

DOI:10.12405/j.issn.2097-1486.2025.02.002

mRNA 疗法:开启现代医学治疗的新纪元

罗秋思,肖玉玲,洪学传*

武汉大学 药学院,湖北 武汉 430071

摘要: mRNA 疗法在当代医学领域展现出巨大的应用潜力。然而,由于 mRNA 分子的不稳定性和递送效率低下,该疗法依然面临诸多挑战。自新型冠状病毒 mRNA 疫苗成功研发并大规模应用于全球抗疫以来, mRNA 疗法凭借其独特的技术优势和应用灵活性,已经成为应对多种疾病的一项开创性治疗手段。为了全面了解 mRNA 疗法的研究进展,本文首先介绍 mRNA 疗法的基本概念和关键技术;其次,总结 mRNA 疗法在传染病预防、癌症治疗、蛋白质替代治疗和基因编辑等方面的研究成果;最后,分析 mRNA 疗法面临的挑战,旨在为后续相关研究与临床应用提供全面而深入的理论参考与实践指导。

关键词: mRNA 疗法; mRNA 修饰; 脂质纳米颗粒; 传染病; 癌症治疗; 蛋白质替代治疗

中图分类号: Q522+.2

文献标志码: A

文章编号: 2097-1486(2025)02-0117-12

mRNA therapy: a new era in modern medical therapy

LUO Qiusi, XIAO Yuling, HONG Xuechuan*

School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract: mRNA therapy has demonstrated significant potential in the contemporary medical field. However, it is still meeting many challenges due to the instability of mRNA molecules and low delivery efficiency. Since the successful development and widespread application of the novel coronavirus mRNA vaccine, mRNA therapy has emerged as one of the most groundbreaking treatments for various diseases, leveraging its unique technical advantages and application flexibility. To comprehensively understand the progress in mRNA therapy, this paper first introduces the fundamental concepts and key technologies. It then summarizes the research achievements of mRNA therapy in infectious disease prevention, cancer treatment, protein replacement therapy, and gene editing. Finally, it analyzes the obstacles encountered by mRNA therapy, aiming to provide comprehensive theoretical references and practical guidelines for future research and clinical applications.

Keywords: mRNA therapy; mRNA modification; lipid nanoparticles; infectious diseases; cancer treatment; protein replacement therapy

0 引言

卡塔琳·考里科(Katalin Karikó)和德鲁·韦斯曼(Drew Weissman)因在核苷酸碱基修饰方面的开创性发现,获得 2023 年诺贝尔生理学或医学奖,这为 mRNA 技术的广泛应用奠定了基础。自 1961 年首次发现 mRNA 以来^[1],科学界对其发展的关注持续

增加。COVID-19 mRNA 疫苗的成功推出再次激发了公众对 mRNA 疗法的浓厚兴趣^[2-3]。除了在疫苗领域的应用, mRNA 技术在治疗多种疾病方面也展现出巨大的潜力。这包括癌症、遗传性疾病以及其他传染病的治疗。尽管目前 mRNA 疗法在稳定性和递送效率方面面临挑战,但其作为一种前景广阔的治疗策略,已被广泛认可。未来,随着技术的进

*通信作者

基金项目:国家自然科学基金(22477129)

收稿日期:2024-12-27;修回日期:2025-02-05

步和研究的深入,mRNA有望在个性化医疗和精准治疗中发挥更重要的作用。

1 mRNA疗法的基本概念

信使RNA(Messenger RNA,mRNA)是一类由DNA链作为模板转录出的一种单链核糖核酸,携带遗传信息并指导蛋白质合成。通常情况下,mRNA的分子量较大($10^4\sim 10^6$ Da),由于其核糖-磷酸骨架,使得mRNA整体带有大量负电荷。mRNA技术疗法是一种新兴的治疗方法,通过将体外合成的mRNA递送至人体中,指导细胞合成特定蛋白质,以预防或治疗由于关键蛋白质缺陷引起的疾病。mRNA疗法便于大规模合成和纯化,生产成本较低,安全性高,不易引起基因突变,也无需进入细胞核进行转染^[4]。这些特点赋予其巨大的医学应用潜力。

1978年,体外合成的mRNA首次被递送至细胞内^[5],这使得mRNA成为可能的治疗药物。1990年,裸mRNA作为潜在治疗分子被注射到小鼠肌肉中^[6],为体内mRNA表达作为治疗工具奠定基础,mRNA疗法逐渐受到关注。1993年,弗雷德里克·马蒂农(Frédéric Martinon)等人首次开发了针对流感病毒核蛋白的mRNA纳米颗粒递送系统^[7]。1995年,罗伯特·康利(Robert Conry)等人开发了首款编码癌症抗原的mRNA疫苗^[8]。2009年,首个mRNA癌症疫苗进入临床试验阶段^[9]。2020年,mRNA新冠疫苗成功研发,并获得FDA紧急使用授权,迅速进入临床试验^[10],标志着mRNA疗法的高速发展新时代。

2 mRNA疗法的关键技术

mRNA疗法的核心环节是经由体外转录(IVT)技术来构建mRNA序列。体外条件下以线性质粒DNA为模板,利用噬菌体RNA聚合酶转录催化合成mRNA转录物。IVT mRNA结构包括5'端帽子、5'端非翻译区、编码目标蛋白的开放阅读框、3'端非翻译区及Poly(A)尾巴^[11]。但如此生成的未加修饰的IVT mRNA分子,在临床实践中暴露出免疫原性偏高以及细胞内递送效率低下的弊端^[12]。mRNA疗法于临床应用场景中斩获成功,很大程度上仰仗于两个核心领域所达成的突破性进展。在降低免疫原性方面,运用化学修饰等相关策略对IVT mRNA进行优化处理,能够显著削弱其在机体内引发免疫反应的风险。与此同时,在提升递送效率领域,着力开发脂质纳米颗粒(LNP)等先进的高效递送系统,

从而为mRNA精准抵达细胞内部并发挥作用开辟了有效通道。正是这两大关键技术的发展,推动了mRNA疗法逐步走向成熟,使之有望成为极具潜力与广阔前景的疾病治疗新路径。

2.1 mRNA修饰降低免疫原性

在机体对外来病原体(如病毒)的自然免疫过程中,先天免疫系统通过特异性模式识别受体(PRRs)感知多种病原体相关分子模式(PAMPs),其中两种类型是Toll样受体(TLRs)和RIG-I样受体(RLR)^[13]。未经修饰的IVT mRNA可能含有双链区域,能够激活TLR信号通路,上调促炎因子,例如结合并调节Toll样受体3(TLR3)的表达,从而激活NF- κ B,导致IL-6、IL-12和肿瘤坏死因子的产生增加^[14-15]。还可能通过RLR识别受体触发免疫反应,无法实现有效翻译^[16-19]。此外,体外转录过程不仅产生所需的全长ssRNA,还产生dsRNA副产物,ssRNA和dsRNA均可通过上述途径诱导免疫应答^[20]。

在IVT mRNA迈向临床应用的进程中,消除其免疫原性,保证药物的安全性极其重要。mRNA修饰可以通过绕过免疫激活途径来消除合成mRNA分子的免疫原性。核苷酸碱基通过假尿嘧啶(ψ)、5-甲基胞苷、N6-甲基腺苷等修饰可以阻碍TLRs的识别,从而逃过免疫系统的监视。卡塔琳·考里科和德鲁·韦斯曼正是因为其在mRNA修饰与稳定性优化上的突破而获得诺贝尔生理学或医学奖。他们发现mRNA注射到小鼠体内会产生较大的炎症反应,随后发现引入核苷甲基化和伪尿苷等化学修饰,可逃逸机体的免疫防御机制,从而消除严重炎症反应^[21]。核苷修饰使IVT mRNA更类似于天然mRNA,降低其被免疫系统识别为外来物质的可能性。自那以后,核苷修饰在开发免疫耐受和有效的治疗性mRNA应用方面发挥了重要作用。例如,针对黑色素瘤的mRNA疫苗^[22]以及COVID-19 mRNA疫苗^[23]。然而,这种核苷修饰相对昂贵,并在序列设计中增加了额外限制。除此之外,纯化IVT mRNA去除dsRNA杂质也能抑制其免疫原性。研究表明,利用反相高效液相色谱(RP-HPLC)纯化IVT mRNA后炎症反应减少,同时还能提高其翻译效率^[24]。对mRNA进行5'端加帽和3'端加尾也是常用的mRNA修饰手段。5'端帽子是mRNA与核糖体结合的必要部分,对5'端帽结构的修饰可以保护mRNA免受5'-外切酶的降解;此外,mRNA降解从Poly(A)尾的水解开始,从3'端向5'端方向进行^[25]。Poly(A)尾与5'端帽子具有协同作用,5'端加帽和3'端添加poly(A)

尾不仅可以降低免疫原性,还能增强 mRNA 稳定性^[26-27]。通过合理利用并优化这些天然存在的 mRNA 修饰,可以显著提升其稳定性和翻译效率,同时降低 IVT mRNA 的免疫原性,为 mRNA 疗法的发展奠定了坚实的基础,对 mRNA 的临床转化具有重要意义。

2.2 递送平台提升递送效率

mRNA 的递送过程可概括为三个过程:靶向递送至特定细胞、跨越细胞屏障和 mRNA 释放。裸 mRNA 由于其较大的尺寸和负电荷,难以快速穿越细胞膜,而且 mRNA 易被人体的核酸酶降解,极不稳定。因此,高效的递送系统对于促进 mRNA 的递送、增强细胞摄取并实现特定细胞类型或组织的靶向表达至关重要。mRNA 的包封可通过静电相互作用、氢键或配位相互作用的机制来实现,利用微流体混合、薄膜水化合或纳米沉淀等方法进行制备。目前,多种材料已被应用于 mRNA 递送,例如脂质^[28]、类脂材料^[29]、聚合物^[30]、无机材料^[31]、细胞膜、混合体系^[32]等。mRNA 通过疏水相互作用、静电吸引和范德华力等被封装至递送载体中。

2.2.1 脂质纳米颗粒

基于脂质的递送系统包括胶束、脂质体和脂质纳米颗粒(LNP)。其中 LNP 被认为是目前最有前景的递送平台,已被证明可以有效地包裹 mRNA 分子并保护它们免受降解,使它们能够进入细胞并发挥其治疗功能;此外,LNP 可以通过允许内体逃逸、细胞摄取和药物释放来克服几种生物屏障,从而增强 mRNA 的治疗效果。LNP 的出现,是安全、有效和稳定递送 mRNA 的重要突破^[33]。

经典的 LNP 配方包括阳离子或可电离脂质、聚乙二醇脂质、胆固醇和辅助脂质^[34],这些成分共同影响 LNP 的活性和稳定性。早期的阳离子脂质的特点是具有带有正电荷的季铵基团,例如 DOTMA(N -[1-(2,3-二油烯氧基)丙基]- N,N,N -三甲基氯化铵)和 DOTAP(二油酰基-三甲基氯化铵),可以通过静电相互作用与带负电荷的 mRNA 络合^[35]。虽然阳离子脂质在早期得到了广泛研究,但其仍存在较多问题,例如细胞毒性较大,且转染效率不高,血液循环时间相对较短等^[36]。随着 mRNA 疗法研究的发展,科研人员开发了各种新型可电离脂质。可电离脂质通常包含一个氨基头部结构和疏水尾链,并且头尾之间为连接链结构。与含有永久带正电荷的极性头部基团的阳离子脂质不同,可电离脂质可经历 pH 响应性电荷变化,在酸性条件下带正

电荷,与带负电的 mRNA 结合形成复合物,并通过透析除去有机溶剂。mRNA-LNP 在透析缓冲液中带中性电荷,从而形成稳定的脂质纳米粒,有利于纳米颗粒后续在体内完成内体逃逸及核酸释放。LNPs 通过内吞进入细胞后,会被转运至早期内体,这些内体随后成熟为晚期内体乃至溶酶体。核内体的酸性环境会帮助可电离脂质质子化,与疏水烷基链形成锥形结构,导致膜损伤,促进核酸释放^[36]。或是通过“质子海绵效应”增加膜电位,氯离子内流,进一步增加核内体内部的渗透压,导致内体破裂,实现 mRNA 的释放^[37]。目前临床批准的 mRNA-LNPs 中的可电离脂质分别为 ALC-0315、SM-102 和 DLin-MC3-DMA,分别用于 BNT162b2、mRNA-1273 和 patisiran^[38]。除了可电离脂质,其他组分也在 LNP 的自组装和活性中发挥着重要作用。聚乙二醇脂质的掺入选择性地影响了纳米颗粒的大小、体内分布和转移效率,胆固醇具有稳定结构促进内体逃逸的作用,磷脂有助于包裹 mRNA,增强了 LNP 载体的稳定性。随着研究人员对核酸生物学和 LNP 工程学的理解不断加深,mRNA 药物的药代动力学和药效学得到了显著改善。

2.2.2 聚合物纳米颗粒

聚合物纳米颗粒是另一种成功的递送系统,在基于 mRNA 的治疗中具有相当大的潜力。一般而言,聚合物复合物主要凭借疏水相互作用、静电吸引以及存在于溶剂、核酸和聚合物之间的范德华力来实现自组装过程。在早期阶段,阳离子聚合物如聚乙烯亚胺(PEI)、聚氨基胺(PAMAM)和聚赖氨酸(PLL)引起了科学家们极大的兴趣^[39]。其中,PEI 是研究最广泛的阳离子聚合物之一,其独特的结构使得聚合物网格在各种 pH 水平下均能发挥质子海绵作用,因此递送能力较强。另一种阳离子聚合物材料 PAMAM 是一种树突状大分子,在细胞和活体动物实验中都显示出出色的递送效果。尽管阳离子聚合物有望成为体内应用的有效候选物,但潜在的毒性问题可能会限制其进一步发展^[40]。为解决与阳离子聚合物介导的 mRNA 治疗相关的潜在细胞毒性,研究人员已将阴离子成分如聚乳酸共乙醇酸(PLGA)和聚乙二醇纳入配方制备过程中。研究结果表明使用由 PLGA 和 PEI 组成的纳米颗粒在人单核细胞来源的树突状细胞中传递 GFP mRNA 后,该 PLGA/PEI 载体对树突状细胞无毒性作用。此外,与单组分载体相比,PEG/PEI 共聚物的掺入不仅消除了毒性,而且显著提高了转染效率^[41]。

与脂质纳米颗粒相比,聚合物在核酸治疗药物的开发中相对较少,主要是因为其分子复杂性和制造过程中的挑战。关键因素包括聚合物复合物的过度稳定性和靶向性。另有研究成果表明聚合物复合物过度稳定或许是一个缺点,可能会阻碍或限制基因在细胞内的有效释放^[42]。此外,靶向策略的通用性也阻碍了其临床转化和工业规模生产。总的来说,虽然利用聚合物进行 mRNA 传递显示出潜力,但需要进一步探索以克服这些挑战。

2.2.3 外泌体

外泌体具有优越的特性,包括高稳定性、低免疫原性以及优异的穿透细胞屏障能力,使其成为 mRNA 传递的另一有前景的载体。这些细胞外囊泡最初是在羊的网状细胞中发现的,其特征是具有大小在 50~100 nm 之间的脂质双层结构^[43]。大多数干细胞,在正常和病理条件下,都会释放外泌体,它们通过将基因或蛋白质传递给受体细胞,在促进细胞间通讯方面发挥着不可或缺的作用。常见的外泌体提取方法包括离心、免疫磁珠、色谱和微流控分离技术。最初,外泌体由于其特殊的生物相容性和良好的药代动力学特性,作为运输短链 RNA (siRNA 和 miRNAs) 的载体而受到关注^[44]。然而,该领域的进一步发展揭示了外泌体在递送更长的 mRNA 分子时的潜力。布雷克菲尔德(Breakefield)等人的突破性研究表明,外泌体通过将高斯荧光素酶报告基因整合到这些囊泡中,可以有效地递送和表达 mRNA。重要的是,他们观察到了受体细胞中外泌体携带的 mRNA 的有效翻译^[45]。有研究证实,外泌体可作为有效的 mRNA 递送载体,成功实现人促红细胞生成素(human Erythropoietin, hEPO) mRNA 在小鼠体内的递送,并显著提高了 mRNA 对核酸酶降解的抗性。值得注意的是,研究人员在小鼠多个器官组织和血浆中均检测到了 hEPO 蛋白的表达,这一发现证实了外泌体介导的 mRNA 递送系统具有良好的生物分布特性^[46]。外泌体递送平台不仅能够有效递送 mRNA,还能显著降低炎症相关细胞因子的表达水平,这为开发更安全的 mRNA 递送系统提供了新的思路。这些发现彰显了外泌体在保护有效载荷、调节免疫反应上的优势,或许可以作为 mRNA 递送的替代方案。

2.2.4 其他递送平台

除上述载体系统外,目前还存在多种替代性 mRNA 递送策略,包括阳离子纳米乳剂(Cationic nanoemulsions, CNEs)和混合递送系统等。CNEs

的概念最早于 1990 年引入,作为一种革命性的方法来改善核酸药物的输送。CNEs 利用强搅拌、超声和微流体等技术将阳离子脂质与纳米乳液结合在一起。这种整合允许有效地装载和递送 mRNA,同时也保护 mRNA 免受核酸酶介导的降解^[47]。CNEs 的一个显著例子是由诺华公司开发的 FDA 批准的流感疫苗佐剂 MF59,它由角鲨烯、聚山梨酯 80 和三油酸山梨糖酯组成,是一种有效的纳米乳液^[48]。

混合递送系统将多种材料结合在一起,旨在充分利用各个组件的优势特性。杂化载体的典型例子包括脂质聚合物纳米颗粒、氧化石墨-聚乙烯亚胺配合物以及有机/无机杂化纳米颗粒^[49]。相较于单一成分的系统,这些混合系统提供了更高的转染效率、生物相容性和稳定性。尤其值得注意的是脂质聚合物纳米颗粒,已经展现出作为 mRNA 递送载体的巨大潜力。脂质聚合物纳米颗粒由聚合物 mRNA 核心组成,外表面覆盖一层脂质层。这种修饰不仅提高了载体的稳定性和转染效率,还延长了在静脉注射后的循环时间,从而避免了被网状内皮系统吸收的情况。

3 mRNA 疗法的应用领域

与传统的蛋白质和 DNA 治疗相比, mRNA 药物具有更高的转染效率和更长的蛋白质表达时间。此外, mRNA 疗法在翻译过程中不会造成基因组整合的风险,使其成为一种更安全的选择^[50]。基于 mRNA 的治疗药物的出现为疾病治疗带来了令人鼓舞的进展。这些疗法被应用于治疗一系列疾病,涵盖传染性疾病、癌症、遗传性罕见病等。本节旨在全面介绍 mRNA 应用领域的最新进展。

3.1 预防传染病

在完成抗原编码的 mRNA 疫苗接种后,疫苗所携带的遗传信息促使目标抗原在宿主细胞的胞内环境中得以高效转译生成,此过程将有效激活机体的适应性免疫应答机制,从而诱导免疫细胞的特异性分化与功能成熟,包括但不限于 T 淋巴细胞的活化以及 B 淋巴细胞产生特异性抗体。如果后续宿主受到相应病原体的感染威胁,机体的免疫系统将凭借此前通过疫苗接种所建立的免疫记忆,迅速且精准地识别出入侵病原体的特异性抗原表位,有助于免疫系统的快速激活,实现对人体的免疫保护^[51]。

3.1.1 新冠病毒疫苗

mRNA 新冠疫苗已经成功地完成了 3 期临床试验,并获得了 FDA 的批准,得到了广泛应用。SARS-

CoV-2是COVID-19大流行的病原体,其包括刺突(S)、核衣壳(N)、膜(M)和包膜(E)蛋白等结构蛋白。在这些蛋白中,刺突(S)蛋白或受体结合域蛋白在帮助病毒进入宿主细胞方面起着至关重要的作用,因此被认为是潜在疫苗最有利的抗原靶点^[52-53]。例如,FDA批准的两种COVID-19 mRNA疫苗使用S蛋白作为抗原靶点。通过在S蛋白中用两个脯氨酸替代特定的氨基酸残基,稳定了蛋白质的预融合结构,从而产生了强大的免疫反应。这种稳定S蛋白的策略已被广泛应用于生产针对COVID-19大流行的多种mRNA疫苗。多种mRNA疫苗使用了改良的全长刺突mRNA和脂质体纳米递送系统,在肌肉注射后对SARS-CoV-2的保护效果高达95%^[53]。虽然两种mRNA疫苗在二次接种后显示出相当的保护效果,但它们的剂量存在显著差异。BNT162b2被批准为每剂量30 μg mRNA,而mRNA-1273则被批准为每剂量100 μg mRNA。这种剂量差异可能归因于LNP递送效率、mRNA序列优化以及化学修饰方法的不同。SYS6006是中国首个获得EUA的mRNA疫苗,由石药控股集团有限公司(CSPC)研发。SYS6006整合了SARS-CoV-2的S蛋白序列以及突出流行菌株的显著突变。在非人灵长类动物中,两剂SYS6006诱导了针对SARS-CoV-2以及其Delta和Omicron等变体的强大免疫反应^[54]。

3.1.2 流感病毒疫苗

COVID-19 mRNA疫苗的成功开发部分归功于对其他病毒的长期研究所积累的知识。流感病毒每年在全球造成大量死亡,流感病毒的多种蛋白质,包括神经氨酸酶(NA)、血凝素(HA)、离子通道基质蛋白2(M2)和核蛋白,已被确定为能够强烈诱导免疫反应的物质,因此它们成为疫苗开发中备受关注的靶点^[55]。例如,Moderna公司先前开发了一种表达流感血凝素的mRNA疫苗,并在健康个体中进行了I期临床研究。结果表明,肌肉注射100 μg的mRNA疫苗能够诱导高水平的免疫原性,同时对健康个体具有良好的耐受性和安全性^[56]。费尔德曼(Feldman)及其研究团队还开发了针对特定流感毒株的mRNA疫苗,包括H10N8和H7N9。这些疫苗在临床I期试验中均显示出良好的结果,能够引发强烈的免疫反应,并表现出良好的耐受性^[57]。

3.1.3 人类免疫缺陷病毒疫苗

获得性免疫缺陷综合征(Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS)依旧是全球范围内备受瞩目的重大健康问题,人类免疫缺陷病毒(HIV)持续对

全球一定数量的人口产生影响。据相关研究预估,至2030年,受HIV波及的人数有可能攀升至4 200万^[58]。尽管进行了数十年的研究,疫苗开发领域仍然面临挑战,主要原因是HIV包膜蛋白的抗原性质的多样性以及由糖类形成的密集保护屏障。然而,随着mRNA技术的蓬勃发展,对该病毒的治疗提供了希望。目前,已有若干种类HIV mRNA疫苗被成功研制出来,并正处于临床试验阶段。例如,eODGT8是一种包载mRNA-1644的纳米颗粒,mRNA-1644是一种RNA复制子,用于模拟HIV包膜的结合位点,从而激活特定的祖B细胞,促使机体产生具有广泛中和能力的抗体,有效对抗HIV病毒^[59]。2021年的第一次试验(NCT03547245)取得了令人鼓舞的结果,目前另外两项对eODGT8进行一些修改的试验(NCT05001373和NCT05414786)正在招募受试者。

3.2 治疗癌症

随着疫苗的不断改进,疫苗的使用模式发生了转变,不仅用于疾病预防,而且用于疾病治疗^[60]。治疗性疫苗的研究主要集中在癌症领域,编码肿瘤相关抗原、特异性抗原、抗体或受体的mRNA进入细胞质后翻译成蛋白质,训练人体免疫系统,进而诱导特定免疫反应,高特异性杀死癌细胞。目前,除了个性化肿瘤疫苗,联合免疫治疗、直接肿瘤细胞杀伤及肿瘤微环境改造都是mRNA疗法治疗癌症的主要策略,这些新兴疗法为癌症的治疗带来新的希望与可能,成为攻克癌症难题的有力候选手段。

3.2.1 个性化肿瘤疫苗

相较于DNA疫苗,mRNA不仅能够编码多种多样的抗原,甚至可以编码涵盖多种表位的完整抗原,而且还具备快速高效的制造能力。这些特质使得mRNA在治疗性疫苗领域展现出了巨大的潜力,尤其是在癌症疫苗方面,它有望启动并显著放大机体针对癌症的免疫反应,对患者肿瘤组织进行深度测序和生物信息学分析。肿瘤特异性抗原(TSA)是肿瘤细胞特有的突变抗原,具有高度的肿瘤特异性;肿瘤相关抗原(TAA)是在肿瘤细胞中高表达但在正常细胞中低表达或不表达的抗原。在抗原呈递细胞(APC)内,编码TAA或TSA的mRNA被翻译为抗原蛋白,这些抗原蛋白被加工处理后与主要组织相容性复合体(MHC)结合,形成MHC-抗原肽复合物并呈递到细胞表面。T细胞识别这些复合物后被激活,其中细胞毒性T淋巴细胞(CD8⁺ T细胞)能够直接识别并杀伤表达相应抗原的肿瘤细胞,辅

助性T淋巴细胞($CD4^+$ T细胞)则通过分泌细胞因子来调节免疫反应,增强免疫细胞的功能,如激活B细胞产生抗体,协同发挥抗肿瘤作用^[61]。例如,Lipo-MERIT疫苗将mRNA与阳离子脂质络合,靶向脾脏中的树突状细胞以激活T细胞免疫应答,基于该平台的编码黑色素瘤特异性TAAs的BNT111等疫苗已处于Ⅲ期临床研究^[62]。与TAA不同的是,TSA是由肿瘤细胞的突变产生的,因此不影响中枢免疫耐受,因为它们不在正常组织中表达^[63]。因此,TSA疫苗在癌症治疗方面极具吸引力。目前已研发出针对结直肠癌、膀胱癌、胰腺癌和其他实体肿瘤患者的治疗性TSA mRNA疫苗(NCT04534205、NCT03313778和NCT04503278)。

3.2.2 联合免疫治疗

免疫检查点蛋白(如PD-1、PD-L1)在肿瘤细胞或免疫细胞上表达,它们的相互作用会抑制T细胞的活性,使肿瘤细胞逃避机体的免疫监视。mRNA疗法可以与免疫检查点抑制剂联合使用。例如,mRNA可以编码一些能够增强T细胞激活信号的分子,如共刺激分子(如CD28、4-1BB等)的配体。当这些mRNA在APC或T细胞附近表达时,可以增强T细胞的激活,克服免疫检查点蛋白带来的抑制作用,提高抗肿瘤免疫反应。Moderna公司将mRNA-2752疫苗与抗PD-L1抗体durvalumab联用,临床结果显示具有良好的耐受性,并且肿瘤微环境免疫指标上调,具有抗肿瘤的潜力^[64]。

另一种联合免疫疗法是嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)疗法,CAR-T在血液系统肿瘤治疗中取得了显著成效。mRNA技术可以用于改进CAR-T疗法。在淋巴细胞(如T细胞或NK细胞)中用mRNA体外甚至体内生成CAR。早期的临床研究表明,mRNA转染的T细胞编码CAR可有效对抗表达相应抗原的癌细胞^[65]。受CAR-T细胞抗癌治疗效果的启发,一些针对不同肿瘤抗原的CAR-T产品已经开发出来,并在针对各种实体肿瘤的Ⅰ期和Ⅱ期临床试验(NCT03060356、NCT04981691)中进行了评估。

3.2.3 直接肿瘤细胞杀伤

利用纳米微粒等载体递送编码p53、PTEN等关键抑癌蛋白的mRNA,有望快速、大幅提高抑癌蛋白表达水平以有效抗癌。抑癌蛋白不仅本身有重要生理功能,还对肿瘤微环境有显著调节作用。有研究发现将p53 mRNA通过靶向肽修饰精准递送到小鼠的肝癌细胞中,同时与抗PD-1单抗联用,可

以实现小鼠肿瘤微环境重塑,对肝癌小鼠肿瘤具有显著抑制作用^[66]。

3.3 蛋白质替代治疗

对于一些由于基因缺陷导致蛋白质功能异常的疾病,常见于罕见病和遗传病,mRNA疗法可以通过表达正常的蛋白质来进行替代治疗。基于mRNA技术的蛋白质替代疗法已经取得重大进展,一些候选药物已经进入临床试验阶段^[67]。

AZD8601是一种表达血管内皮生长因子A(VEGF-A)的mRNA药物,目前正在进行临床试验评估(NCT03370887)。VEGF-A对于恢复心肌功能至关重要,因为它能够促进细胞增殖和血管生长。在这项临床试验中,阿斯利康有限公司和图尔库大学中心医院正在合作评估VEGF-A mRNA治疗对个体心脏健康的安全性和潜在的积极血管生成影响^[68]。先前的研究表明,将经过修饰的VEGF-mRNA注射到小鼠心肌中,可以诱导心肌细胞增殖和定向分化,从而改善小鼠心功能,并提高小鼠的存活率。值得注意的是,经过修饰的VEGF-mRNA还可能加速糖尿病伤口的愈合。在C57BL/6糖尿病小鼠模型中,与仅使用PBS的对照组相比,使用LNP/VEGF-A制剂治疗的伤口表现出明显的好转。治疗14天后,治疗组的平均创面面积为2.4%,而对照组为21.4%^[69]。

蛋白质替代疗法典型的例子是分别利用凝血因子Ⅷ、Ⅸ(FVIII、FIX)治疗A型、B型血友病。血友病是一种由于凝血因子缺乏或异常引起的出血性疾病,根据具体凝血因子的缺乏情况可分为A型血友病和B型血友病。在实验性严重血友病A模型中,罗西克(Russick)等人对FVIII基因敲除小鼠模型进行了单次注射mRNA-LNP制剂,编码因子Ⅷ(FVIII),以改善出血症状。与PBS组相比,实验组表现出足够的FVIII水平,出血症状明显改善^[70]。另一项研究利用可靠有效的LNP传递平台,传递由Ⅸ因子(FIX)缺乏引起的血友病B的相关mRNA。综合细胞因子和肝酶分析证实了多次给药mRNA-LNP制剂的安全性^[71]。

脑源性神经营养因子(BDNF)是一种内源性蛋白质,具有神经保护和促进神经系统发育的作用^[72]。BDNF的缺乏与多种神经退行性疾病相关联,因此基于mRNA的技术被视为这些疾病的潜在治疗方法。福岛(Fukushima)等人进行了一项研究,旨在对基于mRNA的治疗能否防止短暂性全脑缺血(TGI)动物模型中的神经元死亡进行可行性评估。在他们的研究中,他们将编码BDNF的mRNA封装

在基于聚合物的载体中,并通过脑室给药。通过这种方法,他们观察到海马区域内BDNF水平显著升高,从而有助于提高海马区域神经元的存活率。此外,与未接受治疗的大鼠相比,在连续给药第2天和第5天后,在第20天进行的Y迷宫行为测试中观察到长期治疗效果的改善,这证明了空间记忆的提高^[73]。

3.4 基因编辑

基因组编辑是一种精确的技术,可以对生物体的基因进行有针对性地改变,在疾病治疗、药物开发和作物育种方面有着广泛的应用。人工核酸内切酶的快速发展使这项技术成为可能,包括锌指核酸酶、转录激活物样效应核酸酶和CRISPR/Cas核酸酶系统^[74-75]。其中,CRISPR/Cas核酸酶系统因其高效、便捷而被广泛使用。使用基于mRNA的基因组编辑技术正在成为Cas9蛋白表达DNA的有吸引力的替代品。这在很大程度上归因于mRNA不需要进入核,并且具有相对较快的翻译速度。此外,mRNA的表达是短暂的,这有助于减少与CRISPR系统相关的脱靶效应。杜氏肌营养不良症是一种罕见的致死性遗传性神经肌肉疾病,由编码抗肌肉萎缩蛋白的基因突变引起。据报道,全世界每3 500至5 000名新生儿中就有1名患有杜氏肌营养不良症^[76-77]。患有这种疾病的患者肌肉细胞不能产生功能正常的肌萎缩蛋白,导致肌肉无力、肌肉萎缩和发育迟缓等症状。基于mRNA的基因组编辑疗法在治疗杜氏肌营养不良症方面显示出了巨大的希望。在最近的一项研究中,一种具有三个流体动力尾巴的创新LNP平台被开发出来,用于运输sgRNA和Cas9 mRNA,用于治疗杜氏肌营养不良,优于使用AAV载体作为的对照。研究表明,肢体静脉输注可诱导各肌群基因组外显子跳跃和肌营养不良蛋白的恢复,为肌肉萎缩患者的康复提供了希望^[78]。

4 总结

自FDA批准BNT162b2和mRNA-1273用于对抗COVID-19以来,mRNA疗法获得了巨大的发展势头,并吸引了广泛的科学研究。本文主要从三个方面进行综述。首先,我们简略介绍了mRNA疗法的基本概念。在第二部分中,我们深入研究了mRNA疗法的关键技术,包括mRNA的修饰以及递送平台的开发。重点讨论了传递系统的广泛探索,包括脂质、聚合物、外泌体和其他载体。此外,我们还对不同的递送系统的优劣进行了比较。最后,我们讨论了先进mRNA技术在各个生物学领域的

重要应用价值,重点介绍了其在传染病、癌症治疗、蛋白质替代疗法和基因编辑方面的应用。我们旨在为mRNA治疗的当下发展态势提供兼具深度与广度的洞察视角。从基础理论到前沿技术,全方位剖析mRNA疗法的核心要素,力求精准揭示工程化mRNA在结构优化、递送系统以及生物医学应用领域的最新研究进展与突破,希望为mRNA的进一步深入研究提供一些帮助。

尽管最近取得了显著的进展,但目前mRNA疗法仍然面临着许多挑战。例如mRNA递送平台的靶向性问题。虽然目前已有研究发现可以通过优化LNP的脂质组成、粒径、表面修饰等方式提高被动靶向效率,或是通过加入主动靶向分子的方式提高主动靶向性^[79-81],但是多数纳米颗粒的整体肿瘤靶向效率不到1%^[82],这对mRNA纳米颗粒的临床转化造成了严重阻碍。如何提高mRNA递送平台的递送效率仍然是未来需要解决的重要问题之一。

其次,mRNA疗法递送系统仍然面临一定的局限性。快速开发和筛选mRNA传递材料对于推动临床翻译至关重要。然而,传统的材料开发方法涉及费力和昂贵的化学合成方法。为了应对这一挑战,未来的发展趋势可能会强调高通量技术、快速合成、简单的合成步骤、无保护/去保护反应、无催化剂工艺和无纯化等要求。此外,近年来涉及mRNA治疗的大多数临床试验使用四组脂质纳米载体,这些面临着现有专利的严重限制。幸运的是,这些成分可以被进一步优化和修饰,在保证递送效率、免疫原性和安全性的同时,可以在四组分的基础上探索新的三组分、双组分或者是单组分递送系统。

最后,mRNA制剂的给药途径、稳定性和安全性至关重要。目前mRNA疫苗采用多种给药途径,包括肌肉注射、皮下注射、鼻内给药、肿瘤内注射、静脉给药等。给药途径显著影响mRNA药物的吸收率、疗效、代谢及其带来的副作用,因此有必要根据具体疾病确定最合适的给药途径。此外,mRNA疫苗通常需要低温储存,这阻碍了它们在资源有限地区的应用。在这种情况下,探索mRNA疫苗开发的稳定性和长期保存性是一个很有前景的研究方向。此外,mRNA技术的安全性也是公众关注的问题。据报道,mRNA疫苗的常见副作用包括注射部位反应、疲劳和头痛,同时还必须注意心肌炎和其他过敏反应。通过对mRNA结构和传递原理的优化,可以减轻mRNA治疗的副作用,提高治疗的安全性。

尽管目前mRNA疗法仍处于发展阶段,面临着

诸多挑战,但随着医学科学的持续进步与多学科的深度融合,我们有充分的理由对其未来发展充满信心。相信在不久的将来,mRNA疗法能够实现对难治性癌症以及基因疾病的有效治疗。通过优化递送系统,提高 mRNA 在肿瘤组织或病变细胞中的靶向富集效率,结合精准的基因编辑技术,实现对癌症驱动基因或致病基因的精准干预。同时,借助先进的生物信息学和结构生物学技术,深入解析 mRNA 与生物体内环境的相互作用机制,进一步提升 mRNA 的稳定性和安全性。这些技术的协同发展将助力 mRNA 疗法实现更大突破,为挽救人类生命、改善全球健康状况做出不可估量的贡献,开启生物医药领域的全新篇章。

参考文献:

- [1] BRENNER S, JACOB F, MESELSON M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis[J]. *Nature*, 1961, 13(190): 576-581. DOI:10.1038/190576a0.
- [2] HOU X, ZAKS T, LANGER R, *et al.* Lipid nanoparticles for mRNA delivery [J]. *Nat Rev Mater*, 2021, 6(12): 1078-1094. DOI:10.1038/s41578-021-00358-0.
- [3] HUANG X, KONG N, ZHANG X, *et al.* The landscape of mRNA nanomedicine[J]. *Nat Med*, 2022, 28(11): 2273-2287. DOI: 10.1038/s41591-022-02061-1.
- [4] ZONG Y, LIN Y, WEI T, *et al.* Lipid nanoparticle (LNP) enables mRNA delivery for cancer therapy[J]. *Adv Mater*, 2023, 35(51): e2303261. DOI: 10.1002/adma.202303261.
- [5] DIMITRIADIS G J. Translation of rabbit globin mRNA introduced by liposomes into mouse lymphocytes [J]. *Nature*, 1978, 274(5674): 923-924. DOI: 10.1038/274923a0.
- [6] WOLFF J A, MALONE R W, WILLIAMS P, *et al.* Direct gene transfer into mouse muscle in vivo[J]. *Science*, 1990, 247(4949 Pt 1): 1465-1468. DOI: 10.1126/science.1690918.
- [7] MARTINON F, KRISHNAN S, LENZEN G, *et al.* Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA[J]. *Eur J Immunol*, 1993, 23(7): 1719-1722. DOI: 10.1002/eji.1830230749.
- [8] CONRY R M, LOBUGLIO A F, WRIGHT M, *et al.* Characterization of a messenger RNA polynucleotide vaccine vector[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(7): 1397-1400.
- [9] WEIDE B, PASCOLO S, SCHEEL B, *et al.* Direct injection of protamine-protected mRNA: results of a phase 1/2 vaccination trial in metastatic melanoma patients[J]. *J Immunother*, 2009, 32(5): 498-507. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181a00068.
- [10] BADEN L R, E L SAHLY H M, ESSINK B, *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(5): 403-416. DOI: 10.1056/NEJMoa2035389.
- [11] GU J, XU Z, LIU Q, *et al.* Building a better silver bullet: current status and perspectives of non-viral vectors for mRNA vaccines [J]. *Cancer Res Treat*, 2024, 56(3): 774-784. DOI: 10.4143/crt.2023.1177.
- [12] HUANG X, KONG N, ZHANG X, *et al.* The landscape of mRNA nanomedicine[J]. *Nat Med*, 2022, 28(11): 2273-2287. DOI: 10.1038/s41591-022-02061-1.
- [13] CHAUDHARY N, WEISSMAN D, WHITEHEAD K A. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(11): 817-838. DOI: 10.1038/s41573-021-00321-2.
- [14] ALEXOPOULOU L, HOLT A C, MEDZHITOV R, *et al.* Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3[J]. *Nature*, 2001, 413(6857): 732-738. DOI: 10.1038/35099560.
- [15] KARIKÓ K, NI H, CAPODICI J, *et al.* mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12542-12550. DOI: 10.1074/jbc.M310175200.
- [16] MU X, HUR S. Immunogenicity of In Vitro-Transcribed RNA[J]. *Acc Chem Res*, 2021, 54(21): 4012-4023. DOI: 10.1021/acs.accounts.1c00521.
- [17] SCHLAKE T, THESS A, FOTIN-MLECZEK M, *et al.* Developing mRNA-vaccine technologies [J]. *RNA Biol*, 2012, 9(11): 1319-1330. DOI: 10.4161/rna.22269.
- [18] VERBEKE R, LENTACKER I, DE SMEDT S C, *et al.* Three decades of messenger RNA vaccine development[J]. *Nano Today*, 2019, 28: 100766. DOI: 10.1016/j.nantod.2019.100766.
- [19] VIERBUCHEN T, STEIN K, HEINE H. RNA is taking its Toll: Impact of RNA-specific Toll-like receptors on health and disease[J]. *Allergy*, 2019, 74(2): 223-235. DOI: 10.1111/all.13680.
- [20] KAWAI T, AKIRA S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1143(1): 1-20. DOI: 10.1196/annals.1443.020.
- [21] KARIKÓ K, MURAMATSU H, WELSH F A, *et al.* Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased transla-

- tional capacity and biological stability[J]. *Mol Ther*, 2008, 16(11): 1833-1840. DOI: 10.1038/mt.2008.200.
- [22] WANG Y, ZHANG L, XU Z, *et al.* mRNA vaccine with antigen-specific checkpoint blockade induces an enhanced immune response against established melanoma[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 420-434. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.11.009.
- [23] NANCE K D, MEIER J L. Modifications in an emergency: the role of N1-methylpseudouridine in COVID-19 vaccines[J]. *ACS Cent Sci*, 2021, 7(5): 748-756. DOI: 10.1021/acscentsci.1c00197.
- [24] KARIKÓ K, MURAMATSU H, LUDWIG J, *et al.* Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(21): e142. DOI: 10.1093/nar/gkr695.
- [25] CHEN C Y A, SHYU A B. Rapid deadenylation triggered by a nonsense codon precedes decay of the RNA body in a mammalian cytoplasmic nonsense-mediated decay pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(14): 4805-4813. DOI: 10.1128/MCB. 23.14.4805-4813. 2003.
- [26] HOLTKAMP S, KREITER S, SELMI A, *et al.* Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells[J]. *Blood*, 2006, 108(13): 4009-4017. DOI: 10.1182/blood-2006-04-015024.
- [27] BEDNAREK S, MADAN V, SIKORSKI P J, *et al.* mRNAs biotinylated within the 5' cap and protected against decapping: new tools to capture RNA-protein complexes[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2018, 373(1762): 20180167. DOI: 10.1098/rstb. 2018.0167.
- [28] AUGUST A, ATTARWALA H Z, HIMANSU S, *et al.* A phase 1 trial of lipid-encapsulated mRNA encoding a monoclonal antibody with neutralizing activity against Chikungunya virus[J]. *Nat Med*, 2021, 27(12): 2224-2233. DOI: 10.1038/s41591-021-01573-6.
- [29] MCKINLAY C J, BENNER N L, HAABETH O A, *et al.* Enhanced mRNA delivery into lymphocytes enabled by lipid-varied libraries of charge-altering releasable transporters[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(26): E5859-E5866. DOI: 10.1073/pnas. 1805358115.
- [30] CAPASSO PALMIERO U, KACZMAREK J C, FENTON O S, *et al.* Poly (β -amino ester)-co-poly (caprolactone) Terpolymers as Nonviral Vectors for mRNA Delivery In Vitro and In Vivo[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(14): 1800249. DOI: 10.1002/adhm. 201800249.
- [31] WANG Y, TANG J, YANG Y, *et al.* Functional Nanoparticles with a Reducible Tetrasulfide Motif to Upregulate mRNA Translation and Enhance Transfection in Hard-to-Transfect Cells[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 132(7): 2717-2721. DOI: 10.1002/anie.201914264.
- [32] KONG N, ZHANG R, WU G, *et al.* Intravesical delivery of KDM6A-mRNA via mucoadhesive nanoparticles inhibits the metastasis of bladder cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(7): e2112696119. DOI: 10.1073/pnas.2112696119.
- [33] HOU X, ZAKS T, LANGER R, *et al.* Lipid nanoparticles for mRNA delivery[J]. *Nat Rev Mater*, 2021, 6(12): 1078-1094. DOI: 10.1038/s41578-021-00358-0.
- [34] JEONG M, LEE Y, PARK J, *et al.* Lipid nanoparticles (LNPs) for in vivo RNA delivery and their breakthrough technology for future applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2023, 200: 114990. DOI: 10.1016/j.addr.2023.114990
- [35] AKINC A, MAIER M A, MANOHARAN M, *et al.* The Onpattro story and the clinical translation of nanomedicines containing nucleic acid-based drugs[J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14(12): 1084-1087. DOI: 10.1038/s41565-019-0591-y.
- [36] ALBERTSEN C H, KULKARNI J A, WITZIGMANN D, *et al.* The role of lipid components in lipid nanoparticles for vaccines and gene therapy[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 188: 114416. DOI: 10.1016/j.addr.2022. 114416.
- [37] CHATTERJEE S, KON E, SHARMA P, *et al.* Endosomal escape: A bottleneck for LNP-mediated therapeutics[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2024, 121(11): e2307800120. DOI: 10.1073/pnas.2307800120.
- [38] KON E, ELIA U, PEER D. Principles for designing an optimal mRNA lipid nanoparticle vaccine[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2022, 73: 329-336. DOI: 10.1016/j.copbio.2021.09.016.
- [39] YANG W, MIXICH L, BOONSTRA E, *et al.* Polymer-based mRNA delivery strategies for advanced therapies[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(15): 2202688. DOI: 10.1002/adhm.202202688.
- [40] TARACH P, JANASZEWSKA A. Recent advances in preclinical research using PAMAM dendrimers for cancer gene therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 2202688.

2912. DOI: 10.3390/ijms22062912.
- [41] O' BRIEN K, BREYNE K, UGHETTO S, *et al.* RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(10): 585-606. DOI: 10.1038/s41580-020-0251-y.
- [42] VALADI H, EKSTRÖM K, BOSSIOS A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-659. DOI: 10.1038/ncb1596.
- [43] SKOG J, WÜRDINGER T, VAN RIJN S, *et al.* Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(12): 1470-1476. DOI: 10.1038/ncb1800.
- [44] MAUGERI M, NAWAZ M, PAPADIMITRIOU A, *et al.* Linkage between endosomal escape of LNP-mRNA and loading into EVs for transport to other cells[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4333. 2019;10(1):4333. DOI: 10.1038/s41467-019-12275-6.
- [45] SAMSA M M, DUPUY L C, BEARD C W, *et al.* Self-amplifying RNA vaccines for Venezuelan equine encephalitis virus induce robust protective immunogenicity in mice[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(4): 850-865. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.12.013.
- [46] O'HAGAN D T, OTT G S, DE GREGORIO E, *et al.* The mechanism of action of MF59-an innately attractive adjuvant formulation[J]. *Vaccine*, 2012, 30(29): 4341-4348. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.09.061.
- [47] GÓMEZ-AGUADO I, RODRÍGUEZ-CASTEJÓN J, VICENTE-PASCUAL M, *et al.* Nanomedicines to deliver mRNA: state of the art and future perspectives[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(2): 364. DOI: 10.3390/nano10020364.
- [48] HUANG Q, JI K, TIAN S, *et al.* A single-dose mRNA vaccine provides a long-term protection for hACE2 transgenic mice from SARS-CoV-2[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 776. DOI: 10.1038/s41467-021-21037-2.
- [49] SZABÓ G T, MAHINY A J, VLATKOVIC I. COVID-19 mRNA vaccines: Platforms and current developments[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(5): 1850-1868. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.02.016.
- [50] LAURINI G S, MONTANARO N, BROCCOLI M, *et al.* Real-life safety profile of mRNA vaccines for COVID-19: an analysis of VAERS database[J]. *Vaccine*, 2023, 41(18): 2879-2886. DOI: 10.1016/j.vaccine.2023.03.054.
- [51] IAVARONE C, O'HAGAN D T, YU D, *et al.* Mechanism of action of mRNA-based vaccines[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2017, 16(9): 871-881. DOI: 10.1080/14760584.2017.1355245.
- [52] KEEHNER J, HORTON L E, PFEFFER M A, *et al.* SARS-CoV-2 infection after vaccination in health care workers in California[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(18): 1774-1775. DOI: 10.1056/NEJMc2101927.
- [53] XU K, LEI W, KANG B, *et al.* A novel mRNA vaccine, SYS6006, against SARS-CoV-2[J]. *Front Immunol*, 2023, 13: 1051576. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1051576.
- [54] LIANG F, LINDGREN G, LIN A, *et al.* Efficient targeting and activation of antigen-presenting cells in vivo after modified mRNA vaccine administration in rhesus macaques[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(12): 2635-2647. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.08.006.
- [55] FREYN A W, DA SILVA J R, ROSADO V C, *et al.* A multi-targeting, nucleoside-modified mRNA influenza virus vaccine provides broad protection in mice[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(7): 1569-1584. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.04.018.
- [56] BAHL K, SENN J J, YUZHAKOV O, *et al.* Pre-clinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(6): 1316-1327. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.03.035.
- [57] FELDMAN R A, FUHR R, SMOLENOV I, *et al.* mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials[J]. *Vaccine*, 2019, 37(25): 3326-3334. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.04.074.
- [58] DYBUL M, ATTOYE T, BAPTISTE S, *et al.* The case for an HIV cure and how to get there[J]. *Lancet HIV*, 2021, 8(1): e51-e58. DOI: 10.1016/S2352-3018(20)30232-0.
- [59] SAIED A R A. mRNA vaccines and clinical research in Africa-From hope to reality[J]. *Int J Surg*, 2022, 105: 106833. DOI: 10.1016/j.ijsu.2022.106833.
- [60] BRISSE M, VRBA S M, KIRK N, *et al.* Emerging concepts and technologies in vaccine development[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 583077. DOI: 10.3389/fimmu.2020.583077.
- [61] LIU C, SHI Q, HUANG X, *et al.* mRNA-based cancer therapeutics[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(8): 526-543. DOI: 10.1038/s41568-023-00586-2.
- [62] BIONTECH S E. BioNTech receives FDA fast track

- designation for its FixVac candidate BNT111 in advanced melanoma. *GlobeNewswire*[EB/OL]. (2021-11-19)[2024-12-19]. <https://investors.biontech.de/news-releases/news-release-details/biontech-receives-fda-fast-track-designation-its-fixvac>.
- [63] BLASS E, OTT P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(4): 215-229. DOI: 10.1038/s41571-020-00460-2.
- [64] PATEL M R, BAUER T M, JIMENO A, *et al*. A phase I study of mRNA-2752, a lipid nanoparticle encapsulating mRNAs encoding human OX40L, IL-23, and IL-36 γ , for intratumoral (iTU) injection alone and in combination with durvalumab [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(15): 3092. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.3092.
- [65] REN J, LIU X, FANG C, *et al*. Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2255-2266. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1300.
- [66] XIAO Y, CHEN J, ZHOU H, *et al*. Combining p53 mRNA nanotherapy with immune checkpoint blockade reprograms the immune microenvironment for effective cancer therapy[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 758. DOI: 10.1038/s41467-022-28279-8.
- [67] ROHNER E, YANG R, FOO K S, *et al*. Unlocking the promise of mRNA therapeutics[J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(11): 1586-1600. DOI: 10.1038/s41587-022-01491-z.
- [68] ANTILA V, SARASTE A, KNUUTI J, *et al*. Direct intramyocardial injection of VEGF mRNA in patients undergoing coronary artery bypass grafting[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(3): 866-874. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.11.017.
- [69] ZHA W, WANG J, GUO Z, *et al*. Efficient delivery of VEGF-A mRNA for promoting diabetic wound healing via ionizable lipid nanoparticles[J]. *Int J Pharm*, 2023, 632: 122565. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122565.
- [70] RUSSICK J, DELIGNAT S, MILANOV P, *et al*. Correction of bleeding in experimental severe hemophilia A by systemic delivery of factor VIII-encoding mRNA[J]. *Haematologica*, 2019, 105(4): 1129. DOI: 10.3324/haematol.2018.210583.
- [71] LEE J H, HAN J P. In vivo LNP-CRISPR Approaches for the Treatment of Hemophilia[J]. *Mol Diagn Ther*, 2024, 28(3): 239-248. DOI: 10.1007/s40291-024-00705-1.
- [72] NAGAHARA A H, WILSON B R, IVASYK I, *et al*. MR-guided delivery of AAV2-BDNF into the entorhinal cortex of non-human primates [J]. *Gene Ther*, 2018, 25(2): 104-114. DOI: 10.1038/s41434-018-0010-2.
- [73] FUKUSHIMA Y, UCHIDA S, IMAI H, *et al*. Treatment of ischemic neuronal death by introducing brain-derived neurotrophic factor mRNA using polyplex nanomicelle[J]. *Biomaterials*, 2021, 270: 120681. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120681.
- [74] KAZEMIAN P, YU S Y, THOMSON S B, *et al*. Lipid-nanoparticle-based delivery of CRISPR/Cas9 genome-editing components [J]. *Mol Pharm*, 2022, 19(6): 1669-1686. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00916.
- [75] XU X, LIU C, WANG Y, *et al*. Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 176: 113891. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113891.
- [76] BERLING E, NICOLLE R, LAFORÊT P, *et al*. Gene therapy review: Duchenne muscular dystrophy case study[J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2023, 179(1-2): 90-105. DOI: 10.1016/j.neurol.2022.11.005.
- [77] PITRONE P, CATTAFI A, MAGNANI F, *et al*. Spontaneous transverse colon volvulus in a patient with Duchenne muscular dystrophy: An unreported complication[J]. *Radiol Case Rep*, 2023, 18(3): 1306-1310. DOI: 10.1016/j.rader.2022.12.062.
- [78] KENJO E, HOZUMI H, MAKITA Y, *et al*. Low immunogenicity of LNP allows repeated administrations of CRISPR-Cas9 mRNA into skeletal muscle in mice[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 7101. DOI: 10.1038/s41467-021-26714-w.
- [79] MAO X, WANG G, WANG Z, *et al*. Theranostic Lipid Nanoparticles for Renal Cell Carcinoma[J]. *Adv Mater*, 2023; 2306246. DOI: 10.1002/adma.202306246.
- [80] DILLIARD S A, SIEGWART D J. Passive, active and endogenous organ-targeted lipid and polymer nanoparticles for delivery of genetic drugs[J]. *Nat Rev Mater*, 2023, 8(4): 282-300. DOI: 10.1038/s41578-022-00529-7.
- [81] HERRERA-BARRERA M, RYALS R C, GAUTAM M, *et al*. Peptide-guided lipid nanoparticles deliver mRNA to the neural retina of rodents and nonhuman primates[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(2): eadd4623. DOI: 10.1126/sciadv.add4623.
- [82] XU M, QI Y, LIU G, *et al*. Size-dependent in vivo transport of nanoparticles: implications for delivery, targeting, and clearance[J]. *ACS nano*, 2023, 17(21): 20825-20849. DOI: 10.1021/acsnano.3c05853.



洪学传,男,武汉大学药学院二级教授,武汉大学药学院副院长,教育部长江特聘教授,英国皇家化学会会士,湖北省楚天学者特聘教授,武汉大学珞珈特聘教授。中国药学会第九和第十届药物化学专业委员会委员,中国药学会第一届智能药物专业委员会委员,中国药理学会分析药理学专业委员会常务理事。荣获2021年度西藏自治区科学技术奖一等奖;2022年度中华中医药学会科学技术奖二等奖。已在国内、国际核心化学期刊上发表相关论文包括 *Chem. Rev.*, *Nat. Mater.*, *Nat. Commun.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, *Chem. Sci.*, *J. Med. Chem.*, ESI高被引12篇,热点1篇。主持与参与国家基金委重大项目、国家自然科学基金项目、科技部重大研究计划、科技部重大专项病毒专项、国家留学基金委创新型人才国际合作培养项目-医药交叉学科复合型人才培养项目、湖北省重点研发计划项目,湖北省自然科学基金创新团队和湖北省重点产业创新团队等。Email:xhy78@whu.edu.cn

(责任编辑:张伟杰)