

· 研究进展 ·

“抗肿瘤药物高分子纳米载体的多功能性和协同作用” 重大项目结题综述

马 劲^{1*} 丁玉琴¹ 陈学思² 汤朝晖² 李晓锋^{1,3}

(1. 国家自然科学基金委员会 工程与材料科学部, 北京 100085;

2. 中国科学院 长春应用化学研究所, 长春 130022;

3. 北京化工大学, 北京 100029)

[摘要] 国家自然科学基金重大项目“抗肿瘤药物高分子载体的多功能性和协同作用”针对当前抗肿瘤纳米药物药效提升受限的关键科学问题,设计新一代高分子药物载体,综合实现抗肿瘤纳米药物的(1)长循环、(2)肿瘤组织富集、(3)肿瘤组织渗透、(4)进入肿瘤细胞、(5)胞内药物释放,提升抗肿瘤纳米药物的总体治疗效果。经过项目组5年(2014—2018年)的努力,在“高分子纳米载体结构与体内药物输送特定过程的构效关系、智能响应性高分子纳米药物载体的多功能化研究、复合组装纳米药物载体的功能协同与集成、功能协同化高分子纳米载药系统的疗效和初步安全性评价”等方面取得了一系列创新性研究成果。本项目的研究对新一代抗肿瘤纳米药物的发展具有重要意义。

[关键词] 纳米药物载体;肿瘤治疗;多功能;协同;生物医用高分子

恶性肿瘤,即癌症,是全球性的公共健康问题。自2010年开始,癌症已成为导致人类死亡的第一大诱因。癌症的治疗策略是以化疗、手术切除、放疗和生物治疗等手段为主的综合治疗。其中,所用的抗肿瘤化疗药物仍以小分子细胞毒性药物为主,给药后这些药物在体内分布广泛。同时,绝大多数抗肿瘤药物是疏水的,静脉给药后能够到达肿瘤组织的很少,而很多在肝、脾等健康器官和组织中分布,导致在治疗肿瘤的同时对机体正常组织也产生严重的毒副作用,这不仅使患者遭受“炼狱”般的痛苦,也抑制患者的免疫力,损伤患者的机能状态,直接导致放、化疗难以继续、病情恶化甚至患者死亡。如何提高化疗药物对肿瘤组织的选择性,减少其在正常组织的聚集,降低其毒副作用,提高药物生物利用度是提高抗肿瘤化疗药物疗效的关键。

1 立项背景

研究表明,肿瘤组织中毛细血管结构不健全呈

多孔结构(孔径约几十至几百纳米)而具有超通透能力。血液中的纳米颗粒流经该毛细血管时可从纳米孔中渗出并进入肿瘤组织而在此蓄积(肿瘤的超通透与蓄积作用,EPR作用)。因此给药系统在血液循环系统中的时间越长,流经肿瘤毛细血管的次数和在肿瘤中的富集越多^[1]。近年来,将传统的抗肿瘤药物包埋、吸附、囊封或负载在纳米载体上制成纳米制剂,提高抗肿瘤药物的水溶性,并利用这种被动靶向肿瘤组织的能力,提高肿瘤中的药物浓度,减少小分子药物在除肝脾外的健康组织中的分布,获得了与原药一样的抗肿瘤药效,成功地降低了抗肿瘤药物的一些毒副作用^[2,3]。纳米药物的临床应用,大大减轻了患者的化疗痛苦,改善了患者生存期内的生活质量,具有重要的社会意义。同时,纳米药物也产生了巨大的经济效益,如美国 Celgene 公司仅 Abraxane(白蛋白结合型紫杉醇)一个抗肿瘤纳米药物2018年一年的销售额就高达10亿美元。然而,必须指出的是,第一代纳米载体药物的疗效较原药

收稿日期:2019-05-15;修回日期:2019-05-31

* 通信作者,Email:majin@nsfc.gov.cn

并未显著提高。究其原因第一代纳米药物的特点是对载体材料的“拿来主义”，并未根据肿瘤组织的特点以及药物体内输送的多重关键挑战对所用载体材料进行优化设计^[4]，因此，纳米载体材料的研究亟待突破。

大量基础研究和临床试验结果表明，靶向肿瘤的药物输送是一个体内5步级联(CAPIR Cascade)的过程，要显著提高纳米药物的疗效，纳米载体必须连续克服多重生物屏障、实现高效输送，在血液循环系统中保留较长时间(血液屏障)，以实现肿瘤组织中的高效富集(肿瘤靶向性)，在肿瘤组织渗透到各个部分，以到达肿瘤细胞，能够快速进入肿瘤细胞，并在胞内将药物快速释放^[5,6]。尽管业界对纳米药物载体系统体内药物输送的关键屏障似乎越来越清晰，而且针对不同的屏障也有较细致的研究，但在高分子药物载体系统的设计和实际应用中这些解决方案往往顾此失彼，综合解决给药屏障的方案严重缺乏，迫切需要发展新一代功能协同的高分子纳米药物载体。

重大项目“抗肿瘤药物高分子纳米载体的多功能性和协同作用”旨在通过对高分子材料的设计，综合解决纳米载药系统输送药物治疗肿瘤的关键瓶颈，在深入理解载体特性对其体内命运影响的同时，构筑纳米药物载体，使其能够在长循环和肿瘤富集的同时有效渗透到肿瘤组织深部，并被细胞高效摄取，同时在细胞内快速释放药物，从而解决药物在血液中“Retention”与在肿瘤和肿瘤细胞中“Release”之间的矛盾，解决药物在血液中“Stealthy”与在肿瘤细胞中“Sticky”之间的矛盾。克服现有的纳米高分子药物载体体系在设计上厚此薄彼的问题，发展第二代智能型纳米高分子载药体系，提高肿瘤治疗效果。

2 组织实施

重大项目“抗肿瘤药物高分子纳米载体的多功能性和协同作用”酝酿于2012年，经专家讨论于2013年立项，2014年正式启动实施。该重大项目由中国科学院长春应用化学研究所陈学思研究员负责，下设4个课题：(1) 高分子纳米载体结构与体内药物输送特定过程的相关性(北京化工大学甘志华教授负责)；(2) 智能响应性高分子纳米药物载体的多功能性研究(中国科学技术大学王均教授负责)；(3) 复合组装纳米药物载体的功能协同与集成(南开大学史林启教授负责)；(4) 功能协同化高分子纳

米载药系统的疗效及初步安全性评价(中国科学院长春应用化学研究所陈学思研究员负责)。课题1从研究单一纳米特性变量的聚合物纳米药物载体的制备着手，研究单一变量与其体内输送过程的相关性，同时为课题2和课题3设计多功能协同性高分子纳米载药体系提供理论指导依据。课题2和课题3分别通过化学和物理的方法，集成高分子纳米药物载体的多功能特性，为课题4的研究工作提供多功能纳米药物载体。课题4则重点通过体内药物代谢和药效学研究，评价上述纳米载体在体内如何实现多功能协同，并在此基础上，评价载体安全性，以获得具有临床前景的纳米药物载体。

项目执行过程中，项目负责人陈学思研究员分别于2015年1月6日(成都)、2015年11月25日(长春)、2016年9月4日(长春)和2018年1月19日(杭州)召集了四次重大项目年度进展交流会，并在项目中期检查期间召开了纳米药物高分子载体研讨会。通过汇集国内相关领域的专家学者，总结讨论项目进展中的关键问题，并共同研讨该领域发展中的关键问题，推动了国内整个领域的发展。2019年1月19日，项目结题验收会议在长春召开，专家组一致认为：该项目围绕纳米载药系统输送中的关键问题，有效开展了研究，已经按计划圆满完成了所有研究内容，达到了预期目标。经费使用合理，项目组织和管理规范有序，专家组综合评议为特优，通过验收。

3 项目进展与成果

重大项目“抗肿瘤药物高分子纳米载体的多功能性和协同作用”经过5年系统深入的交叉研究，在纳米载药系统结构与体内药物输送特定过程的构效关系、多功能协同高分子纳米药物载体的构建、高分子纳米载药系统的疗效及初步安全性评价三个方面取得了一系列创新性成果。

3.1 通过构建具有单一纳米特性变量的高分子纳米载药体系，揭示了各个单一纳米结构变量对载药体系在体内输送过程中特定环节的影响

(1) 发展了可控组装方法调控高分子纳米药物载体尺寸、表面PEG密度和长度、表面电性和稳定性的方法，并通过小鼠体内实验验证得出了以下结论：在尺寸相同的条件下，高PEG密度能够显著延长纳米颗粒的循环时间，增加肿瘤组织中的颗粒富集^[7]；正电荷纳米颗粒具有更好的血管穿透能力^[8]；小尺寸有利于延长纳米颗粒的血液循环时间，但不

利于肿瘤细胞摄取^[9]。

(2) 发展了可控聚合方法调控高分子纳米药物载体单一变量的方法,并通过小鼠体内实验验证得出了以下结论:聚合物拓扑结构对于体内循环具有明显影响,当主链较短而侧链较长,即形态更接近于星状偶联物时,其血液循环时间和肿瘤富集能力最优^[10];带有少量正电荷的胶束的肿瘤富集优于负电性和中性胶束,但正电荷胶束的肝脏富集也明显增加^[11]。

(3) 上述结论为肿瘤靶向药物输送载体的设计奠定了理论基础。项目组成员在 *Advanced Materials* 发表文章,并受邀为 *Advanced Drug Delivery Reviews* 和 *Advanced Materials* 撰写综述,详细论述了肿瘤靶向药物输送的“CAPIR Cascade”(五步级联)过程,以及纳米特性的“3S”(粒径、表面、稳定性)转变要求^[12-14],引起了广泛关注。ACS nano 副主编德国汉堡大学 Wolfgang J. Parak 教授在 *ACS Nano* 综述上长篇幅介绍了 CAPIR cascade 概念在抗肿瘤药物输送过程中的作用,并评述:“抗肿瘤纳米药物向实体瘤的递送过程包括五个关键步骤,称为 CAPIR cascade,包括血液循环、肿瘤富集和渗透、细胞内化和细胞内药物释放”;“抗肿瘤纳米药物只有成功完成 CAPIR cascade,并在合适的时间和地点提供活性药物,才能提供整体的高治疗效果和良好的预后”。

3.2 发展了纳米药物载体多功能协同的方法,构建了功能自适应型纳米药物载体,实现了药物输送各环节的协同增效

(1) 发展了利用肿瘤微环境的特殊特征实现 PEG 脱壳、尺度转变、电荷反转、靶向激活、还原释放等调控纳米特性的方法,以及整合这些设计实现抗肿瘤药物从血液到肿瘤细胞内部的有效递送,在多种肿瘤模型(包括人源性、鼠源性、耐药性和转移性肿瘤)中均证实药物输送策略的有效性,为今后纳米药物输送载体的设计提供了新的方法和思路^[15-17]。

(2) 发展了表面可逆组装的集成方法,实现了长循环与细胞摄取、主动靶向与肿瘤组织渗透的功能协同,有效克服了纳米药物递送过程中的各个阶段之间的矛盾,为设计高效新型的纳米药物提供了可靠的方案^[18-20]。

(3) 基于上述研究结果,项目组成员应邀为 *Accounts of Chemical Research* 撰写了两篇综述,分别介绍了利用大分子表面自组装技术和基于

2, 3-二甲基马来酸酐或其衍生物和氨基反应的酸敏感化学键设计的纳米载体用于克服药物递送过程中的多重障碍,为新一代纳米载体的设计提供了参考^[21, 22]。

3.3 建立了功能协同化高分子纳米药物载体的评价方法,初步完成了聚谷氨酸铂纳米药物的临床前药学和初步安全性评价

(1) 构建了多重自适应纳米药物来克服纳米药物的体内传输屏障,系统评价了多功能协同高分子纳米药物载体克服体内传输屏障的作用机制和级联特性。结果显示,这种尺寸大小和表面电荷都能转换的纳米颗粒几乎可以消除小鼠体内的肺癌细胞,为设计纳米药物的深层传递提供了一种可选方案^[23]。

(2) 发展了利用血管阻断剂与纳米药物实现功能协同治疗的方法,评价了其体内作用机制,为实体肿瘤的治疗提供了新的思路^[24, 25]。提出了“凝血靶向”的药物输送策略,有效解决传统靶向策略中受体表达水平较低的问题,实现药物在肿瘤部位聚积量7倍以上的增加^[26]。

(3) 开发了注射用聚谷氨酸铂纳米药物制剂。与顺铂相比,该制剂具有以下特点:1) 制备方法简单,不使用有机溶剂,使用冻干工艺制备为冻干粉针;2) 载体生物相容性良好;3) 结构稳定,无药物泄露问题;4) 长循环,能够有效降低顺铂在肾脏的分布,提高药物在肿瘤部位的蓄积,降低顺铂的肾毒性;5) 同等剂量下,能够与顺铂注射液有相同的抑瘤效果,且显著降低药物毒性。目前,已完成了该制剂的临床前药学和初步安全性评价^[27, 28]。

4 结 语

项目执行期间,累积申请发明专利 74 件,PCT 专利 2 件,美国专利 1 件,共发表标注资助的 SCI 论文 260 篇,其中 2 篇发表在 *Nature Communications* 和 *Nature Biomedical Engineering* 上。项目的实施培养了一支具有国际水平的纳米药物研究队伍,1 位成员入选了国际生物材料科学与工程学会联合会会士,1 位成员入选英国皇家化学学会会士。项目团队还培养了多位相关领域的优秀青年工作者,其中 3 人获得了国家自然科学基金优秀青年基金资助。项目培养了 59 位博士研究生、54 位硕士研究生,出站博士后 10 人。项目组及成员举办了数次纳米药物研究领域国际及国内学术会议,在重要国际学术会议做大会报告及邀请报告 70 余次,与国内外相关领域

的知名专家学者开展了广泛的合作与交流,产生了积极的国际影响。本项目的实施为新一代纳米药物的开发奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] Maeda H, Wu J, Sawa T, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *Journal of Controlled Release*, 2000, 65(1-2): 271-284.
- [2] Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annual Review of Medicine*, 2012, 63(63): 185-198.
- [3] Farokhzad OC, Langer R. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*, 2009, 3(1): 16-20.
- [4] Min Y, Cater JM, Eblan MJ, et al. Clinical translation of nanomedicine. *Chemical reviews*, 2015, 115 (19): 11147-11190.
- [5] Osada K, Kataoka K. Drug and gene delivery based on supramolecular assembly of PEG-Polypeptide hybrid block copolymers. In *Advances in Polymer Science*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2006, 202: 113-153.
- [6] Wagner E. Programmed drug delivery: nanosystems for tumor targeting. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2007, 7(5): 587-593.
- [7] Du XJ, Wang JL, Liu WW, et al. Regulating the surface poly (ethylene glycol) density of polymeric nanoparticles and evaluating its role in drug delivery in vivo. *Biomaterials*, 2015, 69: 1-11.
- [8] Wang HX, Zuo ZQ, Du JZ, et al. Surface charge critically affects tumor penetration and therapeutic efficacy of cancer nanomedicines. *Nano Today*, 2016, 11(2): 133-144.
- [9] Liang S, Yang XZ, Du XJ, et al. Optimizing the size of micellar nanoparticles for efficient siRNA delivery. *Advanced Functional Materials*, 2015, 25 (30): 4778-4787.
- [10] Tang H, Tang J, Shen Y, et al. Comb-like poly (N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide) doxorubicin conjugates: the influence of polymer architecture and composition on the biological properties. *Chinese Journal of Polymer Science*, 2018, 36(11): 1225-1238.
- [11] Shen T, Guan SL, Gan ZH, et al. Polymeric micelles with uniform surface properties and tunable size and charge: positive charges improve tumor accumulation. *Biomacromolecules*, 2016, 17(5): 1801-1810.
- [12] Sun QH, Sun XR, Ma XP, et al. Integration of nanoassembly functions for an effective delivery cascade for cancer drugs. *Advanced Materials*, 2014, 26 (45): 7615-7621.
- [13] Zhou ZX, Liu XR, Zhu DC, et al. Nonviral cancer gene therapy: delivery cascade and vector nanoproperty integration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, 115: 115-154.
- [14] Sun QH, Zhou ZX, Qiu NS, et al. Rational design of cancer nanomedicine: nanoproperty integration and synchronization. *Advanced Materials*, 2017, 29 (14): 1606628.
- [15] Sun CY, Shen S, Xu CF, et al. Tumor acidity-sensitive polymeric vector for active targeted siRNA delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(48): 15217-15224.
- [16] Sun CY, Liu Y, Du JZ, et al. Facile generation of Tumor-pH-Labile linkage-bridged block copolymers for chemotherapeutic delivery. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2016, 55(3): 1010-1014.
- [17] Li HJ, Du JZ, Du XJ, et al. Stimuli-responsive clustered nanoparticles for improved tumor penetration and therapeutic efficacy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(15): 4164-4169.
- [18] Cheng TJ, Ma RJ, Zhang YM, et al. A surface-adaptive nanocarrier to prolong circulation time and enhance cellular uptake. *Chemical Communications*, 2015, 51 (81): 14985-14988.
- [19] Cheng TJ, Zhang YM, Liu JJ, et al. Ligand-switchable micellar nanocarriers for prolonging circulation time and enhancing targeting efficiency. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(6): 5296-5304.
- [20] Gao HJ, Cheng TJ, Liu JF, et al. Self-regulated multifunctional collaboration of targeted nanocarriers for enhanced tumor therapy. *Biomacromolecules*, 2014, 15 (10): 3634-3642.
- [21] Zhang ZK, Ma RJ, Shi LQ. Cooperative macromolecular self-assembly toward polymeric assemblies with multiple and bioactive functions. *Accounts of Chemical Research*, 2014, 47(4): 1426-1437.
- [22] Du JZ, Li HJ, Wang J. Tumor-acidity-cleavable maleic acid amide (TACMAA): a powerful tool for designing smart nanoparticles to overcome delivery barriers in cancer nanomedicine. *Accounts of Chemical Research*, 2018, 51 (11): 2848-2856.
- [23] Chen JJ, Ding JX, Wang YC, et al. Sequentially responsive shell-stacked nanoparticles for deep penetration into solid tumors. *Advanced Materials*, 2017, 29(32).
- [24] Song WT, Tang ZH, Zhang DW, et al. Solid tumor therapy using a cannon and pawn combination strategy. *Theranostics*, 2016, 6(7): 1023-1030.
- [25] Song WT, Tang ZH, Zhang DW, et al. Coadministration of vascular disrupting agents and nanomedicines to eradicate tumors from peripheral and central regions. *Small*, 2015, 11 (31): 3755-3761.
- [26] Song WT, Tang ZH, Zhang DW, et al. A cooperative polymeric platform for tumor-targeted drug delivery. *Chemical Science*, 2016, 7(1): 728-736.

[27] Yu HY, Tang ZH, Li MQ, et al. Cisplatin loaded poly (L-glutamic acid)-g-methoxy poly (ethylene glycol) complex nanoparticles for potential cancer therapy: preparation, in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2016, 12(1): 69—78.

[28] Yu HY, Tang ZH, Zhang DW, et al. Pharmacokinetics, biodistribution and in vivo efficacy of cisplatin loaded poly (L-glutamic acid)-g-methoxy poly (ethylene glycol) complex nanoparticles for tumor therapy. *Journal of Controlled Release*, 2015, 205: 89—97.

Final report of Key Project of NSFC “Multifunction and synergism of polymeric nanocarriers for anticancer drug delivery”

Ma Jin¹ Ding Yuqin¹ Chen Xuesi² Tang Zhaohui² Li Xiaofeng^{1,3}

(1. *Department of Engineering and Materials Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085;*

2. *Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Jilin 130022;*

3. *Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029*)

Abstract The NSFC Key Project of “Multifunction and synergism of polymeric nanocarriers for anticancer drug delivery” aimed at the obstacles in current nanotechnology-based drug delivery systems, and proposed to design new generation of anticancer drug delivery nanocarriers, to fulfill the requirements including (1) prolonged circulation, (2) enhanced accumulation in the tumor, (3) improved penetration through whole tumor, (4) facilitated cellular internalization and (5) rapidly or sufficiently intercellular drug release. Through five-year’s efforts, this project has got a series of creative achievements in the study on the relationship between nanocarrier structure and in vivo delivery process, smart polymeric nanoparticles as multifunctional drug carrier for cancer therapy, multifunctional and synergistic study on the self-assembly nanocarriers, evaluation of effectiveness and safety of multifunctional polymeric drug delivery systems. The study in this project will promote the development of next generation anticancer drug delivery systems.

Key words nano-drug carrier; tumor therapy; multifunction; synergism; biomedical polymer