附件

1. **项目名称：**

纳米粒子在结直肠癌治疗及降低治疗毒性反应中的作用及机制

1. **提名者：**

南充市人民政府

1. **提名意见**

目前大约有60%的结直肠癌患者在病程中出现结直肠癌肝转移，这已成为患者的主要死因。研究证实结直肠癌肿瘤干细胞（CRC-CSCs）是介导结直肠癌转移复发的关键细胞。对于如何对其靶向杀灭，该项目组创造性地提出：杀灭CRC-CSCs及治疗肿瘤必须解决三个问题：(1)特异性识别：寻找能够与识别载体高度特异性结合的CRC-CSCs表面分子；(2)治疗靶点：确认调控肿瘤干细胞自我更新能力的关键核转录因子/基因并进行干预，最终达到靶向杀灭的目的；(3)治疗安全性及相关毒副作用的防治。针对以上三个问题，该研究团队以基础研究与临床应用相结合研究得出：①最新发现Lgr5和ALDH可以作为CRC-CSCs高度特异性标识，以达到精准识别CSCs的目的；②在CRC-CSCs中发现KLF4发挥原癌基因功能，提示KLF4可作为可靠的核内转录因子作用靶点；③成功合成靶向性双光子比率型小分子荧光探针，特别适合示踪极为稀少的CSCs实现对“多肽靶向识别CSCs”能力的可视化监测；④成功合成并证明Cy5-Lgr5多肽-siRNA@SOF材料具有良好的稳定性、安全性和靶向性；⑤成功合成牛血清白蛋白修饰的石墨炔纳米粒子（GDY-BSA NPs），能降低胃肠道细胞凋亡，改善受辐射的胃肠道细胞的生存能力。

该项目主要研究结果在国内外期刊发表论文41篇，其被SCI收录27篇，获得专利和软件著作权1项。培养博、硕士研究生20余名。主办推广学术会议17次和培训班8次，成果转化稳步进行，获得良好的社会经济效益。总体技术水平和主要性能指标达到国际先进水平。该项目满足申请四川省科技进步奖的条件，同意提名该项目申报四川省科学技术进步奖。

1. **项目简介**

结直肠癌（colorectal cancer,CRC）在女性消化系统肿瘤中居第2位,男性中居第3位。肝脏是CRC远处播散的最常见部位,约有60%的CRC患者在病程中出现结直肠癌肝转移（colorectal liver metastases,CLM）,CLM已成为CRC患者死亡的主要原因之一。因此，从 CSCs 的角度深入探索 CLM 的机制，将为我们防治 CLM 提供新的思路。介于CSCs在肿瘤耐药、转移复发中的核心地位，通过纳米粒子靶向杀灭CSCs必将成为研究热点和前沿。寻找CSCs特异性标识(识别CSCs)，进一步确定调控CSCs恶性行为的关键基因，是靶向杀灭CSCs面对的最大难题之一。在此领域，本项目创新性工作概括如下：

（一）特异性识别，寻找能够与识别载体高度特异性结合的CRC-CSCs表面分子：1.通过4色流式细胞分选技术分选出Lgr5+CD44+EpCAM+具有高度的肿瘤干细胞特征，同时证实核转录因子KLF4 可以通过TGF-β1/Smad/snail信号通路调控肿瘤干细胞的恶性行为。2. 通过生物信息学方法发现了一个与干细胞特性密切相关的全新lncRNA，并根据相关命名规则将其命名为lncRNA-cCSC1。3. 我们研究发现HOXB8（229667\_s\_at）基因是与转移性结直肠癌化疗疗效相关性最显著的癌基因，利用免疫组化已经证实HOXB8基因高表达的mCRC患者化疗疗效差于低表达患者。

（二）治疗靶点，确认调控肿瘤干细胞自我更新能力的关键核转录因子/基因并进行干预，最终达到靶向杀灭的目的：1. 基于对三芳基硼进行多位点修饰设计的多种肿瘤靶向荧光探针，不仅实现对肿瘤的体内靶向成像、对细胞内强极性环境细胞质和高黏度的细胞核成像、对其细胞膜通透性的调控，而且发展了两类新型的单胺氧化酶荧光探针，它们都能通过反应诱导聚集的机理对单胺氧化酶进行选择性检测且能选择性成像过度表达单胺氧化酶细胞，如肝癌细胞。2.我们设计并构建了一系列具有近红外吸收性能的探针，研究了其自组装性能，并证实其可以使肿瘤光热治疗效果更加显著。3.本研究通过将二硫化钼(MoS2, MS)与四氧化三铁(Fe3O4 IO)纳米粒子(NPs)结合来证明磁靶向光热治疗，证明了磁靶向光热消融癌症的有效结果，并预示了多功能MSIOs在癌症治疗中的应用前景。

（三）治疗安全性及相关毒副作用的防治：1. 我们合成了牛血清白蛋白修饰的石墨炔纳米粒子（GDY-BSA NPs），能有效地抑制活性氧(ROS)诱导的细胞凋亡信号通路，能降低胃肠道细胞凋亡，从而能够减少DNA损伤，改善受辐射的胃肠道细胞的生存能力；本工作首次将GDY-BSA NPs口服用于胃肠道的放射防护，这不仅促进了新型胃肠道放射防护剂的探索开发，还为胃肠道疾病的治疗提供了纳米技术解决方案。2. 我们发现通过口服纳米炭混悬注射液能够抑制放射导致的小肠上皮细胞和隐窝干细胞凋亡、有助于清除肠道微环境中的自由基，维持肠道功能平衡，从而缓解辐射性肠炎3. 放射增敏剂的快速清除在癌症治疗中非常需要（降低毒副反应）。因此，本研究提出了一种利用超小放射增敏剂与肿瘤内局部注射相结合的治疗范式，以实现肿瘤治疗的快速清除和高效放射增敏。

该项目主要研究结果在国内外期刊发表论文41篇，其被SCI收录27篇，获得专利和软件著作权1项。培养博、硕士研究生20余名。主办推广学术会议17次和培训班8次，成果转化稳步进行，获得良好的社会经济效益。目前已经在多家医院推广。

1. **主要知识产权和标准规范**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 类别 | 国别 | 授权号 | 授权  时间 | 知识产权具体名称 | 全部发明人 |
| 1 | 发明专利 | 中国 | ZL201420785686.6 | 2015-04-08 | 血液孵育器 | 王东生，冷政伟，梁骑，张国元 |

1. **代表性论文**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 论文名称 | 刊名 | 年,卷(期)及页码 | 影响  因子 | SCI  他引次数 | 他引总次数 | 通讯作者单位是否含国外单位 |
| 1 | Lgr5+CD44+EpCAM+ Strictly Defines Cancer Stem Cells in Human Colorectal Cancer | Cell Physiol Biochem | 2018;46(2):860-872 | 4.66 | 1 | 1 | 否 |
| 2 | Krüppel-like factor 4 regulates stemness and mesenchymal properties of colorectal cancer stem cells through the TGF-β1/Smad/snail pathway | J Cell Mol Med | 2020 Jan;24(2):1866-1877 | 4.486 | 5 | 5 | 否 |
| 3 | LncRNA-cCSC1 modulates cancer stem cell properties in colorectal cancer via activation of the Hedgehog signaling pathway | J Cell Biochem | 2020 Mar;121(3):2510-2524 | 4.237 | 9 | 9 | 否 |
| 4 | HOXB8 enhances the proliferation and metastasis of colorectal cancer cells by promoting EMT via STAT3 activation | Cancer Cell Int | 2019 Jan 3;19:3 | 4.175 | 9 | 9 | 否 |
| 5 | Knock-Down of HOXB8 Prohibits Proliferation and Migration of Colorectal Cancer Cells via Wnt/β-Catenin Signaling Pathway | Med Sci Monit | 2019 Jan 24;25:711-720 | 1.918 | 5 | 5 | 否 |
| 6 | Identification of HOXB8 and KLK11 expression levels as potential biomarkers to predict the effects of FOLFOX4 chemotherapy | Future Oncol | 2013 May;9(5):727-36 | 2.66 | 12 | 14 | 否 |
| 7 | Establishment of a predictive genetic model for estimating chemotherapy sensitivity of colorectal cancer with synchronous liver metastasis | Cancer Biother Radiopharm | 2013 Sep;28(7):552-8 | 2.314 | 8 | 9 | 否 |
| 8 | Identification of Nkx2-3 and TGFB1I1 expression levels as potential biomarkers to predict the effects of FOLFOX4 chemotherapy | Cancer Biol Ther | 2012 Apr;13(6):443-9 | 3.659 | 5 | 5 | 否 |
| 9 | A novel triarylboron based ratiometric fluorescent probe for in vivo targeting and specific imaging of cancer cells expressing abnormal concentration of GGT | Biosens Bioelectron | 2019 Oct 1;142:111497 | 10.257 | 1 | 1 | 否 |
| 10 | Application of Triarylboron Substituted with Cyclic Arginine-Glycine-Aspartic Acid Motifs as a Multivalent Two-Photon Fluorescent Probe for Tumor Imaging in Vivo | Anal Chem | 2019 May 7;91(9):6340-6344 | 6.785 | 3 | 4 | 否 |
| 11 | Intracellular fluorescent temperature probe based on triarylboron substituted poly N-isopropylacrylamide and energy transfer | Anal Chem | 2015 Apr 7;87(7):3694-8. | 6.785 | 6 | 7 | 否 |
| 12 | Ratiometric dual fluorescence tridurylboron thermometers with tunable measurement ranges and colors | Talanta. | 2020 Apr 1;210:120630 | 5.339 | 1 | 1 | 否 |
| 13 | Molecular Engineering of Aqueous Soluble Triarylboron-Compound-Based Two-Photon Fluorescent Probe for Mitochondria H2S with Analyte-Induced Finite Aggregation and Excellent Membrane Permeability | Anal Chem | 2016 Jan 5;88(1):1052-7 | 6.785 | 10 | 13 | 否 |
| 14 | A water-soluble two-photon ratiometric triarylboron probe with nucleolar targeting by preferential RNA binding | Chem Commun (Camb) | 2017 Oct 17;53(83):11476-11479 | 5.996 | 5 | 8 | 否 |
| 15 | A triarylboron-based binuclear Zn(II) complex as a two-photon fluorescent probe for simultaneous multicolor imaging of the cell membrane, endoplasmic reticulum, and nucleolus | Anal Bioanal Chem | 2019 Aug;411(20):5223-5231 | 3.637 | 3 | 3 | 否 |
| 16 | Piperazine multi-substituted triarylphosphine oxide compound as an instant "light-up" fluorescent probe for monoamine oxidase. | Talanta | 2020 Mar 1;209:120559 | 5.339 | / | / | 否 |
| 17 | Smart MoS2/Fe3O4 Nanotheranostic for Magnetically Targeted Photothermal Therapy Guided by Magnetic Resonance/Photoacoustic Imaging | Theranostic | 2015 May 20;5(9):931-45 | 8.579 | 38 | 39 | 否 |
| 18 | Size and PEG Length-Controlled PEGylated Monocrystalline Superparamagnetic Iron Oxide Nanocomposite for MRI Contrast Agent | Int J Nanomedicine. | 2021 Jan 8;16:201-211 | 5.112 | 1 | 1 | 否 |
| 19 | Graphdiyne nanoradioprotector with efficient free radical scavenging ability for mitigating radiation-induced gastrointestinal tract damage | Biomaterials | 2020 Jun;244:119940. | 10.317 | 2 | 2 | 否 |
| 20 | Clinically Approved Carbon Nanoparticles with Oral Administration for Intestinal Radioprotection via Protecting the Small Intestinal Crypt Stem Cells and Maintaining the Balance of Intestinal Flora | Small | 2020 Apr;16(16):e1906915 | 11.459 | 1 | 1 | 否 |
| 21 | Ultrasmall BiOI Quantum Dots with Efficient Renal Clearance for Enhanced Radiotherapy of Cancer | Adv Sci (Weinh) | 2020 Jan 16;7(6):1902561. | 15.84 | 4 | 5 | 否 |
| 22 | A triarylboron based two-photon fluorescent probe for the detection of intracellular Monoamine oxidase by a reaction-induced aggregation | Dyes and Pigments | 2020,108077,ISSN 0143-7208 | 3.57 | / | / | 否 |
| 23 | Mn(II) Chelate-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanocrystals as High-Efficiency Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents | Nanoscale Advances | 2020,2,2752–2757 | / | / | / | 否 |
| 24 | Endowing a triarylboron compound showing ACQ with AIE characteristics by transforming its emissive TICT state to be dark | RSC Advances | 2017, 7(24):14511-14515 | / | / | / | 否 |
| 25 | Nanogel-loading a triarylboron-based AIE fluorophore to achieve ratiometric sensing for hydrogen peroxide and sequential response for pH | New Journal of Chemistry | 2017, 41(12). | / | / | / | 否 |
| 26 | Piperazine multi-substituted triarylboron compound as an aqueous soluble fluorescent probe for imaging nucleoli, nuclear matrix and nuclear membrane | Sensors & Actuators B Chemical | 2018 | / | / | / | 否 |
| 27 | Self-assembled binary multichromophore dendrimers with enhanced electro-optic coefficients and alignment stability | Materials Chemistry Frontiers | 2019 | / | / | / | 否 |
| 28 | 结肠癌DLD-1细胞肿瘤干细胞富集模型的比较 | 中华消化外科杂志 | 2016,15(02):168-172 | / | / | 3 | 否 |
| 29 | 肿瘤干细胞标识CD\_(133)研究进展及争议 | 医学综述 | 2016,22(06):1098-110 | / | / | 4 | 否 |
| 30 | shRNA干扰富含亮氨酸重复序列G-蛋白偶联受体5对结直肠癌肿瘤干细胞恶性行为的影响及其作用机制 | 中华消化外科杂志 | 2017,16(12):1236-1241 | / | / | 3 | 否 |
| 31 | LY294002通过PI3K/Akt/mTOR对CD133+CD44+结直肠癌干细胞自我更新、增殖能力的影响 | 川北医学院学报 | 2018,33(03):343-346 | / | / | 2 | 否 |
| 32 | 结肠癌肿瘤干细胞富集方案的比较 | 中华实验外科杂志 | 2018,35(08):1461-1464 | / | / | 3 | 否 |
| 33 | FH535对结直肠癌肿瘤干细胞自我更新及侵袭迁移的抑制作用及机制 | 中国普通外科杂志 | 2018,27(10):1288-1294 | / | / | 4 | 否 |
| 34 | shRNA干扰KLF4对Lgr5~+结直肠癌肿瘤干细胞迁移侵袭的影响及机制 | 武汉大学学报(医学版) | 2018,39(06):899-904 | / | / | 1 | 否 |
| 35 | 肿瘤干细胞及Wnt/β-catenin信号通路在结直肠癌肝转移中的作用 | 中华肝脏外科手术学电子杂志 | 2019,8(04):377-378 | / | / | 3 | 否 |
| 36 | 碱性成纤维细胞生长因子在富集结直肠癌肿瘤干细胞中的作用 | 肝胆胰外科杂志 | 2020,32(03):169-174 | / | / | / | 否 |
| 37 | 上皮细胞生长因子作用时间对富集结肠癌肿瘤干细胞的影响 | 中国普外基础与临床杂志 | 2020,27(08):959-963 | / | / | / | 否 |
| 38 | 基于生物信息学研究肝癌发生相关基因及其功能 | 中华肝脏外科手术学电子杂志 | 2020,9(05):488-492 | / | / | / | 否 |
| 39 | 应用生物信息学分析筛选肝细胞癌关键基因及表达验证 | 中国普外基础与临床杂志 | 1-9[2021-04-22] | / | / | / | 否 |
| 40 | XPD 751基因单核苷酸多态性与结肠癌术后mFOLFOX6化疗疗效及预后的关系 | 中华普通外科学文献(电子版) | 2020,14(02):103-106 | / | / | / | 否 |
| 41 | LY294002抑制PI3K-Akt通路对富集肝癌干细胞细胞球增殖的影响 | 国际肿瘤学杂志 | 2015,42(04):241-244 | / | / | 1 | 否 |

1. **完成人情况**

①姓名：冷政伟，排名：1，职称：主任医师，行政职务：副主任，工作单位：川北医学院附属医院，对本项目的贡献：主持及参与与本成果相关的部分国家级及省部级课题，通过4色流式细胞分选技术分选出Lgr5+CD44+EpCAM+具有高度的肿瘤干细胞特征，同时证明了核转录因子KLF4 (Krüppel-like factor 4)可以通过TGF-β1/Smad/snail信号通路调控肿瘤干细胞的恶性行为；项目实施过程中，协助课题负责人完成整体方案设计，把握课题总体进度，主笔撰写课题可研报告，年度总结报告等，保障课题顺利实施并通过验收。梳理凝练课题成果，促进成果转化。

②姓名：刘军，排名：2，职称：主任医师，行政职务：副主任，工作单位：川北医学院附属医院，对本项目的贡献：利用新技术对肿瘤成像及标记进行探索和临床验证，为临床检验和精准医疗提供新的预警、诊断和用药靶点；建立了基于三芳基硼对肿瘤的体内靶向成像的荧光探针技术，可实现对细胞内强极性环境细胞质和高黏度的细胞核、过度表达单胺氧化酶细胞成像，以及对其细胞膜通透性的调控。

③姓名：吴昌强，排名：3，职称：副教授，行政职务：科技处项目管理科科长，工作单位：川北医学院，对本项目的贡献：协调整合各方资源；研制的SPIO@PEG纳米颗粒，可在不同的磁场强度下表现出不同的成像特征，选择4-nm SPIO@PEG5k纳米造影剂对大鼠血管显影，结果显示其具有较好的血液稳定性，其血管显影时间窗口（2 h以上）远远长于普通小分子造影剂（5 min以内），且在低剂量下（0.03 Fe mmol/Kg）即可获得高质量的血管增强成像，具有易于合成，良好的生物相容性和协同增强对比度的能力，可为组织和血管MR成像提供有用的方法。为项目后期发展奠定了夯实的基础。

④姓名：周何，排名：4，职称：主治医师，行政职务：无，工作单位：川北医学院附属医院，对本项目的贡献：通过生物信息学方法发现了结直肠癌干细胞样特性和非干细胞样特性的组织中筛选出一个与干细胞特性密切相关的全新lncRNA，并根据相关命名规则将其命名为lncRNA-cCSC1。同时还发现，lncRNA-cCSC1是通过Hedgehog信号通路调控干细胞特征的。为后期的靶向显像及治疗提供了理论基础。

⑤姓名：李绍堂，排名：5，职称：主任医师 ，行政职务：副主任，工作单位：温州医科大学附属第一医院结直肠外科，对本项目的贡献：研究发现了HOXB8（229667\_s\_at）基因是与转移性结直肠癌化疗疗效相关性最显著的癌基因，利用免疫组化已经证实HOXB8基因高表达的mCRC患者化疗疗效差于低表达患者。研究发现HOXB8激活的STAT3信号通路可以被p-STAT3抑制剂 （S3I-201）阻断。通过沉默HOXB8基因调节STAT3通路逆转EGFR抑制剂耐药机制和评价联合用药方案，进一步为HOXB8-RNAi联合EGFR抑制剂治疗mCRC患者提供理论依据；同时研究发现HOXB8的抑制阻止了大肠癌细胞通过Wnt /β-catenin信号通路的增殖和迁移以及多种因子（如MMP2，c-Myc，CyclinD1和波形蛋白）的下调。数据表明，HOXB8具有巨大的潜力，可以作为治疗人类大肠癌的新型治疗剂而开发。

⑥姓名：谷战军，排名：6，职称：副主任，行政职务：多学科中心副主任（副处级），工作单位：中科院高能物理研究所，对本项目的贡献：研究通过将二硫化钼(MoS2, MS)与四氧化三铁(Fe3O4 IO)纳米粒子(NPs)结合（MoS2/Fe3O4 composite, MSIOs）证明了磁靶向光热消融癌症的有效结果。所有结果表明，磁场引导下的局部光热肿瘤消融具有巨大的潜力，并预示了多功能MSIOs在癌症治疗中的应用前景。同时我们合成了牛血清白蛋白修饰的石墨炔纳米粒子（GDY-BSA NPs），纳米粒子能降低胃肠道细胞凋亡，从而能够减少DNA损伤，改善受辐射的胃肠道细胞的生存能力，显著减少由于辐射引起的腹泻、体重减轻和胃肠组织病理损伤；另一方面，我们发现通过口服纳米炭混悬注射液能够抑制放射导致的小肠上皮细胞和隐窝干细胞凋亡、有助于清除肠道微环境中的自由基，维持肠道功能平衡，从而缓解辐射性肠炎。本工作首次将GDY-BSA NPs口服用于胃肠道的放射防护，这不仅促进了新型胃肠道放射防护剂的探索开发，还为胃肠道疾病的治疗提供了纳米技术解决方案。

⑦姓名：李建水，排名：7，职称：教授，行政职务：主任，工作单位：川北医学院附属医院，对本项目的贡献：参与部分课题成果的规划、设计和研究及管理。

1. **完成单位情况**

①单位名称：川北医学院附属医院，排名：1，对本项目的贡献：本项目的技术依托单位和完成单位，负责项目研究和应用的总体设计与实施；创新性地研究了结直肠癌发生、转移复发的分子机制（生物信息学、分子生物学、细胞生物学方法），并着重研究了肿瘤干细胞在其中发挥的关键作用；基于对三芳基硼进行多位点修饰设计，不仅开发了多种能够进入细胞对肿瘤的体内靶向成像、对细胞内强极性环境细胞质和高黏度的细胞核成像、实现了对其细胞膜通透性的调控的荧光探针，而且发展了两类新型的单胺氧化酶荧光探针，能选择性成像过度表达单胺氧化酶细胞，如肝癌细胞，同时，设计并构建了一系列具有近红外吸收性能的探针，可以使肿瘤光热治疗效果更加显著；研制的SPIO@PEG纳米颗粒，可为组织和血管MR成像提供有用的方法；通过将二硫化钼(MoS2, MS)与四氧化三铁(Fe3O4 IO)纳米粒子(NPs)结合起来形成的纳米粒子（MoS2/Fe3O4 composite, MSIOs），证明了磁靶向光热消融癌症的有效结果，并预示了多功能MSIOs在癌症治疗中的应用前景；设计并参与了合成能降低胃肠道细胞凋亡，从而能够减少DNA损伤，改善受辐射的胃肠道细胞的生存能力，显著减少小鼠由于辐射引起的腹泻、体重减轻和胃肠组织病理损伤的纳米粒子。

②单位名称：中科院高能物理研究所，排名：2，对本项目的贡献：提供核心项目实施提供研究平台，在新材料应用于诊断技术的基础研究中取得突破；主持并参与合成牛血清白蛋白修饰的石墨炔纳米粒子（GDY-BSA NPs），能有效地抑制活性氧(ROS)诱导的细胞凋亡信号通路，从而减少胃肠道细胞的凋亡，减少DNA损伤，改善受辐射的胃肠道细胞的生存能力。本工作首次将GDY-BSA NPs口服用于胃肠道的放射防护，这不仅促进了新型胃肠道放射防护剂的探索开发，还为胃肠道疾病的治疗提供了纳米技术解决方案。研究发现了通过口服纳米炭混悬注射液能够抑制放射导致的小肠上皮细胞和隐窝干细胞凋亡、有助于清除肠道微环境中的自由基，维持肠道功能平衡，从而缓解辐射性肠炎。孕育了纳米粒子在结直肠癌治疗及降低治疗毒性反应中的理论及技术基础。

③单位名称：温州医科大学附属医院，排名：3，对本项目的贡献：中心参加此课题后，积极组织相关实验人员对一些新课题进行调研，同时召集相关专家进行讨论。研究发现HOXB8（229667\_s\_at）基因是与转移性结直肠癌化疗疗效相关性最显著的癌基因；利用免疫组化已经证实HOXB8基因高表达的mCRC患者化疗疗效差于低表达患者。研究发现HOXB8激活的STAT3信号通路可以被p-STAT3抑制剂 （S3I-201）阻断。通过沉默HOXB8基因调节STAT3通路逆转EGFR抑制剂耐药机制和评价联合用药方案，进一步为HOXB8-RNAi联合EGFR抑制剂治疗mCRC患者提供理论依据。