟的 IL-1 β 、IL-18 等炎性细胞因子,引起强烈的 Th2 应答,增强体液免疫^[38]。但是铝佐剂通常难以引导机体产生细胞介导的 Th1 免疫反应,在肿瘤治疗方面,该佐剂的治疗效果并不理想^[39]。因此,提高铝佐剂的效价和刺激 Th1 能力是扩大其应用范围的关键。Liu 等^[40]用 β -葡聚糖颗粒包裹铝佐剂形成一种粒径为 2~4 μ m 的杂合佐剂粒子。这种粒子可以通过简单的混合程序来加载抗原蛋白,并且可以高度特异性地靶向 APCs,并强烈激活 DCs 的成熟和细胞因子的分泌。在动物模型中,它们引起强烈的 Th1 免疫反应和极高的抗体滴度,同时刺激体液和细胞免疫反应,对肿瘤产生显著的预防和治疗作用。

2.2 PLGA

聚乳酸(PLGA)及其衍生物是由不同比例的乳酸和乙醇乙酸聚合而成的脂肪族聚酯类化合物(图1)。PLGA 中的酯键在体内会被水解成单体乳酸和乙二酸,这些均为体内各种代谢途径的副产物,因此无生物毒性^[41]。有文献报道,无论将抗原包裹在 PLGA 微粒中

还是吸附于 PLGA 微粒表面,均可促进 NLRP3 炎症小体的活化,增强抗体应答及细胞免疫反应^[42]。Meyer 等^[43]利用 PLGA 合成了一种纳米椭球状人工抗原提呈细胞(aAPCs)。体外研究结果表明,合成的 aAPCs 对 CTL 的诱导作用明显优于天然 APCs。并且这种 PLGA aAPCs 对肝脏和脾脏的清除作用具有一定的抵抗力,有利于激发更强的体内免疫细胞反应,具有更强的药代动力学特性。Chen 等^[44]用 PLGA 包裹吲哚青绿(ICG)和 R837 形成 PLGA-ICG-R837 纳米粒子。PLGA-ICG-R837 可以通过免疫反应攻击小鼠体内剩余的肿瘤细胞,消除原发肿瘤、抑制肿瘤转移。另外,此纳米粒子还可产生很强的免疫记忆效果,防止肿瘤复发。aAPCs 与 CTLA-4 联合应用,对各种类型的肿瘤模型均有一定治疗效果。

2.3 PEI

阳离子聚合物聚乙烯亚胺(PEI)是目前药物递送系统中常用的一种高分子材料(图1),作为免疫佐剂使用时,可促使 CD86、MHCII 表达增加,产生肿瘤坏死因子(TNF- α)和白介素-6(IL-6),诱导强烈的体液免疫反应^[45]。PEI 本身富含的氨基使其存在“质子海绵效应”,在溶酶体的酸性环境下,PEI 会吸收捕获大量质子,引起氯离子内流,导致溶酶体内渗透压升高,发生溶酶体破裂,促使药物进入细胞质,引发抗原交叉提呈作用^[46-47]。Li 等^[48]将 PEI 简单吸附到二氧化硅微球中(MSR-PEI)。MSR-PEI 可显著增强宿主 DCs 的活化以及 T 细胞反应,与卵清蛋白(OVA)对照组相比抗原交叉提呈表达量显著增加。在 TC-1 模型中,MSR-PEI 的治疗率可达 80%;同时,在 B16F10 和 CT26 模型中,可有效控制肿瘤生长,抑制肿瘤转移。所以,PEI 作为一种聚合物材料,在抗肿瘤免疫疫苗中可以更好地发挥促进 DCs 成熟、提高抗肿瘤疫苗的免疫原性的作用。

2.4 多肽

多肽是由多种氨基酸通过脱水缩合形成的氨基酸序列,一般可以从生物体内提取、蛋白酶酶解或人工合成等方式获得^[49]。多肽类药物具有制备简单、成本低、毒副作用低等优点,在抗菌、抗炎、抗感染、抗肿瘤等方面均展现出良好的治疗效果^[50]。一些多肽序列已被证明可作为自佐剂,通过与多肽或蛋白质抗原共价结合发挥免疫功能。例如,Yang 课题组发现,与铝盐佐剂相比,D 型和 L 型多肽可分别增加 OVA 的 IgG 数量约 1.3 倍和 3.8 倍,有效延长淋巴结中抗原的积累,具有潜在的疫苗佐剂效力。该课题组还研究了一种自组装 D 型

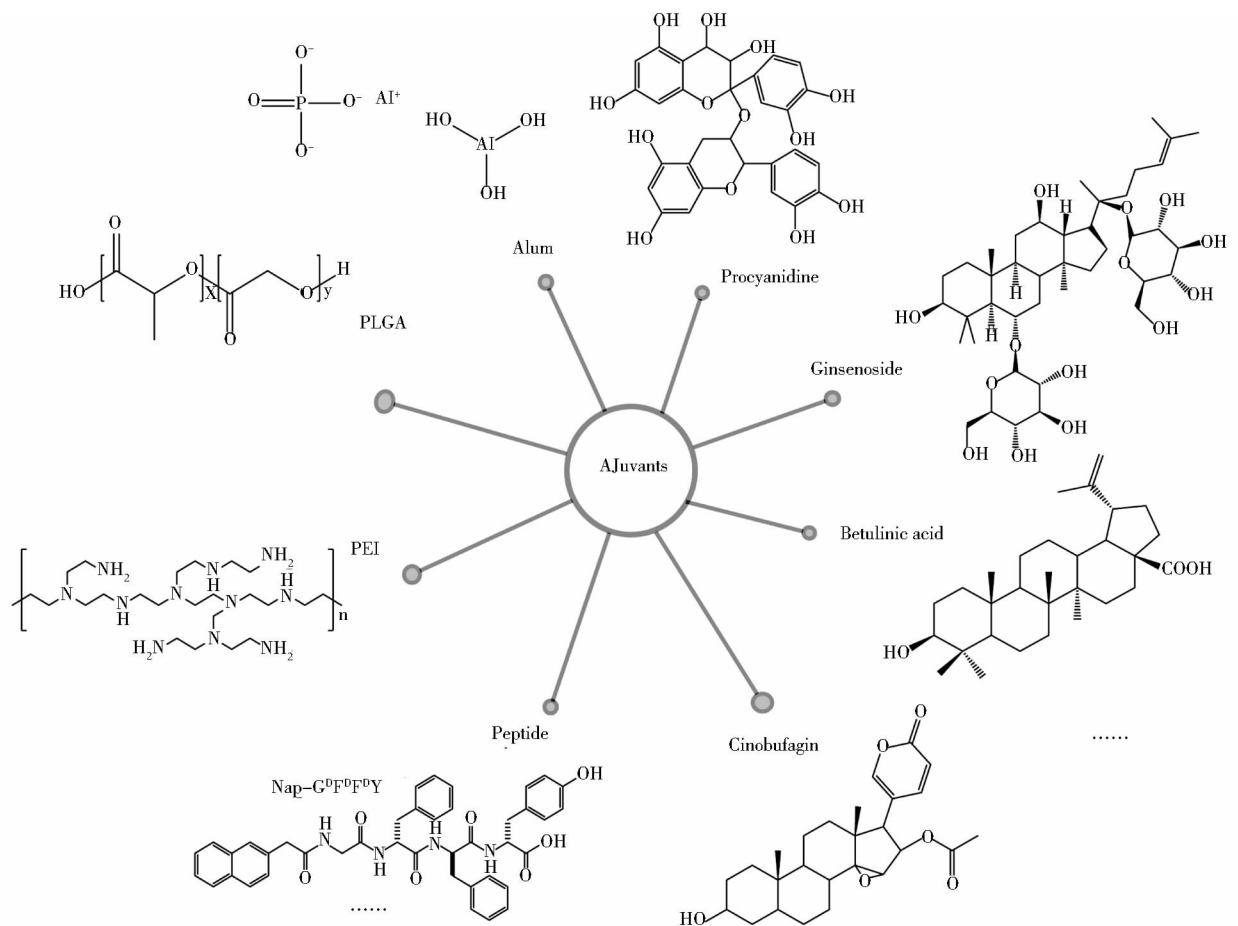


图 1 常用合成类及天然类佐剂的化学结构

Fig. 1 Chemical structural of common synthetic and natural adjuvants

四肽的超分子水凝胶注射剂(Nap-G^DF^DF^DY)(图1),除发挥体液免疫外,Nap-G^DF^DF^DY在体内还可激活细胞免疫,引起强烈的CD8⁺T细胞反应,通过引发强烈的免疫应答反应起到抑制肿瘤生长的作用^[51-52]。

3 天然佐剂

3.1 华蟾毒精

华蟾毒精又名华蟾酥毒基,属于蟾蜍二烯羟酸内酯类成分,是蟾酥的有效活性成分之一。作为成分单一、结构明确的中药单体,在抗肿瘤、免疫促进、调节心血管系统、止痛、抗病毒等方面深受重视。张瑾^[53]首次探究了华蟾毒精在P815AB肽中的佐剂效应和增强肿瘤特异性免疫的作用机制。结果表明,与P815AB肽单独免疫相比,一定剂量的华蟾毒精与P815AB肽联合免疫可显著促进小鼠脾淋巴细胞增殖、显著增强小鼠CTL细胞活性、缓解P815AB肽单独免疫导致的小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性下降,具有提高肿瘤自身免疫原

性的潜能。

3.2 白桦酸

白桦酸(BA)是一种广泛分布于植物界的五环三萜类衍生物,可以保护健康的细胞和器官免受药物诱导产生的毒副作用影响,对化疗产生的细胞毒性作用敏感,具有良好的抗癌活性,可作为癌症治疗中细胞凋亡的选择性诱导剂^[54]。Dash等^[55]从酸枣树皮中分离并合成得到纳米白桦酸(SA-BA),SA-BA可同时激活体液和细胞免疫反应,并且对免疫细胞毒性较低。SA-BA可激活巨噬细胞,通过调节巨噬细胞分泌干扰素(IFN- γ)、TNF- α 、白细胞介素(interleukin)来控制肿瘤的生长,从而提高肿瘤抗原在免疫疗法中的免疫功能。

3.3 原花青素

原花青素是由儿茶素或表儿茶素缩合而成的一类多酚化合物,广泛存在于植物的核、皮、籽等部位^[56]。一直以来,原花青素由于其强大的抗氧化作用,在食品、药品、化妆品等领域都有十分广泛的应用。新的研

究发现,原花青素在抗肿瘤及调节免疫功能方面有不错的活性。张丽娜等^[57]从细胞水平检测中药单体对抗原提呈细胞 RAW264.7 和 DC2.4 的免疫刺激活性,结果表明,与 LPS 阳性对照组相比,原花青素在细胞水平可使 CD80、CD86、MHC I 及 MHC II 分子表达增加,具有较强的免疫刺激活性,可作为潜在免疫佐剂应用于抗肿瘤疫苗的设计中。

3.4 人参皂苷

作为从常用补虚类中药--人参中提取出的主要药理活性成分,人参皂苷在提高人体免疫力、抗肿瘤等方面具有良好的活性^[58]。Rivera 等^[59]发现人参皂甙 Rb1 作为佐剂刺激可有效促进细胞因子 IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10 和肿瘤坏死因子 α 的表达,表明 Th1 和 Th2 反应均被激活,但其具体起效机制尚不清楚。Su 等^[60]发现,人参皂苷 Rg1 和 Re 均对 OVA 免疫应答有辅助促进作用,对小鼠体内的 IgG 以及 IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10 等细胞因子均有辅助作用。进一步研究表明,Rg1 和 Re 均能诱导 TLR4 相关细胞因子 NF- κ B 表达,提示人参皂苷 Rg1 和 Re 的免疫活性可能与 TLR4 信号通路有关。

3.5 多糖成分

多糖成分作为中草药中含量丰富的一种有效成分,对 IL-1、IL-2、干扰素、肿瘤坏死因子等均有诱导作用^[61]。侯玮婷和罗佳波^[62]发现,将香菇多糖、灵芝多糖、茯苓多糖按 1:1:2 的比例混合后制备的复方茯苓多糖口服液能促进小鼠体内淋巴细胞增殖,增强巨噬细胞的吞噬能力,对 S180 以及 H22 实体瘤的生长均有抑制作用。Bo 等^[63]研究了枸杞多糖作为免疫佐剂提高亚单位疫苗免疫应答率的效果。实验结果表明,以 OVA 和枸杞多糖为载体制备的脂质体纳米粒可诱导 IFN- γ 和 TNF- α 的表达,有效刺激 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞在体内的增殖,促进抗原特异性体液免疫应答。

4 总结与展望

肿瘤免疫疗法自 2013 年被 *Science* 杂志评为重大突破后,一直以来都备受广大研究者的关注,免疫疗法正在逐步改变我们未来肿瘤治疗的方式。然而,目前有效的肿瘤疫苗仍存在应答率低、免疫原性弱、易被机体清除等问题。如何改善以上问题是目前肿瘤疫苗设计中的一大挑战。近几十年的研究发现,免疫激动剂的加入对疫苗的应答率有明显提升,PRRs 激动剂作为与肿瘤相关抗原结合的佐剂,能有效提高肿瘤抗原的

免疫原性,而其本身也能作为一种“原位疫苗”,在体内成功获得较强的抗肿瘤免疫反应。另外,PLGA、PEI、多肽、中药单体成分等也被发现能通过发挥自身物理、化学性质特点,使肿瘤疫苗在控制肿瘤生长、抑制肿瘤转移方面发挥更广泛的作用。

但是,免疫佐剂的应用仍存在许多的挑战。例如,许多癌症治疗需要大量的肿瘤特异性抗原来进行有效接种,佐剂的加入导致抗肿瘤疫苗内有效抗原数量下降。另外,目前应用的大量材料类佐剂均不适合于直接植入肿瘤部位,造成高成本、高复杂性及患者与患者之间的变异性。最后,尽管通过材料改性改进了部分佐剂的靶向性,使其全身分布毒性减小,但对下游效应如细胞因子的释放仍未得到很好的解决。因此,对于免疫佐剂增强各种免疫调节途径的机制应更加深入探究,确保其安全性和有效性,为以后协同治疗打下坚实基础。此外,仍需更多的工作来优化佐剂与其他治疗药物联用后的负载率、降解性、协同性等相关问题,相信在未来会有更加安全、高效的肿瘤疫苗佐剂出现。

致谢 感谢南京中医药大学中医学优势学科三期项目开放课题(ZYX03KF038)对本研究的资助

参考文献

- [1] Antje T, Maximilian K, Rebekka W, et al. Immune monitoring of cancer patients prior to and during CTLA-4 or PD-1/PD-L1 inhibitor treatment. *Biomedicine*, 2018, 6(1): 26-39.
- [2] Soares K C, Rucki A A, Wu A A, et al. PD-1/PD-L1 blockade together with vaccine therapy facilitates effector T-cell infiltration into pancreatic tumors. *Journal of Immunotherapy*, 2015, 38(1): 1-11.
- [3] 司春枫, 鲁美钰, 周玲, 等. 肿瘤疫苗免疫策略研究进展. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(15): 2478-2482.
Si C F, Lu M Y, Zhou L, et al. Research progress of tumor vaccine strategy. *Journal of Modern Oncology*, 2016, 24(15): 2478-2482.
- [4] Holay N, Kim Y, Lee P, et al. Sharpening the edge for precision cancer immunotherapy: targeting tumor antigens through oncolytic vaccines. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 800.
- [5] Klevorn L E, Teague R M. Adapting cancer immunotherapy models for the real world. *Trends in Immunology*, 2016, 37(6): 354-363.
- [6] Littman D. Releasing the brakes on cancer immunotherapy. *Cell*, 2015, 162(6): 1186-1190.
- [7] 高花, 韩勇, 翟晓鑫, 等. MHC 分子抗原递呈机制的研究进展. *生命科学*, 2017, 29(5): 450-461.

- Gao H, Han Y, Zhai X X, et al. The research progress of antigen presentation by MHC molecules, Chinese Bulletin Life Sciences, 2017, 29(5): 450-461.
- [8] Yarchoan M, Johnson B A, Lutz E R, et al. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. Nature Reviews Cancer, 2017, 17(4): 209-222.
- [9] Vermaelen K. Vaccine strategies to improve anti-cancer cellular immune responses. Front Immunology, 2019, 10: 8.
- [10] Hu Z, Ott P A, Wu C J. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer. Nature reviews Immunology, 2018, 18(3): 168-182.
- [11] Zevini A, Olganier D, Hiscott J. Crosstalk between cytoplasmic RIG-I and STING sensing pathways. Trends in Immunology, 2017, 38(3): 194-205.
- [12] Vasou A, Sultanoglu N, Goodbourn S, et al. Targeting pattern recognition receptors (PRR) for vaccine adjuvantation; from synthetic PRR agonists to the potential of defective interfering particles of viruses. Viruses, 2017, 9(7): 186.
- [13] Zhu G M, Vishwasrao H D, Jacobson O, et al. Intertwining DNA-RNA nanocapsules loaded with tumor neoantigens as synergistic nanovaccines for cancer immunotherapy. Nature Communications, 2017, 8(1): 1482.
- [14] Wang C, Ye Y, Hu Q, et al. Tailoring biomaterials for cancer immunotherapy: emerging trends and future outlook. Advanced Materials, 2017, 29(29): 1606036.
- [15] Song W, Das M, Xu Y, et al. Leveraging biomaterials for cancer immunotherapy: targeting pattern recognition receptors. Materials Today Nano, 2019, 5: 100029.
- [16] Bianchi F, Pretto S, Tagliabue E, et al. Exploiting poly (I; C) to induce cancer cell apoptosis. Cancer Biology & Therapy, 2017, 18(10): 747-756.
- [17] Bianchi F, Pretto S, Tagliabue E, et al. Exploiting poly(I;C) to induce cancer cell apoptosis. Cancer Biology & Therapy, 2017, 18(10): 747-756.
- [18] Fan L, Zhou P, Hong Q, et al. Toll-like receptor 3 acts as a suppressor gene in breast cancer initiation and progression: a two-stage association study and functional investigation. OncoImmunology, 2019, 8(6): 1-12.
- [19] Azuma M, Takeda Y, Nakajima H, et al. Biphasic function of TLR3 adjuvant on tumor and spleen dendritic cells promotes tumor T cell infiltration and regression in a vaccine therapy. Oncoimmunology, 2016, 5(8): e1188244.
- [20] Vivas I, Itibarren K, Lozano T, et al. Therapeutic effect of irreversible electroporation in combination with Poly-ICLC adjuvant in preclinical models of hepatocellular carcinoma. Journal of Vascular and Interventional Radiology, 2019, 30(7): 1098-1105.
- [21] Fakhari A, Nugent S, Elvecrog J, et al. Thermosensitive gel based formulation for intra-tumoral delivery of Toll-like receptor 7/8 dual agonist, MEDI9197. Journal of Pharma-ceutical Sciences, 2017, 106(8): 2037-2045.
- [22] Meng Z, Lu M. RNA interference-induced innate immunity, off-target effect, or immune adjuvant. Frontiers in Im-munology, 2017, 8: 331-337.
- [23] Dowling D J. Recent advances in the discovery and delivery of TLR7/8 agonists as vaccine adjuvants. Immunohorizons, 2018, 2(6): 185-197.
- [24] Rodell C B, Arlauckas S P, Cuccarese M F, et al. TLR7/8-agonist-loaded nanoparticles promote the polarization of tumour-associated macrophages to enhance cancer immunotherapy. Nature Biomedical Engineering, 2018, 2(8): 578-588.
- [25] Kayraklioglu N, Scheiermann J, Alvord W G, et al. Effect of calcium carbonate encapsulation on the activity of orally administered CpG oligonucleotides. Molecular Therapy Nu-cleic Acids, 2017, 8: 243-249.
- [26] 徐宁, 杜锐, 李健明, 等. 新型免疫增强剂 CpG ODN 的研究进展. 安徽农业科学, 2019, 47(6): 8-10.
- Xu N, Du R, Li J M, et al. Research progress of the new immunopotentiator CpG ODN. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 47(6): 8-10.
- [27] Sato T, Shimosato T, Ueda A, et al. Intrapulmonary delivery of CpG microparticles eliminates lung tumors. Molecular Cancer Therapeutics, 2015, 14(10): 2198-2205.
- [28] Tian Y, Li M, Yu C, et al. The novel complex combination of alum, CpG ODN and HH2 as adjuvant in cancer vaccine effectively suppresses tumor growth in vivo. Oncotarget, 2017, 8(28): 45951-45964.
- [29] Kuai R, Sun X, Yuan W, et al. Dual TLR agonist nanodiscs as a strong adjuvant system for vaccines and immunotherapy. Journal of Controlled Release, 2018, 28: 131-139.
- [30] Shetab Boushehri M A, Lamprecht A. TLR4-Based immunotherapeutics in cancer: a review of the achievements and shortcomings. Molecular Pharmaceutics, 2018, 15(11): 4777-4800.
- [31] Moon S H, Shin E C, Noh Y W, et al. Evaluation of hyaluronic acid-based combination adjuvant containing monophosphoryl lipid A and aluminum salt for hepatitis B vaccine. Vaccine, 2015, 33(38): 4762-4769.
- [32] Huimin Y, Tomomori K, Papawee S, et al. Targeting C-type lectin receptors for cancer immunity. Frontiers in Immunology, 2015, 6: 408.
- [33] Yang R, Xu J, Xu L, et al. Cancer cell membrane-coated adjuvant nanoparticles with mannose modification for effective anticancer vaccination. Acs Nano, 2018, 12(6): 5121-5129.

- [34] Hung T H, Chiu Y H, Chan Y L, et al. Prophylactic administration of fucoidan represses cancer metastasis by inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases (MMPs) in Lewis tumor-bearing mice. *Marine Drugs*, 2015, 13(4): 1882-1900.
- [35] Chiang C S, Lin Y J, Lee R, et al. Combination of fucoidan-based magnetic nanoparticles and immunomodulators enhances tumour-localized immunotherapy. *Nature Nanotechnology*, 2018, 13(8): 746-754.
- [36] De G P, Govers C, Wichers H J, et al. Consumption of β -glucans to spice up T cell treatment of tumors; a review. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2018, 18(10): 1023-1040.
- [37] Liang F, Lindgren G, Sandgren K J, et al. Vaccine priming is restricted to draining lymph nodes and controlled by adjuvant-mediated antigen uptake. *Science Translational Medicine*, 2017, 9(393): 2094-2103.
- [38] Lebre F, Pedroso L M, Lavelle E C, et al. Mechanistic study of the adjuvant effect of chitosan-aluminum nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018, 552(1-2): 7-15.
- [39] Oleszycka E, Lavelle E C. Immunomodulatory properties of the vaccine adjuvant alum. *Current Opinion in Immunology*, 2014, 28: 1-5.
- [40] Liu H, Jia Z, Yang C, et al. Aluminum hydroxide colloid vaccine encapsulated in yeast shells with enhanced humoral and cellular immune responses. *Biomaterials*, 2018, 167: 32-43.
- [41] Silva A, Soema P C, Slütter B, et al. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines; linking particle properties to immunogenicity. *Human Vaccines*, 2016, 12(4): 1056-1069.
- [42] Lin Y F, Lee Y H, Hsu Y H, et al. Resveratrol-loaded nanoparticles conjugated with kidney injury molecule-1 as a drug delivery system for potential use in chronic kidney disease. *Nanomedicine*, 2017, 12(22): 2741-2756.
- [43] Meyer R A, Sunshine J C, Perica K, et al. Biodegradable nanoellipsoidal artificial antigen presenting cells for antigen specific T-cell activation. *Small*, 2015, 11(13): 1519-1525.
- [44] Chen Q, Xu L, Liang C, et al. Photothermal therapy with immune-adjuvant nanoparticles together with checkpoint blockade for effective cancer immunotherapy. *Nature Communications*, 2016, 7: 13193.
- [45] Dong H, Wen Z F, Chen L, et al. Polyethyleneimine modification of aluminum hydroxide nanoparticle enhances antigen transportation and cross-presentation of dendritic cells. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13: 3353-3365.
- [46] Luo M, Wang H, Wang Z, et al. A STING-activating nanovaccine for cancer immunotherapy. *Nature Nanotechnology*, 2017, 12(7): 648-654.
- [47] Qiu L, Valente M, Dolen Y, et al. Endolysosomal-escape nanovaccines through adjuvant-induced tumor antigen assembly for enhanced effector CD8⁺ T Cell activation. *Small*, 2018, 14(15): 1703539.
- [48] Li A W, Sobral M C, Badrinath S, et al. A facile approach to enhance antigen response for personalized cancer vaccination. *Nature Materials*, 2018, 17(6): 528-534.
- [49] 陈泽锋, 白丽. 抗肿瘤多肽类药物的来源及其机制的研究进展. *免疫学杂志*, 2018, 34(12): 93-98.
- Chen Z F, Bai L. Research progress in the source and mechanism of the anti-tumor polypeptide drugs. *Immunological Journal*, 2018, 34(12): 93-98.
- [50] Qi G B, Gao Y J, Wang L, et al. Self-assembled peptide-based nanomaterials for biomedical imaging and therapy. *Advanced Materials*, 2018, 30(22): e1703444.
- [51] Luo Z, Wu Q, Yang C, et al. A powerful CD8⁺ T-Cell stimulating D-tetra-peptide hydrogel as a very promising vaccine adjuvant. *Advanced Materials*, 2017, 29(5): 1601776.
- [52] Wang H, Luo Z, Wang Y, et al. Enzyme-catalyzed formation of supramolecular hydrogels as promising vaccine adjuvants. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(11): 1822-1829.
- [53] 张瑾. 华蟾毒精抗原佐剂效应与增强肿瘤特异性免疫的作用机制研究. 吉林: 吉林大学, 2014.
- Zhang J. Research on immunologic adjuvant effects of Cinobufagin and its enhancement function of tumor-specific immune response. Jilin: Jilin University, 2014.
- [54] Kumar P, Bhadauria A S, Singh A K, et al. Betulinic acid as apoptosis activator: Molecular mechanisms, mathematical modeling and chemical modifications. *Life Sciences*, 2018, 209: 24-33.
- [55] Dash S K, Chattopadhyay S, Tripathy S, et al. Self-assembled betulinic acid augments immunomodulatory activity associates with IgG response. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2015, 75: 205-217.
- [56] 苗莹, 刘华强, 王红程. 原花青素在抗肿瘤机制中的研究进展. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(14): 1541-1544.
- Miao Y, Liu H Q, Wang H C. Research progress of anti-tumor mechanism of proanthocyanidins. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2019, 35(14): 1541-1544.
- [57] 张丽娜, 王爽, 刘泽媛, 等. 四种中药单体作为肿瘤细胞疫苗佐剂的体外筛选研究. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(4): 504-508.
- Zhang L N, Wang S, Liu Z Y, et al. Screening tumor vaccine adjuvants from four kinds of Chinese herbal monomer in vitro. *Chinese Journal of Immunology*, 2016, 32(4): 504-508.
- [58] 朱晓丽. 人参皂苷药理作用研究进展. *中国药物经济学*, 2017, 12(12): 154-156.
- Zhu X L. Research progress of pharmacological action of Panax

- Ginseng. *China Journal of Pharmaceutical Economics*, 2017, 12 (12): 154-156.
- [59] Rivera E, Ekholm Pettersson F, Inganas M, et al. The Rb1 fraction of ginseng elicits a balanced Th1 and Th2 immune response. *Vaccine*, 2005, 23(46-47): 5411-5419.
- [60] Su F, Yuan L, Zhang L, et al. Ginsenosides Rg1 and Re act as adjuvant via TLR4 signaling pathway. *Vaccine*, 2012, 30(27): 4106-4112.
- [61] 朱喆, 蔡泓志, 李映波. 中草药提取物作为疫苗佐剂的研究进展. *医学研究杂志*, 2018, 47(5): 7-10.
- Zhu Z, Cai H Z, Li Y B. Research progress of vaccine adjuvants of Chinese herbal. *Journal of Medical Research*, 2018, 47(5): 7-10.
- [62] 侯玮婷, 罗佳波. 复方茯苓多糖口服液抗肿瘤作用和免疫调节功能的初步研究. *中药药理与临床*, 2017, 33(2): 78-81.
- Hou W T, Luo J B. The study of the compound poria polysaccharide oral liquid on the antitumor activity and immune regulation function. *Pharmacology and Chinese Materia Medica*, 2017, 33(2): 78-81.
- [63] Bo R, Sun Y, Zhou S, et al. Simple nanoliposomes encapsulating *Lycium barbarum* polysaccharides as adjuvants improve humoral and cellular immunity in mice. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 6289-6301.

Application of Adjuvant in Cancer Immunotherapy

QIAN Ying QIAN Chen BAI Xiao-qing WANG Jing-jing

(College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Abstract Immunotherapy is one of the effective methods to prevent and treat diseases. In recent years, tumor immunotherapy has become a new treatment method and related anti-tumor vaccines have been proved to be effective in the treatment of a variety of tumors. However, in the design of tumor vaccine, the problems of weak immunogenicity and low response rate of tumor antigens are a major challenge. The addition of adjuvants provides a new way to solve the problem. Immune adjuvants play an important role in improving the immunogenicity of tumor antigens and activating adaptive immune response. In order to understand the development and research status of immune adjuvants in recent years, the adjuvants commonly used in tumor vaccine were reviewed, and the mechanism of adjuvant on immune system was summarized, which provided help for vaccine design strategy in future.

Key words Adjuvant Tumor vaccine Immune response