

· 药咖论坛 ·

mRNA 疫苗及 mRNA 递送技术的研究进展

李韵璐, 陆伟*

(复旦大学药学院 智能化递药教育部重点实验室 聚合物分子工程全国重点实验室, 上海 201203)

[摘要] 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 的大流行以空前速度推动了信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 疫苗的技术发展和临床应用, 使其从实验室概念跃升为全球流行病防控的关键工具之一。近年来, mRNA 疫苗的研究焦点已从单一的冠状病毒防御, 扩展至新型传染病防治、肿瘤靶向治疗及罕见病治疗等多种疾病治疗领域, 同时致力于突破递送效率、靶向能力及专利壁垒等关键技术瓶颈。重点从临床研究、临床前研究及递送技术 3 个方面, 综述 mRNA 疫苗的最新研究进展。

[关键词] mRNA 疫苗; 递送; 脂质纳米颗粒; 可电离脂质; 专利壁垒

[中图分类号] R392-33; R945 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2025) 10-0816-13

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.20250070

Research Advances in mRNA Vaccines and mRNA Delivery Technologies

LI Yunlu, LU Wei

(School of Pharmaceutical Sciences/ Key Laboratory of Smart Drug Delivery Ministry of Education/ State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Fudan University, Shanghai 201203, China)

[Abstract] The pandemic of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has driven the development and clinical application of messenger RNA (mRNA) vaccine technology at an unprecedented speed, elevating them from a laboratory concept to one of the key tools for global epidemic prevention and control. In recent years, the research focus of mRNA vaccines has expanded from single defense against coronaviruses to prevention and control of emerging infectious diseases, targeted therapy of tumors, and treatment of rare diseases. Meanwhile, efforts are being made to break through key technical bottlenecks such as delivery efficiency, targeting capability and patent barriers. This review summarizes recent advances in mRNA vaccine research from the perspectives of clinical studies, preclinical developments, and delivery techniques.

[Key words] mRNA vaccine; delivery; lipid nanoparticle; ionizable lipid; patent barrier

疫苗是一类旨在提高机体对特定病原体感染或特定疾病免疫力的生物制品, 其通过诱导机体产生免疫应答以预防或治疗疾病。其中, 信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 疫苗是将含有编码抗原蛋白的 mRNA 导入人体, 在体内进行翻译, 产生抗原蛋白, 从而激发免疫保护作用。mRNA 疫苗的发展历经多个阶段。1990 年 Wolff 团队首次证实裸露的 mRNA 在体内具备表达能力成为 mRNA 疫苗发挥免疫效应的理论基础^[1]。2005 年 Katalin Karikó 与 Drew Weissman 通过核苷碱基修饰解决了 mRNA 疫苗引发的过度免疫激活反应, 为 mRNA 疫苗的开发奠定基础, 二人也因此于 2023 年获得诺贝尔生理学或医学奖^[2]。2010 年后, 由可电离脂质、磷脂、胆固醇及聚乙二醇化脂质组成的脂质纳

米颗粒 (lipid nanoparticle, LNP) 技术逐渐成熟, 通过静电作用包封 mRNA, 最终成功应用于开发高效、安全的 mRNA 疫苗^[3]。2019 年严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 大流行, 以史无前例的紧迫性将 mRNA 疫苗技术推向了全球公共卫生应对策略的核心位置。mRNA 疫苗的核心优势在于快速的研发周期、高效的免疫应答能力和灵活的生产能力, 在应对 SARS-CoV-2 大流行中优势尽显。辉瑞与 BioNTech 公司联合开发的 BNT162b2 疫苗和莫德纳公司的 mRNA-1273 疫苗, 在关键性 III 期临床试验中分别达到了 95% 和 94.1% 的保护效力^[4]。首次在人群中验证了 mRNA 疫苗的临床可行性与卓越效力。mRNA 疫苗的成功立足于数十年对 mRNA 稳定性、递送系统和抗原免疫原性方面的深入研究, 彻底改变了全球疫苗研发的思维模式和技术路径。

然而, 随着 SARS-CoV-2 进入常态化防控阶段, 疫苗需求急剧萎缩导致多家 mRNA 疫苗企业陷入困境, 企业纷纷转向肿瘤疫苗、流感疫苗及罕

接受日期: 2025-09-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 82471857)

* 通信作者: 陆伟, 教授, 博士生导师

研究方向: 药物递送载体设计

E-mail: wlu@fudan.edu.cn

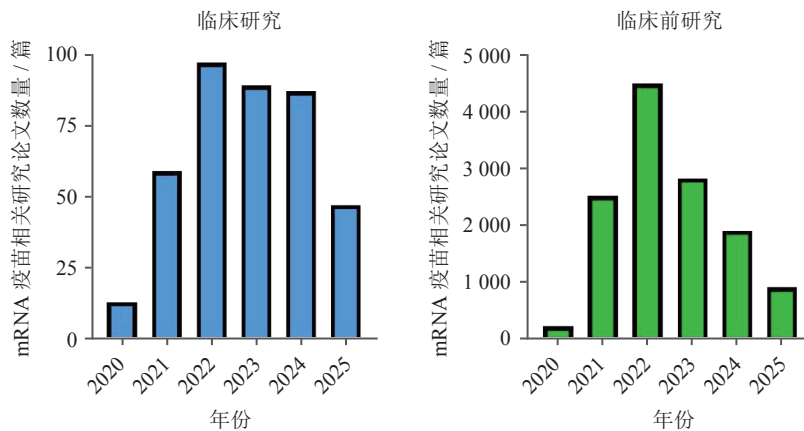
见病治疗等新领域,但其面临的主要挑战包括技术专利壁垒、递送效率低等问题。值得注意的是,海外 mRNA 药企在递送技术专利方面布局相当完善,LNP 系统的主要专利由 Arbutus 公司等少数欧美企业和机构拥有,莫德纳公司、BioNTech 公司及 CureVac 公司等全球疫苗研发公司均曾陷入与 Arbutus 公司的专利纷争,其中莫德纳公司与 Arbutus 公司甚至展开了长达 7 年的专利诉讼^[5]。因此,开发新型可电离脂质以规避现有 LNP 专利限制,或开发具有自主知识产权的递送载体以突破 LNP 技术壁垒,已成为中国 mRNA 疫苗企业开展研发的关键路径。

另一方面,自 2019 年以来,有关 mRNA 疫苗的研究论文数量呈爆发式增长(见图 1)。与之形成鲜

明对比的是,目前已成功商业化的 mRNA 疫苗产品屈指可数,且主要集中于 SARS-CoV-2 疫苗。这种“实验室繁荣”与“市场稀缺”的反差所折射的科学技术瓶颈在于 mRNA 递送难题,即如何增强 mRNA 疫苗靶向性,提高 mRNA 溶酶体逃逸以提升胞浆递送效率,是目前 mRNA 疫苗研究的难点和热点^[6]。本文将从临床研究、临床前研究及递送技术 3 个方面综述 mRNA 疫苗研究的新进展。

1 临床研究中的 mRNA 疫苗

mRNA 疫苗的临床研究已从单一的冠状病毒防御,扩展至新型传染病防治、肿瘤靶向治疗及罕见病治疗等多种疾病治疗领域(见表 1)。



数据来源: PubMed; 关键词: mRNA vaccine; 截止日期: 2025 年 7 月 25 日

图 1 2020 年以来全球发表的 mRNA 疫苗相关研究论文数量统计图

Figure 1 The statistical chart showing the numbers of mRNA vaccine-related research papers published worldwide since 2020

表 1 2021—2025 年处于临床试验阶段的代表性 mRNA 疫苗

Table 1 Representative mRNA vaccines in the clinical trial stage in 2021-2025

| 疫苗名称/代号 | 预防或治疗的疾病/病毒 | 递送载体 | 给药途径 | 研发公司 | 临床试验登记号 | 临床试验阶段 |
|------------------------------|---------------|------|------|--------------------|-------------|--------|
| VidPrevtyl [®] Beta | SARS-CoV-2 | LNP | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NCT05749926 | Ⅲ期 |
| Omicron XBB.1.5 | SARS-CoV-2 | LNP | 肌肉注射 | 葛兰素史克公司 | NCT06374394 | Ⅲ期 |
| LVRNA021 | SARS-CoV-2 | LNP | 肌肉注射 | 艾美疫苗有限公司 | NCT05939648 | Ⅱ期 |
| ChAd-triCoV/Mac | SARS-CoV-2 | LNP | 雾化吸入 | 麦克马斯特大学 | NCT06381739 | Ⅱ期 |
| LVT-001 | SARS-CoV-2 | LNP | 鼻腔给药 | ANRS 新发传染病研究机构 | NCT06821126 | I/Ⅱ期 |
| H3 mRNA | 流感病毒 | LNP | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NCT05755620 | I期 |
| VRC H1ssF 3928 | 流感病毒 | 铁蛋白 | 肌肉注射 | 美国国家过敏和传染病研究所 | NCT05829356 | I期 |
| RSV/hMPV mRNA | 呼吸道合胞病毒/人偏肺病毒 | LNP | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NC106237296 | I期 |
| JCXH-108 | 呼吸道合胞病毒 | LNP | 肌肉注射 | 嘉晨西海公司 | NCT06564194 | I期 |
| CH505M5 N197D mRNA | 艾滋病 | LNP | 肌肉注射 | 美国国家过敏和传染病研究所 | NCT06557785 | I期 |
| V3G CH848 mRNA-Tr2 | 艾滋病 | LNP | 肌肉注射 | 美国国家过敏和传染病研究所 | NCT05903339 | I期 |
| Chlamydia mRNA vaccine | 沙眼衣原体 | ND | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NC106891417 | I/Ⅱ期 |
| SYS6017-001 | 带状疱疹 | LNP | 肌肉注射 | 石药集团 | NCi06954818 | I期 |
| HZ vaccine-(IN001) | 带状疱疹 | LNP | 肌肉注射 | 深圳市申鑫生物科技有限公司 | NCT06375512 | I期 |
| GBP560-A | 日本脑炎 | ND | 肌肉注射 | SK Bioscience 有限公司 | NCT06680128 | I/Ⅱ期 |

续表 1

| 疫苗名称/代号 | 预防或治疗的疾病/病毒 | 递送载体 | 给药途径 | 研发公司 | 临床试验登记号 | 临床试验阶段 |
|---------------------|--------------|------|------|---------------|-------------|----------|
| mRNA-1647 | 巨细胞病毒 | ND | 肌肉注射 | 莫德纳公司 | NCT06133010 | II 期 |
| Acne mRNA vaccine | 轻度痤疮 | ND | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NCT07013747 | I/II 期 |
| VBE00001 | 中度至重度痤疮 | ND | 肌肉注射 | 赛诺菲公司 | NCT06316297 | I/II 期 |
| mRNA-4157 | 黑色素瘤 | LNP | 肌肉注射 | 默沙东公司 | NCT05933577 | II/III 期 |
| BNT122 | 胰腺导管腺癌 | LNP | 静脉注射 | BioNTech 有限公司 | NCT05968326 | II 期 |
| RG002 | 宫颈上皮内瘤变 | ND | 肌肉注射 | 睿安基因生物科技有限公司 | NCT06273553 | I/II 期 |
| EBV mRNA vaccine | EBV 阳性晚期恶性肿瘤 | LNP | 肌肉注射 | 华西医院 | NCT05714748 | I 期 |
| KRAS-mutated mRNA | KRAS 突变恶性肿瘤 | LNP | 肌肉注射 | 四川大学 | NCT07004244 | I 期 |
| iNeo-Vac-R01 | 消化系统肿瘤 | ND | 皮下注射 | 邵逸夫医院 | NCT06019702 | I 期 |
| mRNA-3927 | 丙酸血症 | LNP | 静脉注射 | 莫德纳公司 | NCT04159103 | I/II 期 |
| DESCARTES-08 | 重症肌无力 | LNP | 静脉注射 | Cartesian 公司 | NCT04146051 | II 期 |
| mRNA-1195 | 多发性硬化症 | ND | 肌肉注射 | 莫德纳公司 | NCT06735248 | II 期 |
| mRNA-1975/1982-P101 | 莱姆病 | ND | 肌肉注射 | 莫德纳公司 | NCT05975099 | I/II 期 |
| RAG-17 | 渐冻症 | ND | 静脉注射 | 中美瑞康公司 | NCT05903690 | I 期 |

SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (严重急性呼吸综合征冠状病毒 2); LNP: lipid nanoparticle (脂质纳米颗粒); EBV: Epstein-Barr virus (疱疹病毒); ND: 未公开

1.1 呼吸道传染病

呼吸道传染病仍是全球公共卫生领域面临的重要威胁之一。目前进入临床试验阶段的 mRNA 疫苗主要针对呼吸道传染病的预防和控制, 如 SARS-CoV-2、流感病毒、呼吸道合胞病毒等^[7]。由表 1 可见, 多家公司和研究机构正加速推进针对上述重要呼吸道传染病的 mRNA 疫苗研发进程。

面对 SARS-CoV-2 病毒持续出现的新型变异株, 针对 Omicron 等变异株的加强型 mRNA 疫苗的研发与临床试验正在加速推进。赛诺菲公司研发的 VidPrevtyn[®] Beta 是一款采用 LNP 载体递送的 mRNA 疫苗, 其针对 SARS-CoV-2 的 III 期临床试验 (NCT05749926) 显示, 经肌肉注射后可持续提供长达 10 周的有效保护^[8]。葛兰素史克公司开发的靶向 Omicron XBB.1.5 变异株的 mRNA 疫苗, 同样采用 LNP 载体递送和肌内注射方式, 目前已进入 III 期临床试验 (NCT06374394), 初步结果显示该疫苗能以几何倍数显著提升针对 Omicron 的中和抗体滴度^[9]。在国内, 艾美疫苗有限公司的 LVRNA021 也已进入 II 期临床试验 (NCT05939648), 同样是采用 LNP 递送 mRNA 疫苗, 经肌肉注射后能够诱导产生高水平的 SARS-CoV-2 中和抗体^[10]。除传统肌肉注射外, 疫苗的给药方式也在不断丰富与创新。麦克马斯特大学开发的 ChAd-triCoV/Mac 是首批采用雾化吸入方式进入 I/II 期临床研究的 mRNA 疫苗 (NCT06381739), 该疫苗以呼吸道和肺部为主要递送与吸收靶点, 能够覆盖多种病毒表位, 并有效促进黏膜 T 细胞免疫反应^[11]。在 2025 年 1 月,

ANRS 新发传染病研究机构启动了 LVT-001 鼻腔给药 mRNA 疫苗的 I/II 期临床试验 (NCT06821126), 旨在系统评估其安全性和免疫原性。目前肌肉注射仍是 mRNA 疫苗的主流给药途径, 但雾化吸入、鼻腔给药等新尝试已逐步开展。免疫途径的持续拓展和创新, 有望在未来显著提升 mRNA 疫苗的靶向性和依从性, 并减少全身不良反应发生风险。

在流感疫苗研发领域, 赛诺菲公司开发的 H3 mRNA 疫苗采用 LNP 作为递送载体, 包载流感病毒全长血凝素 (hemagglutinin, HA) 基因序列, 目前已进入 I 期临床试验阶段 (NCT05755620)。美国国家过敏和传染病研究所研发的 VRC H1ssF 3928 疫苗 (NCT05829356), 利用幽门螺杆菌中的非血红素铁蛋白组装形成纳米颗粒, 并包载流感病毒 HA 基因序列^[12]。与传统 LNP 载体相比, 该铁蛋白自组装形成的多价结构可通过 pH 值变化调节电荷状态, 将 mRNA 分子包载于其笼状空腔内, 同时其兼具免疫佐剂特性, 有助于增强 B 细胞识别和中和抗体的产生, 从而激发强烈且持久的免疫反应^[13], 为 mRNA 疫苗的开发提供新的策略。

此外, 针对呼吸道合胞病毒和人偏肺病毒的 mRNA 疫苗也取得一定进展。赛诺菲公司的 RSV/hMPV mRNA 疫苗 (NC106237296) 和嘉晨西海公司的 JCXH-108 疫苗 (NCT06564194) 均采用 LNP 递送系统, 并通过肌肉注射途径开展 I 期临床试验, 有望为易感人群提供新的防护选择。

1.2 其他感染性疾病

除呼吸道传染病外, 其他感染性疾病领域的

mRNA 疫苗研发也呈现多点突破态势。在艾滋病防控领域, 美国国家过敏与传染病研究所正推进的 CH505M5 N197D mRNA 疫苗^[14] (NCT06557785) 和 V3G CH848 mRNA-Tr2 疫苗 (NCT05903339) 均已进入 I 期临床^[15], 这两款疫苗均采用 LNP 递送并经肌肉注射接种, 可诱导广谱中和抗体, 为艾滋病的防治提供有力支持。沙眼衣原体是一类寄生眼部、可导致慢性传染性疾病的微生物, Chlamydia mRNA 疫苗的临床研究 (NC106891417) 为该类感染性疾病的防控带来新希望。带状疱疹是由带状疱疹病毒引起的急性感染性皮肤病, 石药集团研发的 SYS6017-001 疫苗 (NC106954818) 和申鑫生物科技有限公司研发的 HZ vaccine-(IN001) 疫苗 (NCT06375512) 均已进入 I 期临床, 有望提供更安全高效的带状疱疹防控选择, 弥补现有预防手段的不足。日本脑炎病毒疫苗 GBP560-A 目前已进入 I/II 期临床试验 (NCT06680128), 显示出 mRNA 疫苗在神经系统病毒性疾病领域的应用潜力。此外, 莫德纳公司研发的巨细胞病毒疫苗 mRNA-1647 也进入 II 期临床研究阶段 (NCT06133010), 有望惠及新生儿和易感人群。值得关注的是, 针对细菌感染所致轻度痤疮的 Acne mRNA 疫苗 (NCT07013747) 和中重度痤疮的 VBE00001 疫苗 (NCT06316297) 也已进入 I/II 期临床阶段, 充分体现了 mRNA 疫苗技术的广泛适用性。

1.3 肿瘤预防和治疗领域

mRNA 疫苗已成为癌症免疫治疗领域极具前景的平台。在疫苗接种过程中, mRNA 疫苗经递送载体递送, 在抗原呈递细胞 (antigen presenting cell, APC) 内高效表达肿瘤抗原, 促进 APC 活化并诱导先天性和适应性免疫反应^[16]。凭借个性化设计灵活、研发生产周期短、安全性高及可同时诱导产生强烈体液免疫与细胞免疫应答等显著优势, mRNA 癌症疫苗在多个方面均优于传统疫苗, 成为未来肿瘤免疫治疗研究的重要方向^[17]。默沙东公司研发的 mRNA 癌症疫苗 mRNA-4157 包含 34 种编码患者肿瘤特异性新抗原的 mRNA 分子, 其与程序性死亡受体 1 (programmed death 1, PD-1) 抑制剂帕博利珠单抗的联合疗法在 II/III 期临床试验 (NCT05933577) 中显示, 可显著延长高危黑色素瘤切除患者的无复发生存期^[18]。

BioNTech 公司基于手术切除的胰腺导管癌肿瘤, 实时合成个体化的新生抗原 mRNA 疫苗, 采用 LNP 递送, 并与抗程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 免疫治疗和亚叶酸、氟尿嘧啶、伊立替康和奥沙利铂四药化疗方案联合应

用。在 II 期临床试验 (NCT05968326) 阶段诱导出高水平、特异性的 T 细胞免疫反应应答, 使 8 例注射疫苗产生免疫应答胰腺癌患者的中位无复发生存期显著增长^[19-20]。

华西医院研发的疱疹病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) mRNA 疫苗 (NCT05714748) 开启了 EBV 阳性晚期恶性肿瘤的个体化免疫治疗探索, 为 EBV 相关恶性肿瘤, 如鼻咽癌和某些淋巴瘤的免疫治疗提供了新策略。四川大学开发的 KRAS 突变 mRNA 疫苗 (NCT07004244) 针对突变型恶性肿瘤, 通过 LNP 递送系统将 mRNA 疫苗经肌肉注射入体内, 也成为肿瘤精准治疗的重要突破。邵逸夫医院研发的 iNeo-Vac-R01 疫苗采用皮下注射方式, 开展针对消化系统肿瘤的临床研究 (NCT06019702)。

1.4 罕见病

罕见病患者人群数量少, 传统药物开发投入高、回报低, 往往导致制药企业缺乏研发积极性。然而, mRNA 疫苗凭借其可快速设计、高度灵活及生产成本相对较低等独特优势, 极大降低了罕见病药物开发的周期和成本, 为罕见病治疗领域带来巨大发展前景。

丙酸血症是一种罕见的遗传代谢病, 由丙酰辅酶 A 羧化酶 α 亚基 (propionyl coenzyme A carboxylase- α , PCCA) 或 β 亚基 (propionyl coenzyme A carboxylase- β , PCCB) 基因突变导致酶功能缺陷, 进而引起有毒代谢产物的积累, 诱发危及生命的代谢性失偿事件。莫德纳公司开发的 mRNA-3927 是一种利用 LNP 递送编码人源 PCCA 和 PCCB 蛋白亚基的 mRNA 治疗药物。该产品已进入临床试验阶段 (NCT04159103), 这也是首个开展细胞内蛋白质替代疗法的 mRNA 药物临床研究。初步临床结果显示, 在为期 12 个月的治疗期间, 受试者未出现相关毒性, 且代谢性失偿的发生风险降低了 70%, 显示出良好的安全性和潜在的临床价值^[21], 凸显了 mRNA 技术在体内高效替代缺陷蛋白的潜力。与传统的蛋白质替代疗法相比, mRNA 疗法采用简化代码的模块化设计, 直接在患者体内合成所需蛋白质, 从而大幅降低生产复杂性和成本。

重症肌无力是一种神经系统的自身免疫性疾病, 最常见的原因是免疫系统攻击神经细胞与肌肉细胞信息交流处的蛋白, 导致肌肉无力。Cartesian 公司开发了 DESCARTES-08 疗法, 使用 LNP 递送 mRNA 来改造嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T-Cell immunotherapy, CAR-T), 靶向浆细胞表面的成熟抗原, 是首个基于 mRNA 的 CAR-T 细胞疗法, 并推进到临床试验中。在 II

期临床研究 (NCT04146051) 中, 基于 mRNA 的 CAR-T 细胞疗法减轻了重症肌无力症状, 且耐受性良好, 患者未出现明显不良反应^[22]。该研究结果表明, mRNA 技术在细胞编程上具有灵活性, 通过 LNP 载体递送特定 mRNA, 可省去传统 CAR-T 疗法中冗长且昂贵的体外细胞培养过程。

多发性硬化症是一种中枢神经系统慢性炎症脱髓鞘性疾病, 主要由免疫系统错误地攻击髓鞘, 导致神经功能受损。莫德纳公司开发的针对多发性硬化症的 mRNA-1195 疫苗已进入临床 II 期试验 (NCT06735248)。

莱姆病是由莱姆病螺旋体感染引起的罕见传染病, 莫德纳公司开发的针对莱姆病的 mRNA-1975/1982-P101 疫苗已进入 I/II 期临床试验 (NCT05975099), 进一步拓展了 mRNA 疫苗在罕见病防治领域的前景。

肌萎缩侧索硬化症又称渐冻症, 是一种慢性进行性神经系统疾病。中美瑞康公司开发的 RAG-17 是一款以超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, *SOD1*) 为靶基因的 RNA 治疗药物, 通过降低 *SOD1* 蛋白表达, 可治疗由 *SOD1* 突变引起的渐冻症患者。目前, 该药物已进入 I 期临床试验 (NCT05903690), 其展现出 RNA 技术在细胞内精确调控基因表达的优势。

2 临床前研究的 mRNA 疫苗

2.1 呼吸道传染病

近年来, 新一代针对呼吸道传染病的 mRNA 疫苗更多地使用合理设计的抗原和 (或) 多种抗原来增加保护性免疫反应的广谱性^[23]。Arevalo 等^[24] 开发了一种 mRNA-LNP 疫苗, 该疫苗编码来自所有 20 种已知甲型流感病毒亚型和乙型流感病毒谱系的 HA 抗原。肌肉注射该疫苗后在小鼠和雪貂中引发高水平的交叉反应和亚型特异性抗体, 保护小鼠和雪貂免受匹配或不匹配的病毒株的攻击。因此, mRNA 疫苗可通过同时诱导针对多种抗原的抗体, 提供针对抗原多变病毒的保护。当新型大流行性流感来临或面对变异性强的病原体时, 即使与病毒株不完全匹配的 mRNA 疫苗不会直接消灭病毒, 而是通过非中和机制减轻疾病的严重程度并降低感染者的死亡率, 这充分体现了 mRNA 疫苗在应对新发或高度变异病原体时的重要作用和巨大潜力。Lin 等^[25] 设计了一种包载修饰呼吸道合胞病毒融合糖蛋白 mRNA 的 LNP 疫苗 (LC2DM-LNP), 该疫苗可诱导产生高效的中和抗体滴度, 并在小鼠体内促进 Th1 型免疫反应。采用 LC2DM-LNP 肌肉注射免疫

的雌性大鼠表现出对呼吸道合胞病毒的强效免疫力。当该疫苗接种于妊娠期雌性大鼠时, LC2DM-LNP 不仅能高效地将特异性抗体转移给子代, 还能在不增加肺部炎症的前提下, 给予后代针对呼吸道合胞病毒的保护。这些结果表明, LC2DM-LNP 有望作为高危人群的呼吸道合胞病毒疫苗方案。

2.2 其他感染性疾病

mRNA 疫苗不断拓展其在感染性疾病领域的应用范围, 从常见病病原体到新发病原体 (如艰难梭菌、拉沙热病毒等), 并在多种新型感染类疾病的防控中展现出广阔前景与重要作用。艰难梭菌感染是由肠道艰难梭菌过度增殖并释放毒素引起, 以腹泻为主要表现的感染性疾病。Alameh 等^[26] 开发了一种多价 mRNA-LNP 疫苗, 旨在预防艰难梭菌感染。该疫苗包载艰难梭菌毒素 A、毒素 B 和二型毒素的 mRNA 序列。在小鼠模型中肌肉注射该疫苗可引发强大且持久的全身性与黏膜特异性体液免疫和细胞免疫反应, 从而有效预防艰难梭菌感染, 并显著减轻肠道病变和炎症反应。拉沙病毒可导致严重出血性疾病, 病死率较高。Ronk 等^[27] 设计并制备了 mRNA-LNP 封装的 mRNA 疫苗, 可编码野生型或预融合稳定型拉沙病毒糖蛋白复合物。在豚鼠模型中, 肌肉注射该 mRNA 疫苗均可诱导强效的糖蛋白特异性抗体免疫反应, 尤其是预融合稳定型组表现出显著的融合蛋白介导功能。接种该 mRNA 疫苗后豚鼠在致死性拉沙病毒攻击下获得了有效防护。

猴痘是由猴痘病毒 (monkeypox virus, MPXV) 引起的一种传染性疾病, 其病毒学和流行病学特征仍不断演变。Ye 等^[28] 设计了一种包含猴痘病毒 5 种特定蛋白 (M1R、E8L、A29L、A35R 和 B6R) 的 mRNA 疫苗 (LNP-AR-MPXV5), 在食蟹猴肌肉注射两针该疫苗能够有效诱发体液和细胞免疫反应, 并对猴痘分支 II 型毒株显示出良好的保护效果, 具体表现为预防皮肤病变、清除病毒血症和降低组织病毒载量。上述研究结果为 LNP-AR-MPXV5 疫苗的后续临床开发提供了实验依据。

鼠疫是由鼠疫耶尔森菌引起的一种高致死性急性传染病, 主要经鼠蚤叮咬传播。Kon 等^[29] 基于鼠疫耶尔森菌的主要保护性成分——F1 荚膜抗原, 设计了核苷修饰的 mRNA-LNP 疫苗。该疫苗在小鼠体内可诱导体液和细胞免疫反应, 且单针接种后即可对致死性鼠疫耶尔森菌感染提供快速和完全保护。

2.3 肿瘤预防和治疗领域

近年来, mRNA 肿瘤疫苗的研发主要聚焦于提升抗原设计的精准性、增强递送系统的效率及探索联合免疫调节策略, 以进一步克服肿瘤免疫耐受与

免疫逃逸, 提高临床疗效。同时, 针对特定肿瘤开发个体化肿瘤疫苗也成为重要方向, 旨在提高免疫应答的特异性和强度^[30]。

Trivedi 等^[31]开发了一种癌症免疫基因组学分析流程——开放阅读框抗原网络 (open reading frame antigen network, ORAN), 在胶质母细胞瘤和髓母细胞瘤中鉴定了肿瘤特异性新生抗原及异常高表达的肿瘤相关抗原。该流程基于选择性基因捕获和富集策略, 为不同个体肿瘤模型研发了肿瘤抗原特异性 mRNA 疫苗。该研究表明, 将个体化 mRNA 疫苗联合抗 PD-L1 免疫检查点抑制剂或与离体扩增的肿瘤抗原特异性淋巴细胞的过继细胞疗法相结合, 在高侵袭性小鼠胶质母细胞瘤模型中能激活 T 细胞并增强其免疫效应, 同时重塑肿瘤免疫抑制微环境, 显著提高了胶质母细胞瘤宿主的生存率。

Guo 等^[32]构建了一个载体库 PEIRs, 通过体内转染实验, 筛选出 mRNA 递送载体。该载体不仅具备高效的 mRNA 递送能力, 还可刺激干扰素基因刺激蛋白 (stimulator of interferon genes, STING) 通路, 从而有效激活先天免疫反应。将该载体负载卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) mRNA 作为肿瘤疫苗可预防和治疗小鼠黑色素瘤。此外, 载体负载混合谱系激酶结构域样蛋白的 mRNA 作为原位肿瘤疫苗可有效治疗小鼠原位胰腺癌。

2.4 罕见病

苯丙酮尿症 (phenylketonuria, PKU) 又称苯丙氨酸羟化酶 (phenylalanine hydroxylase, PAH) 缺乏症, 是一种影响苯丙氨酸代谢的常染色体隐性遗传病。PAH 基因突变导致体内苯丙氨酸水平显著升高, 导致大脑功能异常。Cacicedo 等^[33]研究表明, 编码 PAH 的 mRNA 能够在 PKU 小鼠模型中恢复代谢缺陷。静脉注射包裹于 LNP 的 PAH mRNA 后, 在小鼠肝脏中观察到 PAH 的表达, 并且血液中的苯丙氨酸水平持续降低。与对照组相比, 小鼠脑内的苯丙氨酸含量下降, 神经功能也得到改善。该临床前研究证实了 mRNA 疗法用于 PKU 治疗的潜力。

精氨酸酶 1 缺乏症 (arginase 1 deficiency, ARG1-D) 是一种由 ARG1 基因突变引起的罕见常染色体隐性遗传病。Asrani 等^[34]将编码 ARG1 的 mRNA 制备成 LNP, 并通过尾静脉注射到 ARG1-D 小鼠体内, 单次给药 7 天后, 小鼠肝组织中 ARG1 蛋白水平显著增加。

黄霉素缺乏症是一种罕见的遗传性代谢紊乱疾病, 由 SLC25A13 基因突变导致柠檬酸转运蛋白功能丧失。Cao 等^[35]通过静脉注射负载人源 SLC25A13 mRNA 的 LNP, 使功能性柠檬酸蛋白在

肝脏中表达, 从而纠正代谢异常, 接受治疗的小鼠表现出身体发育改善和行为缺陷纠正。

α -1 抗胰蛋白酶缺乏症是一种遗传性疾病, 其特征是丝氨酸蛋白酶抑制剂水平低, 使患者易患肺部疾病。Karadagi 等^[36]使用 LNP 包载的经化学修饰的 SERPINA1 mRNA, 经静脉注射后可提高小鼠血清丝氨酸蛋白酶抑制剂水平, 并使其在 5~7 天内保持高于基线水平。

3 mRNA 递送技术

3.1 新型可电离脂质的设计与筛选

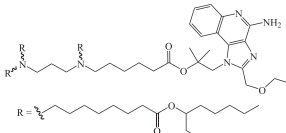
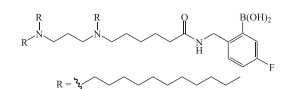
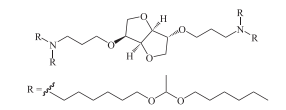
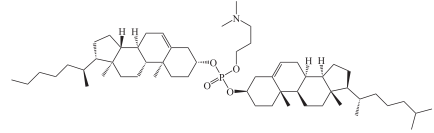
LNP 是目前应用最广泛的 mRNA 递送平台技术^[37]。可电离脂质是 LNP 中占比最大的组分 (摩尔比约 50%), 也是决定其递送效率与疗效的关键辅料。然而, LNP 的发展受到可电离脂质材料 (如 DLin-MC3-DMA、SM-102 和 ALC-0315) 的相关专利限制。可电离脂质分子通常由 3 个部分组成: 头基、疏水尾部及连接基团。头基通常较小且可电离, 决定着可电离脂质的电荷和极性, 进而影响其溶解度、膜相互作用和生理功能。目前常见的极性头基包括胺基、胍基、杂环化合物及其组合^[38]。疏水尾部通常含有 1~4 条疏水性烷基链, 长度约为 8~20 个碳原子。这些疏水尾部不仅影响可电离脂质的物理性质 (如 pK_a), 还会影响 LNP 的转染效率、生物降解率和细胞毒性。目前, 常见的尾部类型包括单链/支链、饱和/不饱和链和可生物降解/不可生物降解链^[39]。连接基团能调节脂质的 pH 值, 稳定 LNP 结构, 促进与细胞膜的相互作用, 并有助于 LNP 的溶酶体逃逸。在体内, 连接基团应保持一定的稳定性, 又能够被生物降解, 在确保结构完整性的同时, 实现后续释放。当前在可电离脂质连接基团的设计中, 酯键、二硫键和酰胺键被广泛采用^[40]。各组成部分的化学多样性使得通过组合化学可合成出大量结构各异的可电离脂质^[40]。目前报道的新型可电离脂质见表 2。

3.1.1 可电离脂质的高通量筛选 高通量筛选是从大量候选分子中筛选出最优可电离脂质的常用方法, 目前大多数候选分子均是通过这一方法获得^[37]。Chen 等^[43]通过模块化策略合成了一个包含 96 种生物可降解可电离脂质 (LDILs) 的材料库, 用于提高 mRNA 的体内递送效率。从中筛选得到的 4A3-SCC-PH 由胺基头基、4 个二硫键连接基团以及 4 条 10 碳长的脂肪酸尾链组成, 其独特的谷胱甘肽响应型锥形结构使其具有溶酶体逃逸和快速 mRNA 释放能力, 其转染效率是 DLin-MC3-DMA 的 176 倍, 包载 Cre mRNA 的 4A3-SCC-PH 对小鼠肝细胞的编辑效率高达 99%。

表 2 新型可电离脂质概况
Table 2 Overview of new ionizable lipids

| 名称/代号 | 结构式 | 结构特征 | 实现目的 | 应用 | 参考文献 |
|----------------------|-----|-----------------------------|---------------|----------------------------|------|
| 113-O12B | | 含有二硫键的丙烯酸脂肪酸链 | 提高递送效率 | 基于 CRISPR-Cas9 的基因编辑 | [41] |
| 306-N16B | | 脂尾中含酰胺键 | 选择性递送至肺 | 治疗肺部淋巴管肌瘤的 mRNA 疫苗 | [42] |
| 4A3-SCC-PH | | 4 个二硫键连接基团及 4 条 10 碳长的脂肪酸尾链 | 促进溶酶体逃逸 | 基于 Cre mRNA 的基因编辑 | [43] |
| 4A3-Cit | | 具有香叶醇尾部 | 促进溶酶体逃逸 | 基于肝酯酶 mRNA 的基因编辑 | [44] |
| 93-O17S 9322-O17S | | 含咪唑基团的头部 | 选择性递送至脾 | 基于 Cre mRNA 的基因编辑 | [45] |
| L76 | | 含有二硫键的 14 碳疏水尾部 | 提高递送效率 | 基于 CRISPR-Cas9 的基因编辑以治疗白血病 | [46] |
| Lipid 10 | | 含哌嗪头和酯基连接基团 | 促进溶酶体逃逸 | HA mRNA 疫苗 | [37] |
| Lipid 2 | | 含哌嗪头和酰胺键连接基团 | 促进溶酶体逃逸 | SARS-CoV-2 mRNA 疫苗 | [47] |
| C14-4 | | 醚基修饰的哌嗪头基 | 选择性递送至脾 | 递送 PD-1 嵌合抗原受体 mRNA | [48] |
| A-3 | | 醚基修饰的哌嗪头基 | 选择性递送至肺 | 基于 Cre mRNA 的基因编辑 | [49] |
| MIC1 MIC2 | | 含有 4 个叔胺氮原子和 4 个疏水尾部 | 促进溶酶体逃逸 | SARS-CoV-2 mRNA 疫苗 | [50] |
| SAL12 | | 疏水尾部引入 STING 激动剂结构单元 | 具有 STING 佐剂活性 | SARS-CoV-2 mRNA 疫苗 | [51] |

续表 2

| 名称/代号 | 结构式 | 结构特征 | 实现目的 | 应用 | 参考文献 |
|--------|---|-------------------------|---------|------------------------------|------|
| RAL-2 |  | 不对称酯基尾链 | 促进溶酶体逃逸 | 治疗黑色素瘤的 CD40 mRNA 疫苗 | [52] |
| DAL-4 |  | 硼酸、氟修饰的氨基苯环结构 | 提高包封效率 | 治疗黑色素瘤的 CD40 mRNA 疫苗 | [53] |
| LIS-10 |  | 含有异山梨醇酯核心和缩醛连接基团 | 提高递送效率 | 治疗黑色素瘤的 CD40 mRNA 疫苗 | [54] |
| CAP2 |  | 含有刚性疏水尾部(胆固醇分子)、磷酸盐连接基团 | 提高递送效率 | 基于 CRISPR-Cas9 的基因编辑以治疗男性不育症 | [55] |

CRISPR-Cas9: clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein 9 (成簇规律间隔短回文重复序列 - CRISPR 相关蛋白 9); Cre: cyclization recombination enzyme (环化重组酶); HA: hemagglutinin (血凝素); SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (严重急性呼吸综合征冠状病毒 2); PD-1: programmed death 1 (程序性死亡受体 1); STING: stimulator of interferon genes (干扰素基因刺激因子)

Zong 等^[37] 构建了包含 16 种新型脂质的可电离脂质库, 研究发现短而分支的三烷基疏水结构能够提高 LNP 的生物包容性和溶酶体逃逸能力。采用其中表现最佳的三烷基脂质 Lipid 10 制备的 LNP, 包裹转甲状腺素蛋白小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 后展现出更强的基因沉默效果和更好的耐受性。在 HA 疫苗模型中, 肌肉注射 Lipid-10 LNP 所诱导的抗体滴度与 SM-102 和 ALC-0315 两种脂质制备的 LNP 相当或更高。Han 等^[56] 通过对 100 种结构多样的脂质组合化学库进行构效关系分析发现, 末端为烷基苯胺结构的“尾部状”分子通常具有优异的递送性能。实验和理论研究均表明, 该类脂质分子中体积较大的苯环有助于形成锥形构象, 从而显著增强溶酶体逃逸和 mRNA 递送效率。筛选得到的脂质能介导 mRNA 疫苗的局部递送和全身递送, 并可实现对脾脏的靶向递送。

Liu 等^[53] 合成了带有不同基团的多种二胺基可电离脂质材料, 体外筛选结果显示, 在脂质分子的苯环上引入不同取代基 [如 F、OH 及 B(OH)₂] 可提升 LNP 的包封效率, 其中 DAL4-LNP 可在体内外高效递送多种 mRNA 至肿瘤细胞。将负载白细胞介素-12 (interleukin-12, IL-12) mRNA 的 DAL4-LNP 接种体内, 其对 B16F10 黑色素瘤的生长抑制作用显著优于其他市售 LNP。Jiang 等^[57] 通过还原胺化方法合成了一组包含 22 种可电离脂质的组合库, 并利用肺上皮细胞模型对其递送潜力进行评估。筛选出的 T1-5 脂质在基于电荷稳定配方和稳定增强赋形

剂下配制成 IR-117-17 LNP, 与当前最先进的 LNP 和聚合物纳米颗粒相比, 该 LNP 显著提升了肺部 mRNA 递送效率。经雾化给药后, IR-117-17 LNP 在肺部的 mRNA 递送效率较此前报道的最佳 LNP49 提高了 300 倍, 且在气道中的递送效果最高可提升 45 倍。

3.1.2 可电离脂质的计算机辅助设计和人工智能预测
尽管高通量筛选与分析技术已广泛应用于各类研究, 可电离脂质的设计仍局限于结构多样性的表层探索, 大规模库的构建和筛选依然面临成本高、难度大的挑战。人工智能和计算机辅助设计有望进一步推动 LNP 技术的革新, 显著缩短研发周期^[58]。基于 325 种 mRNA-LNP 疫苗的配方及其对应的免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 滴度数据集, 研究人员开发了 LightGBM 机器学习算法作为 LNP 筛选的预测模型^[59]。该模型不仅成功识别了可电离脂质的关键亚结构, 还准确预测了含 DLin-MC3-DMA 的 LNP 在体内效力高于 SM-102, 与实验结果一致。Ghosh 团队应用 LightGBM 算法分析了数据库中 LNP 的递送效率, 发现可电离脂质分子中外部碳原子的数量是影响转染效率的关键因素。基于此, 该研究团队进一步制备了结构修饰的 SM-102 和 ALC-0315 类似物, 并通过实验验证了模型的预测结果, 充分展示了机器学习分析在指导脂质分子设计方面的巨大潜力^[60]。

Yuan 等^[61] 利用人工智能指导的可电离脂质工程平台 (AI-guided ionizable lipid engineering, AGILE)

筛选最优的 LNP 配方。AGILE 平台基于预训练的神经网络模型, 结合 1 200 种可电离脂质的实验筛选数据进行微调, 随后应用该模型对包含约 1.2 万种候选分子的大型分子库进行递送效能预测。人工智能的介入使 AGILE 平台的筛选效率提升了百倍以上, 显著缩短了开发的周期, 将 LNP 开发周期从传统的几个季度甚至数年显著缩短至数周乃至数天。经 AGILE 筛选得到的候选脂质已成功合成, 并在生物系统中进行了评估, 展现了其加速个性化 LNP 开发的潜力。

此外, 生成对抗网络 (generative adversarial networks, GANs) 实现了肿瘤特异性可电离脂质的全新设计。GANs 平台可生成 pK_a 为 6.2~6.8 的脂质分子, 并利用逆合成分析工具评估其可合成性。在生成的 1 243 种脂质中, 约 90% 可通过三步以内的反应路线合成, 且其对 mRNA 的亲合力均高于 DLin-MC3-DMA。小鼠模型实验显示, 这些脂质的肿瘤富集量是基于 SM-102 的 LNP 的 3 倍^[62]。

3.2 新型递送技术

3.2.1 靶向递送 肝脏独特的生理结构使其对 LNP 具有天然的富集特性。首先, 肝脏中丰富的单核吞噬细胞系统 (尤其是肝巨噬细胞) 可大量摄取 LNP; 其次, 肝脏血管内皮细胞间的窗孔结构便于 LNP 在肝脏中滞留; 第三, 肝脏的血容量大, 且血流速度慢, 为 LNP 通过窗孔扩散并与肝细胞相互作用提供了充足时间。然而, LNP 在治疗非肝脏疾病时, 这种肝向富集特性易导致 mRNA 在肝脏中过度积累, 增加肝毒性, 降低靶向治疗效果^[63]。为解决此问题, 研究人员通过表面修饰策略, 如连接特异性配体或抗体, 实现 LNP 对特定组织或肿瘤的定向递送与富集。近年来, 生物膜衍生递送材料、吸入给药系统及新型脂质材料等新兴技术的发展, 为 mRNA 疫苗的组织特异性递送提供了新的技术手段, 有望进一步优化其体内分布, 提高疗效。

生物膜衍生递送材料可特异性地将 mRNA 递送至肿瘤细胞。Zhao 等^[64]设计了一种环状多肽修饰的癌细胞膜纳米颗粒, 用于递送 IL-12 的 mRNA。癌细胞膜作为该纳米颗粒的外壳, 可使其在肿瘤微环境中实现肿瘤归巢和同源性靶向。在小鼠实验中, 所制备的该仿生纳米颗粒展现出优异的靶向性和免疫治疗效果。Li 等^[65]设计了以白血病细胞膜囊泡修饰的金纳米颗粒, 经全身给药后可特异性靶向白血病细胞, 实现对白血病的选择性 mRNA 递送治疗。Xing 等^[66]设计了基于细胞外囊泡 (extracellular vesicle, EV) 的 mRNA 递送系统, 该系统将 mRNA 包裹于 EV 内部, 在阳性乳腺癌小鼠模型中,

mRNA-EV 可在肿瘤组织中特异性保留, 并显著抑制肿瘤生长、延长生存时间。

吸入是一种直接作用于肺部的给药方式, 但 mRNA-LNP 经吸入途径递送至肺部仍面临巨大挑战, 雾化器在压缩空气作用下易破坏 mRNA-LNP 的稳定性, 降低转染效率。因此, 核酸制剂吸入治疗的研究重点在于优化 LNP 以适配吸入装置^[67]。Lokugamage 等^[68]研究显示, 高摩尔比的聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 修饰可在雾化过程中保护 LNP, 从而促进 mRNA 在肺部高效表达。另一项研究也证实, 通过优化 PEG 摩尔比及胆固醇结构, 可有效稳定雾化后的 mRNA-LNP, 并促进其在囊性纤维化肺组织中的 mRNA 表达^[69]。针对雾化过程中 LNP 稳定性不足的问题, Kim 等^[70]通过向 LNP 配方中添加亲水性支链聚合物辅料 (bPEG20K), 在雾化时提升了 LNP 的带电性, 进而抑制了雾化引发的 LNP 聚集, 稳定了雾化后的 mRNA-LNP, 并促进肺部 mRNA 的表达。

新型脂质材料也可促进 mRNA 疫苗的靶向递送。通过将 LNP 中可电离脂质的酯键替换为酰胺键, 也可实现对肺部的靶向递送。研究表明, 含酰胺键的 306-N16B 组分制备的 LNP 经全身给药后可实现对肺部特异性 mRNA 递送, 且通过改变 LNP 中胺头基的化学结构可实现肺内特定亚细胞群体的转染^[42]。带负电的磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 作为信号分子, 能增强细胞摄取, 有研究用 PS 替换阳离子脂质后发现, LNP 的正电荷降低一半, 且肝与脾的蛋白表达比由 81 变为 13^[71]。此外, 将 PS 直接掺入 LNP 后静脉注射, 可在淋巴结和脾脏中同时检测到有效的蛋白表达。Ren 等^[72]研究发现, 引入支链和可降解脂尾的离子化脂质可增强 mRNA 对脾脏的选择性递送, 其设计的 A28-C6B2 脂质可在静脉注射后实现脾脏特异性 mRNA 高表达, 并能够高效地将 mRNA 递送至 APC。Cai 等^[73]通过筛选含硫酮醛和可电离胺的合成脂质库, 开发出一种活性氧可降解的 LNP, 能够选择性地将 mRNA 递送至 Hela 细胞, 并实现蛋白高效表达。

3.2.2 促进溶酶体逃逸 mRNA 疫苗的内体-溶酶体逃逸效率是影响核酸递送效率的限制性因素。当纳米颗粒通过胞吞和胞饮途径进入细胞后, 纳米颗粒需要在溶酶体逃逸, 否则会被溶酶体降解。仿生递送系统等多种新型递送系统通过诱导溶酶体膜去稳定化, 实现对溶酶体的干扰和破坏, 从而高效促进 mRNA 的溶酶体逃逸^[74]。

Li 等^[75]以细菌外膜囊泡 (outer membrane vesicle, OMV) 为 mRNA 递送平台, 通过基因工

程在其表面修饰李斯特溶素 O, 制备得到 OMV-LL; 将其与抗原 mRNA 结合后递送至树突状细胞 (dendritic cell, DC), 其中李斯特溶素 O 可有效破坏溶酶体膜, 进而促进溶酶体逃逸及抗原的交叉呈递。研究表明, OMV-LL-mRNA 能显著抑制黑色素瘤生长, 并在结肠癌模型中实现了 37.5% 的治愈率。此外, 该疫苗还可诱导持久的免疫记忆, 在 60 天后仍能有效保护小鼠抵御肿瘤复发。

He 等^[76]开发了一种新型 mRNA 纳米疫苗 (HM@Mn₃O₄-mRNA), 其利用 DC 细胞和细菌膜组成的混合细胞膜包裹负载 OVA mRNA 的氧化锰纳米颗粒。该氧化锰颗粒具备优异的离子交换能力, 可在细胞内诱导缓慢质子化, 促进抗原逃逸。体外实验结果显示, HM@Mn₃O₄-mRNA 纳米疫苗能靶向 DC 细胞, 实现溶酶体逃逸, 增强抗原表达, 从而高效呈递抗原并激活 DC 细胞。体内实验结果显示, HM@Mn₃O₄-mRNA 纳米疫苗可靶向并滞留于淋巴结, 持续刺激抗原呈递, 从而激发强烈的 T 细胞免疫应答。

Li 等^[77]用软骨细胞仿生、含氟苯硼酸修饰的可离子化脂质体开发了 ChD-FL/sgGPR 递送系统, 可协同递送 mRNA, 显著增强了溶酶体逃逸和核内递送效率。在肥胖大鼠模型中, 关节腔内注射 ChD-FL/sgGPR 实现了药物的长效滞留, 有效抑制了软骨组织降解和骨结构破坏, 显著延缓了骨关节炎的进程。

Qiu 等^[78]开发了一种可吸入的乳外泌体递送系

统, 用于包裹靶向转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 的 siRNA (M-siTGF- $\beta 1$)。M-siTGF- $\beta 1$ 通过雾化方式递送至肺纤维化小鼠的肺部, 体外实验证实其具有良好的胶原组织穿透性和溶酶体逃逸能力。研究结果显示, 吸入式 M-siTGF- $\beta 1$ 能显著减轻炎症浸润, 抑制细胞外基质沉积, 并使肺纤维化小鼠的生存率提高了 4.7 倍。

4 结语与展望

mRNA 疫苗技术备受瞩目, 已成为生物医药领域的重要变革技术。随着 SARS-CoV-2 流行进入常态化防控阶段, mRNA 疫苗的研究焦点已从单一传染病防控, 拓展至肿瘤免疫、罕见病及其他感染性疾病等多元方向, 展现出广阔的应用前景。然而, mRNA 疫苗产业化进程中仍面临诸多挑战: 递送系统的专利壁垒限制了关键技术创新; 现有以 LNP 为主的递送载体在靶向性及转染效率等方面尚有待提升; mRNA 分子的稳定性差、易被核酸酶降解等缺点, 也制约了疫苗的有效性和持久性。尽管 mRNA 疫苗在全球范围内市场潜力巨大, 但除 SARS-CoV-2 疫苗外, 真正实现商业化的 mRNA 产品仍极为有限。未来, 突破专利和递送技术瓶颈、提升 mRNA 靶向能力、优化载体与降低生产成本, 将是推动 mRNA 疫苗持续发展的关键。随着技术的不断革新与产学研用深度融合, mRNA 疫苗有望在传染病预防、肿瘤治疗等更多疾病领域发挥重要作用。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Karikó K, Buckstein M, Ni H, et al. Suppression of RNA recognition by toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA[J]. *Immunity*, 2005, 23(2): 165-175.
- [3] Semple S C, Akinc A, Chen J, et al. Rational design of cationic lipids for siRNA delivery[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(2): 172-176.
- [4] Barbier A J, Jiang A Y, Zhang P, et al. The clinical progress of mRNA vaccines and immunotherapies[J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(6): 840-854.
- [5] Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines[J]. *Nature*, 2021, 597(7876): 318-324.
- [6] Bitounis D, Jacquinet E, Rogers M A, et al. Strategies to reduce the risks of mRNA drug and vaccine toxicity[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(4): 281-300.
- [7] 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.
- [8] Kirsebom F C M, Andrews N, Stowe J, et al. Effectiveness of the Sanofi/GSK (VidPrevtyn Beta) and Pfizer-BioNTech (Comirnaty Original/Omicron BA.4-5) bivalent vaccines against hospitalisation in England[J]. *EClinicalMedicine*, 2024, 71: 102587.
- [9] Abul Y, Nugent C, Vishnepolskiy I, et al. Broad immunogenicity to prior SARS-CoV-2 strains and JN.1 variant elicited by XBB.1.5 vaccination in nursing home residents[J]. *Geroscience*, 2025, 47(2): 1887-1896.
- [10] Li J, Liu Q, Liu J, et al. Development of bivalent mRNA vaccines against SARS-CoV-2 variants[J]. *Vaccines (Basel)*, 2022, 10(11): 1807.
- [11] Komorowski A S, Mbuagbaw L, Jeyanathan M, et al. AeroVax: study protocol for a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase

- 2 trial to evaluate safety and immunogenicity of a next-generation COVID-19 vaccine delivered by inhaled aerosol to humans[J]. *ERJ Open Res*, 2025, 11(3): 00758–2024.
- [12] Widge A T, Hofstetter A R, Houser K V, *et al.* An influenza hemagglutinin stem nanoparticle vaccine induces cross-group 1 neutralizing antibodies in healthy adults[J]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(692): eade4790.
- [13] Khoshnejad M, Parhiz H, Shuvaev V V, *et al.* Ferritin-based drug delivery systems: hybrid nanocarriers for vascular immunotargeting[J]. *J Control Release*, 2018, 282: 13–24.
- [14] Wee E G, Moyo N A, Saunders K O, *et al.* Parallel induction of CH505 B cell ontogeny-guided neutralizing antibodies and tHIVconsvX conserved mosaic-specific T cells against HIV-1[J]. *Mol Ther Meth Clin Dev*, 2019, 14: 148–160.
- [15] Williams W B, Wiehe K, Saunders K O, *et al.* Strategies for induction of HIV-1 envelope-reactive broadly neutralizing antibodies[J]. *J Int AIDS Soc*, 2021, 24(Suppl 7): e25831.
- [16] Sayour E J, Boczkowski D, Mitchell D A, *et al.* Cancer mRNA vaccines: clinical advances and future opportunities[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(7): 489–500.
- [17] Miao L, Zhang Y, Huang L. mRNA vaccine for cancer immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 41.
- [18] Weber J S, Carlino M S, Khatkhat A, *et al.* Individualised neoantigen therapy mRNA-4157 (V940) plus pembrolizumab versus pembrolizumab monotherapy in resected melanoma (KEYNOTE-942): a randomised, phase 2b study[J]. *Lancet*, 2024, 403(10427): 632–644.
- [19] Rojas LA, Sethna Z, Soares K C, *et al.* Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2023, 618(7963): 144–150.
- [20] Sethna Z, Guasp P, Reiche C, *et al.* RNA neoantigen vaccines prime long-lived CD8⁺ T cells in pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2025, 639(8056): 1042–1051.
- [21] Koeberl D, Schulze A, Sondheimer N, *et al.* Interim analyses of a first-in-human phase 1/2 mRNA trial for propionic acidaemia[J]. *Nature*, 2024, 628(8009): 872–877.
- [22] Granit V, Benatar M, Kurtoglu M, *et al.* Safety and clinical activity of autologous RNA chimeric antigen receptor T-cell therapy in myasthenia gravis (MG-001): a prospective, multicentre, open-label, non-randomised phase 1b/2a study[J]. *Lancet Neurol*, 2023, 22(7): 578–590.
- [23] Pardi N, Krammer F. mRNA vaccines for infectious diseases: advances, challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(11): 838–861.
- [24] Arevalo C P, Bolton M J, Le Sage V, *et al.* A multivalent nucleoside-modified mRNA vaccine against all known influenza virus subtypes[J]. *Science*, 2022, 378(6622): 899–904.
- [25] Lin M, Yin Y, Zhao X, *et al.* A truncated pre-F protein mRNA vaccine elicits an enhanced immune response and protection against respiratory syncytial virus[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 1386.
- [26] Alameh M G, Semon A, Bayard N U, *et al.* A multivalent mRNA-LNP vaccine protects against *Clostridioides difficile* infection[J]. *Science*, 2024, 386(6717): 69–75.
- [27] Ronk A J, Lloyd N M, Zhang M, *et al.* A Lassa virus mRNA vaccine confers protection but does not require neutralizing antibody in a guinea pig model of infection[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5603.
- [28] Ye Q, Zhang D, Zhang R R, *et al.* A penta-component mpox mRNA vaccine induces protective immunity in nonhuman primates[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 10611.
- [29] Kon E, Levy Y, Elia U, *et al.* A single-dose F1-based mRNA-LNP vaccine provides protection against the lethal plague bacterium[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(10): eadg1036.
- [30] Liu C, Shi Q, Huang X, *et al.* mRNA-based cancer therapeutics[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(8): 526–543.
- [31] Trivedi V, Yang C, Klippel K, *et al.* mRNA-based precision targeting of neoantigens and tumor-associated antigens in malignant brain tumors[J]. *Genome Med*, 2024, 16(1): 17.
- [32] Guo X, Yang Z, Guo Z, *et al.* A polymeric mRNA vaccine featuring enhanced site-specific mRNA delivery and inherent STING-stimulating performance for tumor immunotherapy[J]. *Adv Mater*, 2025, 37(17): e2410998.
- [33] Cacicedo M L, Weinl-Tenbruck C, Frank D, *et al.* Phenylalanine hydroxylase mRNA rescues the phenylketonuria phenotype in mice[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 993298.
- [34] Asrani K H, Cheng L, Cheng C J, *et al.* Arginase I mRNA therapy - a novel approach to rescue arginase 1 enzyme deficiency[J]. *RNA Biol*, 2018, 15(7): 914–922.
- [35] Cao J, An D, Galduroz M, *et al.* mRNA therapy improves metabolic and behavioral abnormalities in a murine model of citrin deficiency[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(7): 1242–1251.
- [36] Karadagi A, Cavedon A G, Zemack H, *et al.* Systemic modified messenger RNA for replacement therapy in alpha 1-antitrypsin deficiency[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 7052.
- [37] Zong Y, Lin Y, Wei T, *et al.* Lipid nanoparticle (LNP) enables mRNA delivery for cancer therapy[J]. *Adv Mater*, 2023, 35(51): e2303261.
- [38] Eygeris Y, Gupta M, Kim J, *et al.* Chemistry of lipid nanoparticles for RNA delivery[J]. *Acc Chem Res*, 2022, 55(1): 2–12.
- [39] Jörgensen A M, Wibel R, Bernkop-Schnürch A. Biodegradable

- cationic and ionizable cationic lipids: a roadmap for safer pharmaceutical excipients[J]. *Small*, 2023, 19(17): e2206968.
- [40] Xu Y, Golubovic A, Xu S, *et al.* Rational design and combinatorial chemistry of ionizable lipids for RNA delivery[J]. *J Mater Chem B*, 2023, 11(28): 6527–6539.
- [41] Qiu M, Glass Z, Chen J, *et al.* Lipid nanoparticle-mediated codelivery of Cas9 mRNA and single-guide RNA achieves liver-specific *in vivo* genome editing of Angptl3[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(10): e2020401118.
- [42] Qiu M, Tang Y, Chen J, *et al.* Lung-selective mRNA delivery of synthetic lipid nanoparticles for the treatment of pulmonary lymphangioliomyomatosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(8): e2116271119.
- [43] Chen Z, Tian Y, Yang J, *et al.* Modular design of biodegradable ionizable lipids for improved mRNA delivery and precise cancer metastasis delineation *in vivo*[J]. *J Am Chem Soc*, 2023, 145(44): 24302–24314.
- [44] Lee S M, Cheng Q, Yu X, *et al.* A systematic study of unsaturation in lipid nanoparticles leads to improved mRNA transfection *in vivo*[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(11): 5848–5853.
- [45] Zhao X, Chen J, Qiu M, *et al.* Imidazole-based synthetic lipidoids for *in vivo* mRNA delivery into primary T lymphocytes[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59(45): 20083–20089.
- [46] Ho T C, Kim H S, Chen Y, *et al.* Scaffold-mediated CRISPR-Cas9 delivery system for acute myeloid leukemia therapy[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(21): eabg3217.
- [47] Elia U, Ramishetti S, Rosenfeld R, *et al.* Design of SARS-CoV-2 hFc-conjugated receptor-binding domain mRNA vaccine delivered via lipid nanoparticles[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(6): 9627–9637.
- [48] Billingsley M M, Gong N, Mukalel A J, *et al.* *In vivo* mRNA CAR T cell engineering via targeted ionizable lipid nanoparticles with extrahepatic tropism[J]. *Small*, 2024, 20(11): e2304378.
- [49] Riley R S, Kashyap M V, Billingsley M M, *et al.* Ionizable lipid nanoparticles for *in utero* mRNA delivery[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(3): eaba1028.
- [50] Chen K, Fan N, Huang H, *et al.* mRNA vaccines against SARS-CoV-2 variants delivered by lipid nanoparticles based on novel ionizable lipids[J]. *Adv Funct Mater*, 2022, 32(39): 2204692.
- [51] Zhang Y, Yan J, Hou X, *et al.* STING agonist-derived LNP-mRNA vaccine enhances protective immunity against SARS-CoV-2[J]. *Nano Lett*, 2023, 23(7): 2593–2600.
- [52] Yan J, Zhang Y, Du S, *et al.* Nanomaterials-mediated co-stimulation of toll-like receptors and CD40 for antitumor immunity[J]. *Adv Mater*, 2022, 34(47): e2207486.
- [53] Liu J Q, Zhang C, Zhang X, *et al.* Intratumoral delivery of IL-12 and IL-27 mRNA using lipid nanoparticles for cancer immunotherapy[J]. *J Control Release*, 2022, 345: 306–313.
- [54] Zhang Y, Hou X, Du S, *et al.* Close the cancer-immunity cycle by integrating lipid nanoparticle-mRNA formulations and dendritic cell therapy[J]. *Nat Nanotechnol*, 2023, 18(11): 1364–1374.
- [55] Du S, Li W, Zhang Y, *et al.* Cholesterol-amino-phosphate (CAP) derived lipid nanoparticles for delivery of self-amplifying RNA and restoration of spermatogenesis in infertile mice[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(11): e2300188.
- [56] Han X, Alameh M G, Gong N, *et al.* Fast and facile synthesis of amidine-incorporated degradable lipids for versatile mRNA delivery *in vivo*[J]. *Nat Chem*, 2024, 16(10): 1687–1697.
- [57] Jiang A Y, Witten J, Raji I O, *et al.* Combinatorial development of nebulized mRNA delivery formulations for the lungs[J]. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19(3): 364–375.
- [58] Lu R M, Hsu H E, Perez S J L P, *et al.* Current landscape of mRNA technologies and delivery systems for new modality therapeutics[J]. *J Biomed Sci*, 2024, 31(1): 89.
- [59] Wang W, Feng S, Ye Z, *et al.* Prediction of lipid nanoparticles for mRNA vaccines by the machine learning algorithm[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(6): 2950–2962.
- [60] Lewis M M, Beck T J, Ghosh D. Applying machine learning to identify ionizable lipids for nanoparticle-mediated delivery of mRNA[PP/OL]. bioRxiv (2023-11-09) [2025-07-08]. https://www.researchgate.net/publication/375630937_Applying_machine_learning_to_identify_ionizable_lipids_for_nanoparticle-mediated_delivery_of_mRNA.
- [61] Yuan Y, Wu Y, Cheng J, *et al.* Applications of artificial intelligence to lipid nanoparticle delivery[J]. *Particuology*, 2024, 90: 88–97.
- [62] Carini C, Seyhan A A. Tribulations and future opportunities for artificial intelligence in precision medicine[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 411.
- [63] Song D, Zhao Y, Wang Z, *et al.* Tuning lipid nanoparticles for RNA delivery to extrahepatic organs[J]. *Adv Mater*, 2024, 36(44): e2401445.
- [64] Zhao P, Tian Y, Lu Y, *et al.* Biomimetic calcium carbonate nanoparticles delivered IL-12 mRNA for targeted glioblastoma sono-immunotherapy by ultrasound-induced necroptosis[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 525.
- [65] Li J, Wu H, Yu Z, *et al.* Hematopoietic stem and progenitor cell membrane-coated vesicles for bone marrow-targeted leukaemia drug delivery[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5689.
- [66] Xing Y, Zhang F, Ji P, *et al.* Efficient delivery of GSDMD-N mRNA

- by engineered extracellular vesicles induces pyroptosis for enhanced immunotherapy[J]. *Small*, 2023, 19(20): e2204031.
- [67] Simonsen J B. Lipid nanoparticle-based strategies for extrahepatic delivery of nucleic acid therapies - challenges and opportunities[J]. *J Control Release*, 2024, 370: 763-772.
- [68] Lokugamage M P, Vanover D, Beyersdorf J, *et al.* Optimization of lipid nanoparticles for the delivery of nebulized therapeutic mRNA to the lungs[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(9): 1059-1068.
- [69] Alton E W F W, Armstrong D K, Ashby D, *et al.* Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(9): 684-691.
- [70] Kim J, Jozic A, Lin Y, *et al.* Engineering lipid nanoparticles for enhanced intracellular delivery of mRNA through inhalation[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(9): 14792-14806.
- [71] Luozhong S, Yuan Z, Sarmiento T, *et al.* Phosphatidylserine lipid nanoparticles promote systemic RNA delivery to secondary lymphoid organs[J]. *Nano Lett*, 2022, 22(20): 8304-8311.
- [72] Ren Y, Zeng L, Tang Y, *et al.* Enhancing spleen-targeted mRNA delivery with branched biodegradable tails in lipid nanoparticles[J]. *J Mater Chem B*, 2024, 12(33): 8062-8066.
- [73] Cai W, Luo T, Chen X, *et al.* A combinatorial library of biodegradable lipid nanoparticles preferentially deliver mRNA into tumor cells to block mutant RAS signaling[J]. *Adv Funct Mater*, 2022, 32(41): 2204947.
- [74] Chatterjee S, Kon E, Sharma P, *et al.* Endosomal escape: a bottleneck for LNP-mediated therapeutics[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(11): e2307800120.
- [75] Li Y, Ma X, Yue Y, *et al.* Rapid surface display of mRNA antigens by bacteria-derived outer membrane vesicles for a personalized tumor vaccine[J]. *Adv Mater*, 2022, 34(20): e2109984.
- [76] He C, Shi C, Fang M, *et al.* Amplifying STING activation by biomimetic manganese mRNA nanovaccines for local and systemic cancer immunotherapy[J]. *J Control Release*, 2025, 383: 113788.
- [77] Li M Y, Wu L M, Xu M J, *et al.* Biomimetic liposomes for G-protein-coupled receptor 120 exo/endogenous coactivation to reprogram lipid metabolism in obesity-associated osteoarthritis[J]. *ACS Nano*, 2025, 19(22): 20711-20728.
- [78] Qiu C, Zhao Z, Xu C, *et al.* Nebulized milk exosomes loaded with siTGF- β 1 ameliorate pulmonary fibrosis by inhibiting EMT pathway and enhancing collagen permeability[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 434.



【专家介绍】 陆伟：复旦大学药学院教授，博士生导师，智能化递药教育部重点实验室副主任。国家科技创新领军人才、国家海外高层次人才、东方学者特聘教授、上海市优秀学术带头人、上海市卫生健康学科带头人、全国优秀博士学位论文获得者。复旦大学药学本科、药剂学博士，美国 M.D. 安德森癌症中心医学分子影像学博士后。曾任美国罗德岛大学药学院助理教授、副教授，获终身教职。从事新型药物制剂与诊疗一体化药物研究。主持国家自然科学基金重大项目课题、国家自然科学基金重大研究计划培育项目等。以通信作者在 *Nat Biotechnol*, *Nat Commun* 等权威期刊发表高水平学术论文 35 篇，授权中国发明专利 8 项。担任 *Asian J, Pharm Sci*, 《药学报》中英文两刊，《药学进展》及《中国新药与临床杂志》等杂志编委/青年编委，中国抗癌协会纳米肿瘤学专业委员会委员，上海市药学会药剂学专业委员会委员等。

(责任编辑：康银花)