

• 综 述 •

体外转录合成 mRNA 递送材料的研究进展*

韩语诚^{1,2} 综述, 胡溢洪^{1,2}, 何旻蕙^{1,2}, 邹先琼^{1△} 审校

(1. 桂林医学院附属口腔医院口腔颌面外科, 广西 桂林 541004; 2. 桂林医学院基础医学院, 广西 桂林 541100)

[摘要] 信使 RNA(mRNA)递送技术是指通过体外转录合成 mRNA 并递送至细胞内,表达出相应的蛋白进而发挥重要的生物学功能。近年来,mRNA 递送技术在疫苗和基因治疗等方面成为研究的前沿和热点。mRNA 一般采用纳米粒或非纳米粒材料包裹后进行递送。尽管取得了许多进展,但缺乏有效和无毒的递送材料仍然是限制 mRNA 应用的主要因素。病毒系统(如慢病毒和腺相关病毒)的使用已被广泛认为是核酸的有效递送方式,但不需要的免疫反应是其发展的根本障碍。因此,越来越多的非病毒载体(包括脂质、聚合物、基于纳米的载体或功能载体)作为安全、有效的递送工具受到关注。该文综述了近年来各种 mRNA 递送材料的进展、挑战及未来方向。

[关键词] mRNA 递送; 脂质; 聚合物; 纳米; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.16.018 中图法分类号:R392.3

文章编号:1009-5519(2023)16-2789-06 文献标识码:A

Research progress in transcription and synthesis of mRNA delivery materials in vitro*

HAN Yucheng^{1,2}, HU Yihong^{1,2}, HE Minhui^{1,2}, ZOU Xianqiong^{1△}

(1. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatology Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541004, China; 2. Department of Immunology, College of Basic Medicine, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541100, China)

[Abstract] Messenger RNA (mRNA) delivery technology refers to the synthesis of mRNA by in vitro transcription and delivery to cells, and the expression of corresponding proteins to exert important biological functions. In recent years, mRNA delivery technology has become a research frontier and hotspot in vaccine and gene therapy. mRNA is generally packaged with nanoparticles or non-nanoparticles for delivery. Despite many advances, the lack of effective and non-toxic delivery methods remains a major factor limiting the application of mRNA. The use of viral systems (such as lentiviruses and adeno-associated viruses) has been widely recognized as an effective way to deliver nucleic acids, but an unwanted immune response is a fundamental barrier to its development. As a result, more and more non-viral vectors (including lipids, polymers, nano-based carriers or functional carriers) have attracted attention as safe and effective delivery vehicles. This paper reviewed the progress, challenges and future directions of various mRNA delivery materials in recent years.

[Key words] mRNA delivery; Lipid; Polymer; Nano; Review

自 2020 年初暴发的新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染及信使 RNA(mRNA)疫苗的成功应用,使 mRNA 递送技术成为研究的前沿及热点^[1-4]。mRNA 递送技术不需要将 mRNA 递送至细胞核,在细胞质中即可翻译,递送的 mRNA 不会整合到细胞基因组中,避免了任何潜在的治疗性突变^[5-6]。如何提高合成 mRNA 的稳定性及其递送效率一直是该领域

研究的热点问题^[7]。mRNA 一般采用纳米粒或非纳米粒材料包裹后进行递送,mRNA 递送材料一直是该领域研究的热点。

而提高合成 mRNA 的稳定性及其递送效率的方法之一就是使用合适的材料作为载体。因 mRNA 是一种天然的生物分子,自身不能轻易穿过细胞膜,因此需要特殊的递送方法和材料作为载体,在其中它们

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82160185)。

△ 通信作者,E-mail:zouxq019@glmc.edu.cn。

需要被免疫或非免疫细胞吸收并转化为抗原,呈递给 T 细胞和 B 细胞在体内发挥免疫作用^[8]。目前一般采用纳米粒或非纳米粒材料包裹后对其进行递送。这些常见的 mRNA 递送材料包括脂质纳米粒(LNP)、类脂质纳米粒、聚合物纳米粒、脂质-聚合物纳米材料、阳离子纳米乳、热纳米颗粒等^[9-13]。

1 LNP

LNP 制剂是一种很有前景的 mRNA 疫苗载体,包括支链尾部 LNP、靶向 LNP、可电离 LNP、功能化 LNP 等^[14-18]。

1.1 支链尾部 LNP 可电离 LNP 306Oi10 是一种特别有效且多功能的支链尾部 LNP。与大多数其他已建立的 LNP 不同,306Oi10 可以在同一配方内传递功能不同的 mRNA 混合物,从而有可能治疗由多种缺陷蛋白质引起的疾病。306Oi10 也是少数能够在体内进行基因编辑的非病毒材料之一。当全身给药时,306Oi10 优于 2 种“金标准”脂质,在同一配方内共传递多个 mRNA,并在小鼠肝脏中启用集群规则间隔短回文重复序列(CRISPR)介导的基因编辑。这种材料有助于肝细胞、库普弗细胞和肝内皮细胞的同时转染。该纳米颗粒将 mRNA 传递到大于 80% 的 3 种主要肝细胞类型,可以改善源于肝功能障碍的疾病治疗。306Oi10 促进了肝脏所有主要细胞类型的蛋白质表达,这与许多肝细胞有限的递送系统不同。静脉注射 306Oi10 可导致血清细胞因子和免疫球蛋白 G(IgG)水平的轻微增加,且无明显的肝脏毒性^[13]。因此,306Oi10 是一种多功能的 mRNA 递送材料,具有高效能和低免疫原性毒性,并有广阔的应用前景。306Oi10 特别有希望用于无毒、无免疫原性和有效的 mRNA 递送治疗应用。

1.2 靶向 LNP 迄今为止,系统给药导致肝外组织编辑效率低,部分原因是缺乏针对当前运载工具的特定靶点。为了实现对非肝脏疾病或传播性疾病(如癌症)的治疗效果,需要具有足够编辑效率的更高组织特异性靶向 LNP。用于输送使用新型氨基可电离脂质的 Cas9 mRNA 和 sgRNAs。将针对 PLK1 的 CRISPR LNPs(如 sgPLK1 cLNPs)单次脑内注射到侵袭性原位胶质母细胞瘤中,可在体内实现约 70% 的基因编辑,从而导致肿瘤细胞凋亡,抑制了 50% 的肿瘤生长,提高了 30% 患者的生存率。为了到达扩散性肿瘤,还设计了靶向 LNP 用于抗体靶向递送。腹腔注射表皮因子生长受体(EGFR)靶向 sgPLK1 cLNPs 可选择性摄取扩散性卵巢肿瘤,体内基因编辑率高达 80%^[19]。破坏肿瘤体内基因表达的能力为癌症治疗和研究开辟了新途径,并为非癌组织的靶向基因编辑

提供了潜在应用。

1.3 可电离 LNP 嵌合抗原受体(CAR)T 细胞治疗 依赖于对患者 T 细胞的体外操作,以创建有效的癌症靶向治疗。可电离 LNP 被设计用于体外 mRNA 载体传递到人类 T 细胞。用纯化的饱和可电离脂质配制的 LNP 可改善 mRNA 传递。合成了一个由 24 种可电离脂质组成的文库,将其配制成 LNP,并使用荧光素酶 mRNA 向悬浮细胞的传递筛选,该文库中拥有能够增强脂质体 mRNA 传递的制剂。选择表现最好的 LNP 配方 C14-4,用于向原代人类 T 细胞输送 CAR mRNA^[20]。这些发现证明了可电离 LNP 向原代人类 T 细胞传递 mRNA 以诱导功能蛋白表达的能力,并表明可电离 LNP 具有增强基于 mRNA 的 CAR T 细胞工程方法的潜力。

1.4 功能化 LNP 功能化 LNP 传递 mRNA 可以重编程细胞蛋白生产,其由可电离阳离子脂质(DLin-MC3-DMA)、辅助脂质(二硬脂酰磷脂酰胆碱、DSPC 和胆固醇)和聚乙二醇(PEG)脂质组成。功能化 LNP 设计中需要考虑的一个重要方面是粒度对活性的影响。颗粒大小可以通过改变 PEG 脂质含量来控制,在较高的 PEG 化脂质比例下生成较小的功能化 LNP。这些功能化 LNP 可用于设计和配制性能改进的运载工具,其允许低剂量给药,这有助于减少功能化 LNP 的毒性不良反应。另外,脂质在功能化 LNP 中分布不均匀。它们的结构信息使研究者能够更好地设计功能化 LNP,对于未来通过设计具有特定内部结构和表面组成的纳米颗粒来开发更安全的运载工具的努力具有重要意义,从而改善 mRNA-LNP 的生物性能^[21]。

总之,与其他纳米技术相比,用于 mRNA 递送的 LNP 领域相对成熟,降低了 mRNA 受不稳定性和免疫原性的影响,成了一种相对高效和安全的递送系统,提高了血清中 mRNA 的稳定性并避免免疫系统的激活,特别是达到将 mRNA 引入免疫细胞用于疫苗目的。综上所述,相较于其他纳米技术,LNP 具有高性能、低免疫原性和无毒性的优势,靶向 LNP 可用于基因编辑,可电离 LNP 递送 mRNA 对癌症进行靶向治疗,功能化 LNP 递送 mRNA 重编程细胞蛋白生产;LNP 在 mRNA 递送中将会有更广泛的应用前景。

2 聚合物纳米颗粒

聚合物纳米颗粒已成为 DNA、siRNA、mRNA、蛋白质、化疗药物等的有效运载工具。通常,聚合物纳米粒子是通过纳米沉淀或乳液技术制备的。当通过合成优化后,这些聚合物载体可作为 mRNA 的高功能递送载体。其表面易于被配体等其他材料改性,

赋予靶向能力,还可利用其他聚合物提供诸如 pH 响应释放等特性,以调整释放曲线。此外,由于 mRNA 和聚合物之间的结合强度是 mRNA 表达效率的关键因素,因此,针对聚合物颗粒,必须仔细考虑所用聚合物的电荷和大小。随着聚合物化学的快速发展,大量其他阳离子聚合物被合成并应用于 mRNA 传递。最近,研究者开发的一种新型三嵌段聚合物,其使用范围包括甲基丙烯酸二乙氨基乙酯(DMAEMA)促进 mRNA 缩合,聚乙二醇甲基醚(PEGMA)增强稳定性和生物相容性,以及甲基丙烯酸二乙胺乙酯(DEAEMA)和甲基丙烯酸丁酯(BMA)的共聚物促进细胞溶质进入。聚合物 mRNA 传递领域始于二乙氨基乙基葡聚糖的使用,现在已经发展到可以与许多成熟的脂质系统相匹配^[8]。

尽管 LNP 是临床上最先进的 mRNA 递送系统,而聚合物纳米颗粒用于 mRNA 传递仍处于起步阶段,但在实验中,聚合物纳米颗粒在提高 mRNA 转染效率及安全性、生物相容性方面却显示出巨大潜力和优势,可以靶向递送 mRNA。

3 脂质-聚合物杂化纳米材料

脂质-聚合物杂化纳米颗粒融合了脂质和聚合物的物理化学性质,是一类很有前途的 mRNA 输送生物材料。TT3-LLN 是一种 N1、N3、N5 三(2-氨基乙基)苯-1,3,5-三甲酰胺(TT)衍生的类脂纳米材料,能够有效地传递多种 mRNA。而脂质-聚合物杂化纳米颗粒则是由一系列可生物降解和生物相容的聚合物材料纳入 TT3 LLN 中。大多数含有疏水性聚合物的脂质-聚合物杂化纳米材料显示出比 TT3 LLN 和含有亲水性聚合物 LP 更好的转染效率。合成优化后的脂质-聚合物杂化纳米材料配方 PLGA4-7 LPN,不仅显著提高了 mRNA 传递效率,还延长了蛋白表达。在优化的 PLGA4-7 LPN 中,聚合物材料 PLGA4 是一种端酸的 PLGA,当加入 TT3 LLN 时,PLGA4 表现出 mRNA 传递的最高效率^[15]。有报道称,由聚 β-氨基酯(PBAEs)和核酸组成的用于全身输送到肺部

的混合聚合物脂质纳米制剂,通过 PBAEs 与 PEG 的共同配方,mRNA 配方的开发提高了血清稳定性和体外效力。这些制剂能够在小鼠静脉注射后将 mRNA 功能性地传递到肺部^[15]。因此,这些新的脂质聚合物制剂值得进一步研究和开发,用于 mRNA 传递和潜在的治疗应用。

综上所述,脂质-聚合物杂化纳米材料具有更好的转染效率,并且能够有效传递多种 mRNA。由于缺乏足够的研究来比较不同的 mRNA 递送系统并确定最佳的方法,因此目前很难假设哪种方法是 mRNA 递送最有效的方法。显然,迫切需要研究各种递送选择并建立快速优化方法,以同时筛选大量 mRNA 递送系统。这将加速这一极具前景的生物医学研究领域的发展进程。

4 阳离子纳米乳

阳离子纳米乳液(CNE)将纳米乳液与阳离子脂质结合用于 mRNA 递送。纳米乳液利用疏水性和亲水性表面活性剂稳定水相中的油核生成颗粒,可以通过剧烈搅拌、超声和微流体等各种方法诱导^[22]。据研究,目前存在一种 CNE 递送系统,其递送自扩增 mRNA 疫苗的过程中还可招募类似于 MF59 佐剂亚单位疫苗的免疫细胞来增强局部免疫环境。肌肉内的蛋白质表达部位和蛋白质表达量与病毒载体相似^[23]。

以上研究表明,阳离子纳米乳初步得到研究,在 mRNA 递送中逐步得到应用。阳离子纳米乳是非病毒递送系统,可以增强递送效率,从而显著提高疫苗的效力,具有耐受性好的优点^[24]。

虽然 LNP 是目前被认为最有潜力的 mRNA 递送系统,但是使用纳米技术进行 mRNA 的递送仍处于初级阶段,需要进一步的开发。更多作为 mRNA 递送材料的各类新型高分子载体可见表 1。该领域的未来发展很大程度上取决于进一步发现和优化更高效的聚合物,以提高 mRNA 转染效率及安全性和生物相容性。

表 1 mRNA 递送材料

| 类别 | 材料 | 特点 | 参考文献 |
|-----|---|---|------|
| LNP | 支链尾部 LNP-306Oi10 | 具有高效能和低免疫原性,无毒性。 | [13] |
| | 靶向 LNP-sgPLK1 cLNPs | 提高 CRISPR-Cas9 基因编辑的有效性和安全性。 | [19] |
| | 可电离 LNP | 引发了有效的癌症杀伤活性,LNPs 向原代人 T 细胞递送 mRNA 以诱导功能性蛋白表达的能力。 | [20] |
| | DLin-MC3-DMA、辅助脂质(二硬脂酰磷脂酰胆碱、DSPC 和胆固醇)和 PEG 脂质组成功能化 LNP | 能够在体外转染人脂肪细胞和肝细胞。所生成的关于 LNP 中不同脂质位置的数据允许设计和配制具有改进性能的输送载体。 | [21] |

续表 1 mRNA 递送材料

| 类别 | 材料 | 特点 | 参考文献 |
|-----------|--|---|------|
| | 阳离子脂质 N-[1-(2,3-二氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA) | 显示出高效的基因转染。 | [25] |
| | 1,2-二油酰基-3-三甲基丙烷(DOTAP)和胆固醇以 1:1 的摩尔比组成的阳离子脂质体(Lipo) | 通过与载体/mRNA 复合物的静电相互作用实现鱼精蛋白/mRNA 的有效封装。脂质鱼精蛋白 RNA (LPR)包裹的修饰 mRNA 显示肿瘤细胞对细胞的摄取显著增加。 | [26] |
| | DOTMA 和 1,2-二油酰基磷酰乙醇胺(DOPE)构建阳离子 Lipo | 可有效介导树突状细胞(DC)和巨噬细胞的 mRNA 摄取并诱导抗原表达。编码肿瘤抗原的 RNA 脂质体诱导了强烈的效应和记忆 T 细胞反应,介导了对进行性肿瘤的极好抑制。 | [27] |
| | 编码白细胞介素 15(IL-15) | 在原位 CT26 结肠癌模型中,腹腔内和静脉注射编码 IL-15 的载体/mRNA 可以通过诱导全身性抗肿瘤免疫反应,有效抑制肿瘤生长和肺转移。 | [28] |
| 聚合物纳米粒 | DMAEMA、PEGMA 及 DEAEMA、BMA 的共聚物新型三嵌段聚合物 | 提高 mRNA 转染效率及安全性、生物相容性,赋予靶向能力。 | [8] |
| | 硬脂酸[聚乙烯亚胺硬脂酸(PSA)]修饰聚乙烯亚胺 | PSA 可以自组装形成聚合物胶束,有效地传递 mRNA 并诱导抗原特异性免疫反应。 | [29] |
| | 甘露糖基化聚乙烯亚胺 | 聚乙烯亚胺的甘露糖基化增加了体外转染细胞的百分比,促进人类皮肤上皮细胞中的蛋白质表达。 | [30] |
| | 两性离子磷脂聚合物(ZPPs) | 用于血清抗性和烷基链的引入,同时增强了细胞的生长。 | [31] |
| 脂质聚合物纳米材料 | N1、N3、N5 三(2-氨基乙基)苯-1,3,5-三(TT 衍生的 TT3-LLN | 提高了 mRNA 传递效率,延长了蛋白表达,提高了血清稳定性和体外效力 | [15] |
| 阳离子纳米乳 | CNE | 非病毒递送系统,增强递送效率,从而显著提高疫苗的效力,耐受性好。 | [23] |
| | 阳离子纳米肽 LAH4-L1 将 mRNA 包封到 LAH4-L1/mRNA 多肽中,然后将 LAH4-L2/mRNA 多肽吸附到聚乳酸纳米颗粒(PLA-NPs)上 | PLA-NPs/LAH4-L1/mRNA 纳米复合物在 DC 中显示出高效的基因转染效率,并激活了先天和免疫信号应答。 | [32] |
| | PEG 修饰的阳离子纳米肽 KL4(PEG12KL4) | PEG12KL4/mRNA 复合物以 10:1(w/w)的质量比在人肺上皮细胞中显示出有效的转染。 | [33] |
| | 阳离子纳米肽 GALA 功能化的 mRNA 多肽(PPx GALA) | 具有更高的细胞吸收效率,增强了 T 细胞应答和 DC 成熟。 | [34] |

5 前景与展望

自 mRNA 技术在疫苗和疾病治疗方面得到迅速发展以来,针对递送系统的研究逐渐成为前沿热点,目前如何提高递送效率、降低其免疫原性并增强免疫反应、效应物呈现、生物相容性和生物安全性等问题仍有待解决^[35]。为了解决 mRNA 在递送过程中稳定性差、细胞靶向性差和翻译效率低的问题,迫切需要具有高生物相容性、高负载效率和低免疫原性的新型脂质和聚合物材料作为递送载体^[35]。更重要的是,应该更多地考虑 mRNA/载体配方策略,如靶向递送策略、LNP 配方策略是当前阶段递送合成 mRNA 的最佳选择^[36]。如何平衡 LNP 的循环时间、组织特异性靶向递送、有效的细胞摄取和在体内充分释放的要求

仍然是一个难题。目前,基于脂质的纳米粒子主要用于传递 mRNA。此外,聚合物和脂质聚合物杂化纳米粒子在安全性、稳定性、高转染效率方面具有很大的发展空间。仍然需要更多的努力来寻找新的生物材料/纳米颗粒和优化的配方,这些配方可以提供高转染活性和生物相容性,具有最小的载体特异性毒性/免疫刺激、高选择性和特异性,以及有效的体内全身递送和延长的蛋白质表达(特别是用于基因治疗)。可以预计,随着 mRNA 递送材料及递送技术的不断进步,mRNA 递送在传染病、肿瘤等疾病的预防和治疗中将得到更为广泛的应用。

参考文献

[1] YANAS A, LIU K F. RNA modifications and

- the link to human disease[J]. *Methods Enzymol*, 2019, 626:133-146.
- [2] XU Y, ZHANG M, ZHANG Q, et al. Role of Main RNA Methylation in Hepatocellular Carcinoma: N6-Methyladenosine, 5-Methylcytosine, and N1-Methyladenosine[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:767668.
- [3] SHANMUGASUNDARAM M, SENTHILVELAN A, KORE A R. Recent advances in modified cap analogs: Synthesis, biochemical properties, and mRNA based vaccines[J]. *Chem Rec*, 2022, 22(8):e202200005.
- [4] HARUEHANROENGRA P, ZHENG Y Y, ZHOU Y, et al. RNA modifications and cancer[J]. *RNA Biol*, 2020, 17(11):1560-1575.
- [5] KARIKO 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.
- [6] BADIEYAN Z S, EVANS T. Concise review: application of chemically modified mRNA in cell fate conversion and tissue engineering[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(8):833-843.
- [7] ZHANG H, YOU X, WANG X, et al. Delivery of mRNA vaccine with a lipid-like material potentiates antitumor efficacy through Toll-like receptor 4 signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(6):e2005191118.
- [8] ISLAM M A, REESOR E K, XU Y, et al. Biomaterials for mRNA delivery[J]. *Biomater Sci*, 2015, 3(12):1519-1533.
- [9] ZHANG X F, ZHANG W Y, NGUYEN G N, et al. Functionalized lipid-like nanoparticles for in vivo mRNA delivery and base editing[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(34):eabc2315.
- [10] SCHLICH M, PALOMBA R, COSTABILE G, et al. Cytosolic delivery of nucleic acids: The case of ionizable lipid nanoparticles[J]. *Bioeng Transl Med*, 2021, 6(2):e10213.
- [11] LI Y, JARVIS R, ZHU K, et al. Protein and mRNA delivery enabled by cholesteryl-based biodegradable lipidoid nanoparticles[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(35):14957-14964.
- [12] LI B, LUO X, DENG B, et al. An orthogonal array optimization of lipid-like nanoparticles for mRNA delivery in vivo[J]. *Nano Lett*, 2015, 15(12):8099-8107.
- [13] HAJJ K A, MELAMED J R, CHAUDHARY N, et al. A potent branched-tail lipid nanoparticle enables multiplexed mRNA delivery and gene editing in vivo[J]. *Nano Lett*, 2020, 20(7):5167-5175.
- [14] OBERLI M A, REICHMUTH A M, DORKIN J R, et al. Lipid nanoparticle assisted mRNA delivery for potent cancer immunotherapy[J]. *Nano Lett*, 2017, 17(3):1326-1335.
- [15] ZHAO W, ZHANG C, LI B, et al. Lipid polymer hybrid nanomaterials for mRNA delivery[J]. *Cell Mol Bioeng*, 2018, 11(5):397-406.
- [16] MELAMED J R, HAJJ K A, CHAUDHARY N, et al. Lipid nanoparticle chemistry determines how nucleoside base modifications alter mRNA delivery[J]. *J Control Release*, 2022, 341:206-214.
- [17] KACZMAREK J C, PATEL A K, KAUFFMAN K J, et al. Polymer-lipid nanoparticles for systemic delivery of mRNA to the lungs[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(44):13808-13812.
- [18] BLAKNEY A K, MCKAY P F, HU K, et al. Polymeric and lipid nanoparticles for delivery of self-amplifying RNA vaccines[J]. *J Control Release*, 2021, 338:201-210.
- [19] ROSENBLUM D, GUTKIN A, KEDMI R, et al. CRISPR-Cas9 genome editing using targeted lipid nanoparticles for cancer therapy[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(47):eabc9450.
- [20] BILLINGSLEY M M, SINGH N, RAVIKUMAR P, et al. Ionizable lipid nanoparticle-mediated mRNA delivery for human CAR T cell engineering[J]. *Nano Lett*, 2020, 20(3):1578-1589.
- [21] YANEZ ARTETA M, KJELLMAN T, BARTESAGHI S, et al. Successful reprogramming of cellular protein production through mRNA delivered by functionalized lipid nanoparticles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(15):E3351-E3360.
- [22] ZENG C, ZHANG C, WALKER P G, et al. For-

- mulation and delivery technologies for mRNA vaccines [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2020, 440:71-110.
- [23] BRITO L A, CHAN M, SHAW C A, et al. A cationic nanoemulsion for the delivery of next-generation RNA vaccines [J]. *Mol Ther*, 2014, 22(12):2118-2129.
- [24] REVIA R A, STEPHEN Z R, ZHANG M. Theranostic nanoparticles for RNA-based cancer treatment [J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(6):1496-1506.
- [25] FANG H, CHEN Q. Applications and challenges of biomaterial mediated mRNA delivery [J]. *Explor Target Antitumor Ther*, 2022, 3(4):428-444.
- [26] WANG Y, SU H H, YANG Y, et al. Systemic delivery of modified mRNA encoding herpes simplex virus 1 thymidine kinase for targeted cancer gene therapy [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(2):358-367.
- [27] KRANZ L M, DIKEN M, HAAS H, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2016, 534(7607):396-401.
- [28] LEI S, ZHANG X, MEN K, et al. Efficient colorectal cancer gene therapy with IL-15 mRNA nanoformulation [J]. *Mol Pharm*, 2020, 17(9):3378-3391.
- [29] ZHAO M, LI M, ZHANG Z, et al. Induction of HIV-1 gag specific immune responses by cationic micelles mediated delivery of gag mRNA [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(7):2596-2607.
- [30] BLAKNEY A K, ABDOUNI Y, YILMAZ G, et al. Mannosylated poly(ethylene imine) copolymers enhance saRNA uptake and expression in human skin explants [J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(6):2482-2492.
- [31] LIU S, WANG X, YU X, et al. Zwitterionic phospholipidation of cationic polymers facilitates systemic mRNA delivery to spleen and lymph nodes [J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(50):21321-21330.
- [32] COOLEN A L, LACROIX C, MERCIER-GO UY P, et al. Poly(lactic acid) nanoparticles and cell-penetrating peptide potentiate mRNA-based vaccine expression in dendritic cells triggering their activation [J]. *Biomaterials*, 2019, 195:23-37.
- [33] QIU Y, MAN R C H, LIAO Q, et al. Effective mRNA pulmonary delivery by dry powder formulation of PEGylated synthetic KL4 peptide [J]. *J Control Release*, 2019, 314:102-115.
- [34] LOU B, DE KOKER S, LAU C Y J, et al. mRNA polyplexes with post-conjugated GALA peptides efficiently target, transfect, and activate antigen presenting cells [J]. *Bioconjug Chem*, 2019, 30(2):461-475.
- [35] LIU T, LIANG Y, HUANG L. Development and delivery systems of mRNA vaccines [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9:718753.
- [36] GAO M, ZHANG Q, FENG X H, et al. Synthetic modified messenger RNA for therapeutic applications [J]. *Acta Biomater*, 2021, 131:1-15.

(收稿日期:2023-02-17 修回日期:2023-08-03)