

# mRNA药物的研究进展

朱柳雨 吴军军\*

(福建师范大学生命科学学院, 福州 350117)

**摘要** 得益于核苷修饰与脂质纳米颗粒递送系统的关键突破, mRNA药物近年来迅速发展成为生物医药领域的重要技术方向。尤其在新型冠状病毒感染疫情期间 mRNA疫苗的成功应用, 充分展现了mRNA药物在快速开发及大规模应用方面的潜力。该文围绕mRNA药物的主要应用方向, 系统综述其在疫苗研发、蛋白替代疗法以及基因编辑三大领域的研究进展。在疫苗领域, 线性mRNA已成为RNA疫苗的主流技术路线; circRNA作为新型RNA技术体系在稳定性及表达持续性方面展现出重要潜力。与此同时, mRNA介导的蛋白替代疗法为遗传代谢病等疾病提供了新的治疗策略。在基因编辑领域, 利用mRNA递送CRISPR编辑系统的策略, 凭借其良好的安全性而受到广泛关注。尽管mRNA药物在治疗中已取得显著进展, 但在临床转化过程中仍面临组织特异性递送效率较低等关键挑战。未来, 随着RNA工程的发展、递送系统的优化, mRNA药物有望成为连接疫苗研发、蛋白替代疗法与基因编辑的重要通用技术基础。

**关键词** mRNA药物; mRNA疫苗; 蛋白替代疗法; 基因编辑

## Research Advances in mRNA Therapeutics

ZHU Liuyu, WU Junjun\*

(College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China)

**Abstract** Benefiting from breakthroughs in nucleoside modification and lipid nanoparticle delivery systems, mRNA therapeutics have developed rapidly in recent years and have emerged as an important technological approach in the biopharmaceutical field. The successful application of mRNA vaccines during the SARS-CoV-2 infection pandemic further demonstrated their potential for rapid development and large-scale deployment. This review summarizes recent advances in three major application areas of mRNA therapeutics, including vaccines, protein replacement therapy, and gene editing. Linear mRNA remains the predominant approach for mRNA vaccine development, while circRNA (circular RNA) shows promising potential owing to its enhanced stability and prolonged protein expression. Meanwhile, mRNA-mediated protein replacement therapy has provided new therapeutic strategies for inherited metabolic disorders. In the field of gene editing, mRNA-based delivery of CRISPR editing systems has attracted considerable attention owing to its favorable safety profile. Despite the significant advances in mRNA therapeutics, their clinical translation remains hindered by key challenges, including insufficient tissue-specific delivery efficiency. With continued advances in RNA engineering and delivery optimization, mRNA therapeutics are expected to become an important common technological foundation that connects vaccine development, protein replacement therapy and gene editing.

**Keywords** mRNA therapeutics; mRNA vaccines; protein replacement therapy; gene editing

收稿日期: 2026-06-01

接受日期: 2026-09-01

福建省自然科学基金(批准号: 2025J09032、2023J01506)、翔安创新实验室/传染病疫苗研发全国重点实验室科技项目(批准号: 2023XAKJ0101011)和福建省促进海洋与渔业产业高质量发展专项资金项目(批准号: FJHYF-L-2025-24)资助的课题

\*通信作者: Tel: 0591-22868199, E-mail: junwu@fjnu.edu.cn

Received: June 1, 2026

Accepted: September 1, 2026

This work was supported by the Fujian Provincial Natural Science Foundation (Grant No.2025J09032, 2023J01506), the State Key Laboratory of Vaccines for Infectious Diseases, Xiang An Biomedicine Laboratory (Grant No.2023XAKJ0101011), the Project Supported by the Special Fund for Promoting High-Quality Development of Marine and Fishery Industries of Fujian Province (Grant No.FJHYF-L-2025-24)

\*Corresponding author. Tel: +86-591-22868199, E-mail: junwu@fjnu.edu.cn

mRNA作为中心法则中连接基因组信息与蛋白质功能的关键纽带,近年来已发展为一种新型治疗药物。与直接递送蛋白质或小分子药物不同,mRNA药物可将目标蛋白的遗传编码信息递送至细胞,使细胞在体内合成功能性蛋白,实现免疫预防或疾病治疗的作用<sup>[1]</sup>。凭借独特的治疗策略,mRNA药物在传染病防治、肿瘤免疫治疗及蛋白替代疗法(protein replacement therapy, PRT)等领域展现出巨大的应用潜力。

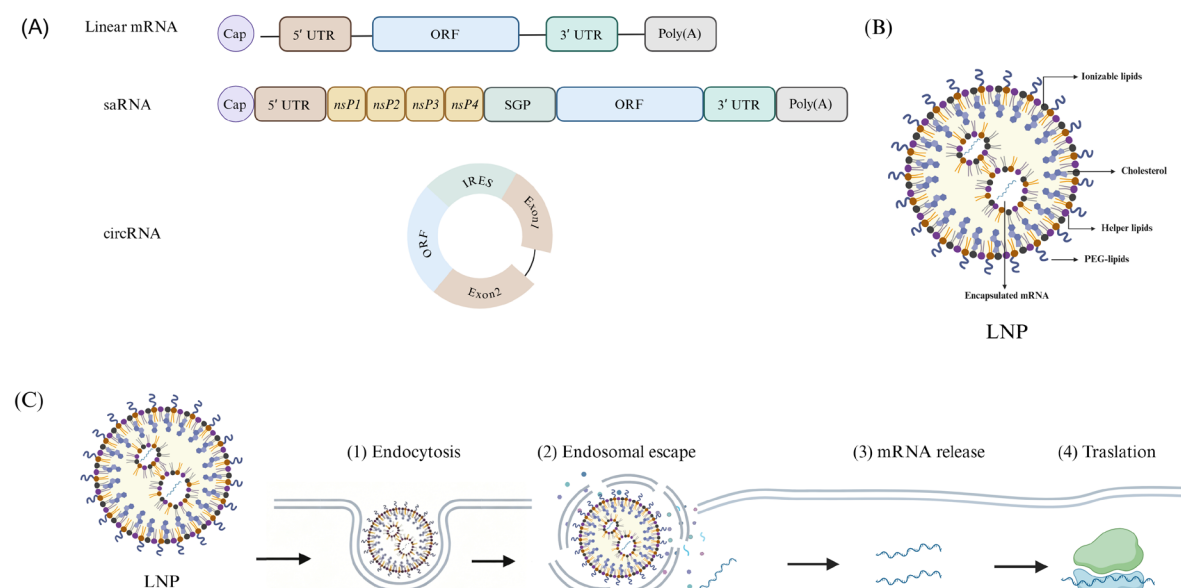
mRNA最早于20世纪60年代被发现<sup>[2]</sup>,并在体外转录(*in vitro* transcription, IVT)技术建立后具备了体内表达的可行性<sup>[3]</sup>,然而,由于mRNA分子量大、带负电荷及亲水性强,其难以通过自由扩散穿越细胞膜,并且体内广泛存在的核糖核酸酶(RNase)极易导致其降解失活<sup>[4]</sup>,使得其临床应用长期受到限制。1990年,Wolff等<sup>[5]</sup>通过向小鼠体内注射RNA表达载体,实现了蛋白的体内表达,验证了外源性mRNA在体内发挥功能的可行性。随后,Karikó等<sup>[6]</sup>通过引入假尿苷等修饰核苷,有效降低了mRNA的免疫原性,同时提高了其翻译效率与体内稳定性,推动了mRNA技术的快速发展。而如何将mRNA高效递送至靶细胞并实现其胞内释放与蛋白表达,也逐渐成为mRNA药物发展的核心问题。2020年,美国食品药品监督管理局批准了两种抗病毒mRNA疫苗,即Moderna公司的mRNA-1273(NCT04283461)<sup>[7]</sup>和辉瑞公司/BioNTech公司的BNT162b2(NCT04380701)<sup>[8]</sup>,在新型冠状病毒感染疫情期间投入使用,标志着该技术正式从实验室走向临床。长期以来,医药市场由传统小分子药物和抗体药物主导,但其研发策略依赖于小分子药物靶向蛋白质活性位点的能力<sup>[9]</sup>。受蛋白空间构象等因素限制,人体蛋白中仅有约20%具有良好的小分子成药性<sup>[10]</sup>,大量致病相关蛋白由于缺乏典型的小分子结合口袋,表现出较低的成药性<sup>[11]</sup>。这些局限性也正是新型治疗技术发展的动力所在。相比之下,mRNA药物借助宿主细胞翻译系统在体内表达目标蛋白,理论上可编码任意已知氨基酸序列,从而突破传统药物的靶点限制并拓展新的治疗领域<sup>[12]</sup>。基于此,本文从疫苗研发、蛋白替代疗法以及基因编辑几个方面综述mRNA药物的研究进展,并对其关键技术瓶颈及未来发展方向进行分析与展望。

## 1 mRNA概述

### 1.1 mRNA组成与类型

真核生物中的mRNA包含5'帽结构、5'非翻译区(5' untranslated region, 5' UTR)、开放阅读框(open reading frame, ORF)、3'非翻译区(3' untranslated region, 3' UTR)及多聚腺苷酸尾[poly(A)尾],优化这些结构元件会影响mRNA的半衰期、稳定性及蛋白表达水平<sup>[13]</sup>。IVT mRNA的结构特征与天然真核细胞中的mRNA极为相似<sup>[14]</sup>。相较于DNA来说,mRNA可直接在细胞质中完成翻译,避免了基因组整合风险,并且具有更高的蛋白表达水平<sup>[15]</sup>。然而,早期未经优化的IVT mRNA可被模式识别受体识别,诱导强烈的先天免疫反应并抑制蛋白翻译<sup>[6,16]</sup>。为突破这一瓶颈,研究者引入了核苷修饰技术,通过在转录过程中以假尿苷(Ψ)或N<sup>1</sup>-甲基假尿苷(m<sup>1</sup>Ψ)等修饰核苷替代天然尿苷,降低了mRNA免疫原性并提高了其稳定性与翻译效率<sup>[6,16-17]</sup>。此外,加帽工艺及UTR序列优化可延长mRNA的半衰期并提高其表达效率,共同推动mRNA技术的临床转化。

根据结构特征与复制能力的不同,用于治疗编码型RNA主要分为线性mRNA(linear mRNA)、自扩增mRNA(self-amplifying mRNA, saRNA)以及环状RNA(circular RNA, circRNA)(图1A)。这些分子的构型差异不仅决定了其表达的动力学特征,也对递送系统的设计提出了不同的物理化学要求。线性mRNA是目前应用最成熟的形式,其优势在于结构简单、可控性强,适用于疫苗抗原表达及基因编辑过程中Cas核酸酶的瞬时表达。其短暂的蛋白表达特性可以降低潜在的脱靶风险<sup>[18-19]</sup>。然而,线性mRNA半衰期较短,对递送系统依赖性较高。相比之下,saRNA来源于甲病毒基因组,保留了介导RNA复制的非结构蛋白编码区,能够实现胞内自我复制,仅需较低剂量即可维持较高且持久的抗原表达,但其较大的分子体积给递送载体设计带来了挑战<sup>[20]</sup>。circRNA具有闭合环状结构,可抵抗核酸外切酶降解,从而提高分子稳定性并延长蛋白表达时间<sup>[21]</sup>。然而,circRNA的蛋白表达主要依赖非经典翻译机制,其翻译效率通常低于线性mRNA,因此需要通过序列设计和结构优化进一步提升翻译效率。总体而言,不同类型RNA在表达持续时间、翻译效率及递送难度上各有差异。如何根据具体应用场景设计合适的RNA形式,是当前RNA治疗策略优化的方向之一。



A: 线性mRNA、saRNA和circRNA的结构。线性mRNA由5'帽、5' UTR、ORF、3' UTR和poly(A)尾组成; saRNA额外包含甲病毒来源的非结构蛋白基因(*nsP1-4*)和亚基因组启动子(subgenomic promoter, SGP); circRNA由外显子、内部核糖体进入位点(IRES)和开放阅读框组成。B: 常见的mRNA递送平台。LNP由可电离脂质、胆固醇、辅助脂质和聚乙二醇脂质组成。C: LNP介导mRNA递送的过程。(1) LNP介导的内吞摄取;(2) LNP从内体中逃逸;(3) mRNA释放至细胞质;(4) mRNA翻译为蛋白质。

A: structures of linear mRNA, saRNA, and circRNA. Linear mRNA consists of a 5' cap, 5' UTR, ORF, 3' UTR, and poly(A) tail. saRNA additionally contains viral non-structural protein genes (*nsP1-4*) and a SGP (subgenomic promoter). circRNA is composed of exons, an IRES (internal ribosome entry site), and an ORF. B: common mRNA delivery platforms. LNP (lipid nanoparticle) consists of ionizable lipids, cholesterol, helper lipids, and PEG-lipids. C: process of LNP-mediated mRNA delivery. (1) cellular uptake of LNP via endocytosis; (2) endosomal escape of LNP; (3) release of mRNA into the cytoplasm; (4) translation of mRNA into proteins.

图1 mRNA分子形式与递送策略示意图(根据参考文献[13,26]修改)

Fig.1 Schematic illustration of mRNA molecular formats and delivery strategies (modified from the references [13,26])

## 1.2 mRNA递送系统

mRNA由于体积较大且带负电荷,在体内应用面临稳定性差与细胞摄取效率低等限制<sup>[22]</sup>,这成为此前制约mRNA药物临床转化的核心问题。因此,开发能够同时提升mRNA稳定性、促进其进入靶细胞并实现其胞质有效释放的递送系统,是mRNA药物开发成功的核心前提<sup>[23]</sup>。

**1.2.1 脂质纳米颗粒** 脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)是当前最成熟的递送体系,尤其在核酸类药物递送领域发挥着核心作用,且已被批准在mRNA疫苗领域使用<sup>[24-25]</sup>。LNP结构由可电离脂质、胆固醇、辅助脂质及聚乙二醇脂质(polyethylene glycol lipid, PEG-lipid)组成(图1B),四种组分协同作用实现mRNA的高效递送,同时保障mRNA在体内的稳定性,并提升细胞对mRNA的摄取能力。LNP进入体内后,主要通过内吞途径进入细胞,并在酸性环境中完成内体逃逸,将mRNA释放到细胞质,随后由核

糖体将其翻译生成目的蛋白<sup>[26]</sup>(图1C)。然而,LNP固有的不良反应,包括剂量限制性毒性和急性炎症,限制了其广泛应用<sup>[27]</sup>。

目前LNP的优化主要围绕脂质组分与理化特性展开,以提升其递送效率。其中,在脂质组分优化方面,Lin等<sup>[28]</sup>通过引入肽类可电离脂质(peptide-ionizable lipid, PIL),以提升LNP的组织靶向性,并减少肝脏蓄积及其引发的相关毒性;Vadovics等<sup>[29]</sup>发现改变聚乙二醇脂质比例与辅助磷脂组成可显著影响LNP的佐剂效应;Binici等<sup>[30]</sup>对比了常用脂质对mRNA-LNP递送效率的影响,其结果为脂质配方的理性筛选提供了参考。同样,粒径、多分散指数(polydispersity index, PDI)及表面电位(ζ电位)等理化特性,也会影响LNP与细胞的相互作用及其体内分布特征<sup>[31]</sup>。Ma等<sup>[32]</sup>研究表明,粒径为50~100 nm的LNP更容易迁移至淋巴结并被树突状细胞摄取,从而增强抗原交叉递呈,激活T细胞免疫应答;表面

电位可通过影响LNP与细胞膜及血浆蛋白的相互作用,调控内吞途径及胞内转运过程,最终影响抗原递呈及免疫激活水平<sup>[33]</sup>;而聚乙二醇脂质的结构和密度可影响LNP的体内循环时间及蛋白冠形成,进而调控LNP的体内分布和细胞摄取,并影响其所递送的mRNA的胞内转运与抗原释放<sup>[29,34]</sup>。上述因素相互配合,共同决定mRNA的递送与表达效率。

在此基础上,LNP的体内靶向特性也在进一步优化改造。传统LNP进入血液后易结合血浆蛋白,展现出肝脏趋向性<sup>[35]</sup>,限制了其在非肝组织中的应用。为解决这一问题,研究者通过改造可电离脂质结构<sup>[36]</sup>、调整各组分比例<sup>[37]</sup>,成功实现递送靶向性的重编程,将mRNA表达由肝脏转移至肺、脾脏或淋巴结等组织,从而提升mRNA在免疫治疗及疫苗研发中的应用潜力。而如今LNP的设计正向更高精度发展,包括细胞特异性靶向及病理微环境响应。通过引入可识别特定细胞的靶向配体<sup>[38]</sup>或引入表面化学修饰<sup>[39]</sup>,LNP可实现向免疫细胞或特定组织细胞的选择性递送;同时,结合代谢调控<sup>[40]</sup>或外源刺激响应策略<sup>[41]</sup>,LNP不仅作为载体,还可参与疾病微环境的调节,从而增强治疗效果。近年来,递送精度已进一步推进至亚细胞水平,例如通过膜电位驱动<sup>[42]</sup>或靶向序列修饰<sup>[43]</sup>,实现向线粒体等细胞器的定向递送。整体来看,LNP正经历从肝脏富集,向可编程、多层次靶向体系的转变。然而,如何实现LNP的组织特异性分布,以及如何提高内体逃逸效率,使其克服受到的物理化学限制,仍是未来临床转化的核心挑战。

**1.2.2 其他递送策略** 除LNP体系外,多种递送策略也在核酸药物与基因编辑领域得到广泛探索。其中,病毒类载体与物理递送方法作为较早发展的技术路径,为新型非病毒递送系统的发展提供了重要参照。病毒载体包括腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)、慢病毒及腺病毒<sup>[44]</sup>,主要通过递送外源核酸至细胞核,由载体上的基因表达盒启动转录,从而实现蛋白表达。然而,病毒载体的应用存在载荷容量限制<sup>[45]</sup>、潜在基因组整合风险<sup>[46]</sup>及免疫原性<sup>[47]</sup>等问题,难以直接适用于mRNA等RNA分子的高效递送。在物理递送方法中,电穿孔长期占据主流地位。其原理是利用高压脉冲在细胞膜上形成微孔以实现物质转运<sup>[48]</sup>,其已应用于体外造血干细胞的mRNA递送,并为相关细胞治疗策略的临床转化提供了技术支持<sup>[49]</sup>,且在体内实验中也展

现出起效快、编辑效率高等优势<sup>[50-51]</sup>。然而,高压带来的不可逆损伤风险及操作的侵入性限制了其体内应用。

相较之下,非病毒递送系统能够在胞质中直接释放RNA分子,避免核内转运过程,可以从不同维度弥补现有递送技术的不足。类病毒颗粒(virus-like particles, VLPs)通过模拟病毒衣壳结构实现高效入胞,因缺失复制能力展现出优异的安全性<sup>[52]</sup>。Han等<sup>[53]</sup>发现工程化VLPs在递送mRNA及CRISPR组分方面表现出较高的体内转导效率,并可通过衣壳改造实现组织特异性递送。细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)因其天然来源及优异的生物相容性,被视为极具潜力的递送载体;在此基础上,近年来发展出将EVs与LNP融合构建杂合递送系统的策略,通过结合EVs的生物相容性与LNP的高效内体逃逸能力,实现了更高效的mRNA递送及肝外组织靶向<sup>[54]</sup>。此外,源于革兰氏阴性菌的外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMVs)及其膜组分由于具有固有免疫佐剂特性,可与LNP系统结合,用于提升mRNA疫苗的递送效率并增强免疫应答<sup>[55]</sup>。2024年,Brown等<sup>[56]</sup>开发出了一种蛋白脂质载体(proteolipid vehicle, PLV),将融合相关小跨膜(fusion-associated small transmembrane, FAST)蛋白整合至脂质体中,可以在体外及体内实现mRNA和DNA的高效递送和表达,且该载体突破了传统LNP肝脏富集的局限,具备更广阔的组织分布能力。

### 1.3 RNA形式与递送系统的选择

不同形式的RNA以及各类递送系统,在稳定性、蛋白表达效率、表达时长、免疫原性和体内组织分布上各有特点,因此需要根据治疗情况选择合适的RNA形式与递送系统。线性mRNA技术发展最为成熟,蛋白表达快,适合需要快速、短期表达靶蛋白的治疗场景;saRNA能够通过自我扩增延长蛋白表达周期,降低给药剂量,但该类RNA结构复杂,容易诱发较强的固有免疫应答;circRNA稳定性优势明显,可以实现长时间的蛋白表达。在递送载体方面,LNP是目前临床成熟度最高的方案,不过传统LNP存在固有的肝脏趋向性、内体逃逸效率低、靶组织特异性有限等缺陷。而VLPs、EVs等载体虽然可以依靠不同作用机制提升组织或细胞靶向效果,但也在体内稳定性和递送效率等方面存在一定的挑战。因此在选择RNA形式及递送系统时,需要对内体逃

逸效率、安全性等做综合考量。

## 2 mRNA疫苗

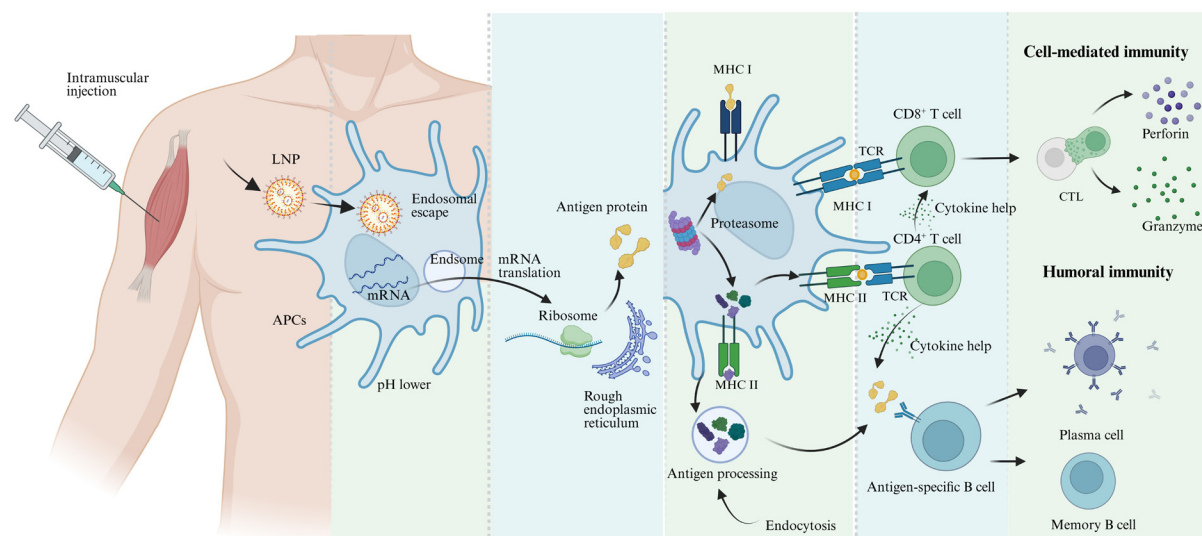
### 2.1 mRNA疫苗的免疫机制

mRNA疫苗的核心是在宿主细胞内驱动抗原原位表达。这种有别于传统外源抗原输入的模式,使其抗原生成过程更接近天然感染状态<sup>[13]</sup>。由于mRNA分子稳定性有限且难以直接进入细胞,通常需要经递送系统介导进入抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC),利用翻译系统合成目标抗原蛋白。抗原蛋白经内源性途径形成抗原肽,抗原肽通过主要组织相容性复合体I(major histocompatibility complex I, MHC I)分子呈递,激活CD8<sup>+</sup>细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs),同时部分抗原可经细胞外释放、摄取及加工后,进入外源性抗原呈递途径,通过MHC II分子呈递,诱导CD4<sup>+</sup>辅助性T细胞及体液免疫反应,实现细胞免疫与体液免疫的协同激活<sup>[14,22]</sup>(图2)。与此同时,mRNA分子设计中的核苷酸修饰策略可有效抑制外源RNA诱导的先天免疫激活,减轻Toll样受体

7/8(Toll-like receptor 7/8, TLR7/8)及视黄酸诱导基因I(retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)等模式识别受体介导的炎症反应,同时提高mRNA稳定性和翻译效率,从而提升抗原表达水平,增强疫苗诱导的免疫应答。

### 2.2 传染病疫苗

近年来,mRNA疫苗已在防治传染病领域展现出了巨大的应用潜力,其中抗原结构优化是提升疫苗免疫原性的关键。以呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)疫苗研究为例,融合前构象的F糖蛋白(prefusion F, pre-F)是介导病毒与宿主细胞融合过程的关键蛋白,但现有技术难以诱导机体产生针对该蛋白的高效中和抗体,成为RSV疫苗开发的一大难点<sup>[57]</sup>。2024年,美国食品药品监督管理局批准RSV疫苗mRESVIA(mRNA-1345)上市。mRNA-1345以pre-F为抗原,并通过膜锚定设计维持其抗原形式,由LNP递送mRNA,并在体内表达目标蛋白,从而诱导针对RSV的保护性免疫应答<sup>[58]</sup>。目前,多种针对不同病原体的mRNA疫苗已进入临床研究阶段,其中部分产品已实现上市。随着mRNA疫苗技



肌肉注射后,LNP包封的mRNA通过内吞作用进入APC。随后,LNP从体内中逃逸并释放mRNA至细胞质中,mRNA翻译成抗原蛋白。表达的抗原经加工处理后,分别通过MHC I和MHC II途径进行呈递,进而激活CD8<sup>+</sup>细胞毒性T淋巴细胞(CTLs)和CD4<sup>+</sup>辅助性T细胞。活化的T细胞可通过分泌穿孔素和颗粒酶介导细胞免疫,同时促进抗原特异性B细胞分化为浆细胞和记忆B细胞,从而增强体液免疫应答,诱导抗体产生并建立长期免疫保护。

Following intramuscular injection, LNP-encapsulated mRNA is taken up by APCs through endocytosis. After endosomal escape, released mRNA enters the cytoplasm and is translated by ribosomes into antigen proteins. The expressed antigens are subsequently processed and presented via MHC I and MHC II pathways, leading to activation of CD8<sup>+</sup> CTLs (cytotoxic T lymphocytes) and CD4<sup>+</sup> helper T cells, respectively. Activated T cells further promote cellular immunity through perforin and granzyme secretion, and enhance humoral immunity by stimulating antigen-specific B cells to differentiate into plasma cells and memory B cells, resulting in antibody production and long-term immune protection.

图2 mRNA疫苗递送及诱导适应性免疫应答机制(根据参考文献[14]修改)

Fig.2 Mechanism of mRNA vaccine delivery and induction of adaptive immune responses (modified from the reference [14])

表1 临床试验阶段的mRNA疫苗  
Table 1 mRNA vaccines in clinical trials

| 适应证<br>Indication                | 疫苗名称<br>Vaccine name | 临床试验阶段<br>Clinical trial phase | 临床试验编号<br>Clinical trial identifier |
|----------------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| Infectious disease               |                      |                                |                                     |
| SARS-CoV-2                       | BNT162b2             | II/III; approved               | NCT04368728                         |
| SARS-CoV-2                       | mRNA-1273            | III; approved                  | NCT04470427                         |
| SARS-CoV-2                       | mRNA-1283            | III                            | NCT05815498                         |
| RSV                              | mRNA-1345            | II/III                         | NCT05127434                         |
| NiV infection                    | mRNA-1215            | I                              | NCT05398796                         |
| HIV                              | HVTN 302             | I                              | NCT05217641                         |
| Cancer                           |                      |                                |                                     |
| Melanoma                         | mRNA-4157/V940       | IIb                            | NCT03897881                         |
| Non-small cell lung cancer       | mRNA-4157/V940       | III                            | NCT06077760                         |
| Metastatic solid tumors          | BNT122               | I                              | NCT03289962                         |
| Pancreatic ductal adenocarcinoma | BNT122               | II                             | NCT05968326                         |
| Colorectal cancer                | GRT-R902             | II/III                         | NCT05141721                         |

术日趋成熟,其应用范围已由新型冠状病毒等成熟适应证进一步拓展至其他重要病原体(表1)。尼帕病毒(Nipah virus, NiV) mRNA疫苗(mRNA-1215)已经推进至I期临床试验阶段,初步显示出了良好的安全性和免疫原性结果,可以继续临床开发<sup>[59]</sup>;在艾滋病防控领域,Ramezani-Rad等<sup>[60]</sup>开发了一种编码膜锚定 HIV包膜三聚体的mRNA疫苗,通过模拟病毒表面天然蛋白呈现方式,诱导识别 tier 2毒株的中和抗体。该疫苗在I期临床试验阶段表现出良好的安全性和免疫原性<sup>[61]</sup>,显示出mRNA技术在HIV疫苗研发中的潜在应用价值。

新兴和重新出现的病毒病原体持续威胁全球公共卫生<sup>[62]</sup>,mRNA疫苗在细菌感染中的应用也逐渐受到关注。由于细菌具有抗原组成复杂及免疫逃逸等特点,传统单抗原疫苗往往难以诱导广谱且持久的保护性免疫。因此,多抗原联合设计逐渐成为细菌 mRNA疫苗的重要发展方向。Vidal等<sup>[63]</sup>通过系统挖掘人类潜伏结核分枝杆菌 CD4<sup>+</sup> T细胞抗原库,揭示了传统单抗原策略难以覆盖复杂细菌免疫保护的问题,并提出了基于多抗原协同诱导细胞免疫的疫苗设计思路,为下一代结核病 mRNA疫苗的抗原筛选提供了重要基础。随后,Liu等<sup>[64]</sup>构建的编码布鲁氏菌 Omp25和BP26的双价抗原 mRNA疫苗同时诱导了体液与细胞免疫应答,并在小鼠模型中产生了保护作用,验证了多抗原 mRNA疫苗用于复杂细菌防控的可行性。进一步地,Elia等<sup>[65]</sup>构建

了编码鼠疫耶尔森菌 F1与LcrV抗原的双价 mRNA-LNP疫苗,并通过hFc融合修饰增强了抗原的免疫原性,从而提高了疫苗的保护效果。在小鼠肺鼠疫模型中,该疫苗对野生株及F1阴性菌株均可实现完全保护,表明mRNA技术在高致病性细菌疫苗开发中具有重要潜力。

2.3 肿瘤疫苗

肿瘤疫苗依靠自身免疫系统精准识别并杀伤肿瘤细胞,是一种前景广阔的肿瘤免疫疗法,主要包括细胞疫苗、多肽疫苗、病毒载体疫苗以及核酸疫苗四大类<sup>[66]</sup>。1991年, van der Bruggen等<sup>[67]</sup>首次发现了人类肿瘤抗原——黑色素瘤相关抗原,为肿瘤抗原在疫苗中的应用奠定了基础。1996年, Boczkowski等<sup>[68]</sup>的研究表明了编码特定抗原的 mRNA在体内可以诱导免疫反应并抑制肿瘤的生长,证实了 mRNA疫苗在肿瘤治疗中的应用潜力。

基于肿瘤新抗原的个性化 mRNA肿瘤疫苗目前被认为是最具前景的策略之一,其可行性与治疗潜力已在临床研究中得到了初步验证。2023年, Rojas等<sup>[69]</sup>构建了 autogene cevumeran(又称 BNT122)个性化新抗原疫苗,首先在胰腺癌中证实了其可诱导特异性 T细胞应答并降低术后复发风险。进一步地,Lopez等<sup>[70]</sup>在晚期实体瘤的I期临床试验中验证了该疫苗联合或不联合阿替利珠单抗均具有良好的安全性及初步抗肿瘤活性。该策略随后在黑色素瘤中得到了进一步临床验证。Weber等<sup>[71]</sup>研究表明,

mRNA-4157(又称V940)可基于患者肿瘤突变信息及HLA分型,通过算法筛选个体化肿瘤新抗原,并将多个新抗原的编码序列串联于同一条mRNA分子上,再经LNP包裹递送至体内,从而诱导特异性T细胞免疫反应。其联合帕博利珠单抗可显著降低黑色素瘤术后复发风险,且安全性良好,成为首个进入III期临床试验阶段的个性化mRNA肿瘤疫苗。Sahin等<sup>[72]</sup>利用下一代测序技术检测乳腺癌患者的肿瘤突变并预测新抗原,构建编码多种患者特异性新抗原的个性化mRNA疫苗,该疫苗可诱导长达6年的新抗原特异性T细胞反应。

个性化mRNA疫苗历经多年发展,在多项临床研究中均表现出优异的免疫原性,然而生产周期长、生产成本高是制约其临床应用的关键问题。针对这一问题,Zhao等<sup>[73]</sup>基于肿瘤异常剪接产生的现货型新抗原,筛选出在多例肝细胞癌患者中重复出现的抗原并构建多抗原mRNA疫苗,提出开发无需个性化定制的mRNA癌症疫苗策略。与此同时,抗原结构本身也可以通过工程化手段进行优化,Wang等<sup>[74]</sup>首次设计靶向主要组织相容性复合体I类相关链A/B(major histocompatibility complex class I-related chain A/B, MICA/B)  $\alpha 3$ 表位的mRNA抗原,通过干扰MICA/B  $\alpha 3$ 结构域中的蛋白酶切割位点,抑制其 $\alpha 1/\alpha 2$ 结构域的剪切脱落,进而激活NK与T细胞,抑制肿瘤免疫逃逸及转移。由于人群中普遍存在由乙肝疫苗接种或既往感染诱导产生的HBsAg特异性记忆T细胞,Wang等<sup>[75]</sup>构建HBsAg标记的肿瘤疫苗,借助溶瘤病毒使HBsAg仅在肿瘤表面表达,从而重新激活病毒特异性记忆T细胞并介导肿瘤细胞杀伤,最终在多种实体瘤模型中实现了肿瘤清除。此外,递送系统的改进同样是提升疫苗疗效的重要方向。Zhu等<sup>[76]</sup>构建了纳米纤维水凝胶LiNX体系递送mRNA-LNP,通过局部缓释LNP并募集免疫细胞,在维持LNP稳定性的同时改善了免疫微环境,从而提高了抗原呈递效率和抗肿瘤能力。

相较于非复制型mRNA,saRNA能够通过胞内复制,以较低剂量获得更高水平、更持久的目标蛋白表达<sup>[20]</sup>。目前,saRNA在肿瘤疫苗领域的研发已经进入临床试验阶段。例如GRT-R902是一种个性化肿瘤新抗原疫苗,其I期临床数据显示疫苗接种可诱导强烈、持久的肿瘤特异性T细胞反应<sup>[77]</sup>,其目前正处于II/III期临床试验阶段。单链且呈共价闭环结构的circRNA由于其高稳定性优势而逐渐受到

关注<sup>[78]</sup>。目前circRNA疫苗的应用模式逐渐从单一疗法向多模式治疗方向转化,通过将治疗性疫苗与其他免疫治疗方法联合使用,进一步增强抗肿瘤免疫应答。Li等<sup>[79]</sup>发现其设计的鼻内疫苗与经体外激活扩增后回输的抗原特异性T细胞联合应用,可同时扩增内源性与过继转移的抗原特异性T细胞,并通过肿瘤细胞杀伤进一步诱导针对其他肿瘤抗原的免疫应答,产生抗原扩散效应,从而增强抗肿瘤活性。Wang等<sup>[80]</sup>通过体内嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)重编程策略生成panCAR T细胞,并以编码人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)抗原的circRNA疫苗进行加强接种,从而显著增强了抗肿瘤免疫反应。同样地,circRNA疫苗疗法也可与传统免疫疗法联合使用,例如在胰腺癌模型中,负载circRNA的树突状细胞疫苗与低剂量吉西他滨联合使用可增强抗肿瘤效果,能更好地延缓肿瘤进展并提高患者生存率<sup>[81]</sup>。

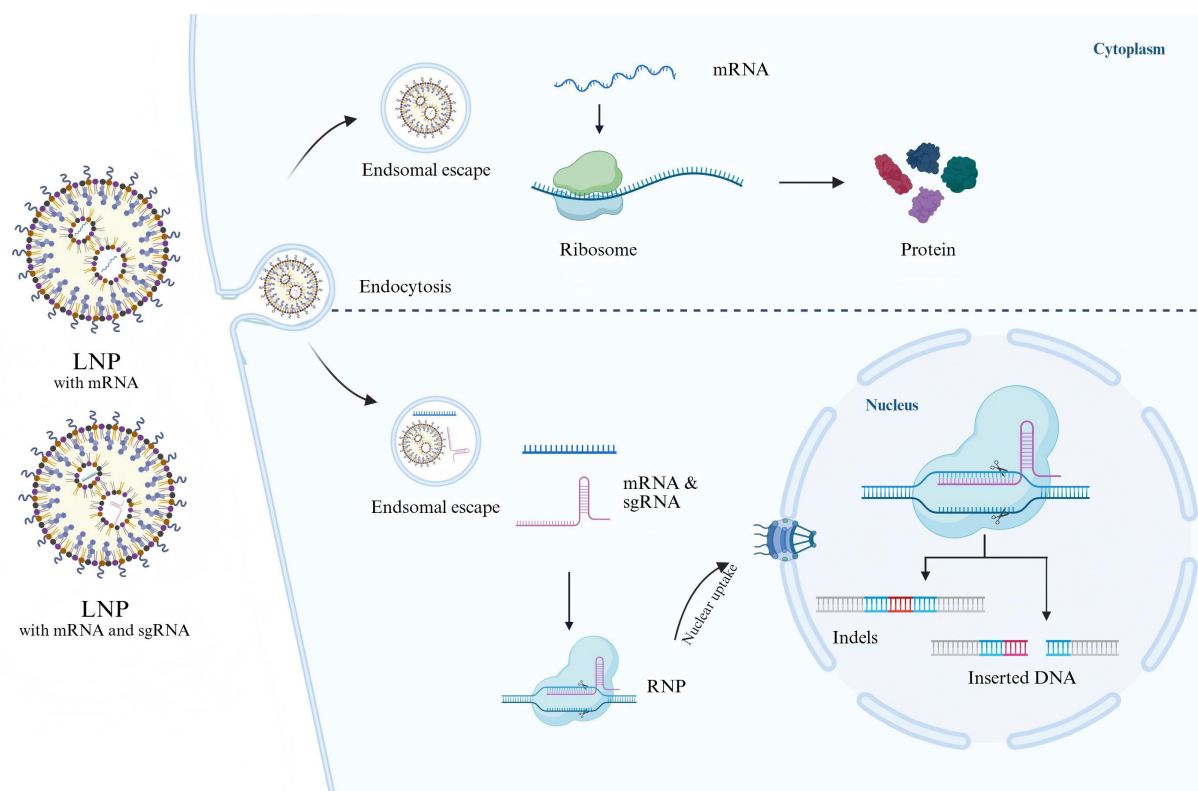
## 2.4 mRNA疫苗的应用进展与关键挑战

mRNA疫苗通过在体内原位表达抗原,实现了对细胞免疫和体液免疫的协同激活,为传染病预防和肿瘤免疫治疗提供了新的技术途径。在传染病疫苗领域,mRNA技术凭借快速设计、灵活生产以及较强的免疫诱导能力,已推动多种疫苗实现临床转化,并展现出应对新发病原体的快速响应优势。在肿瘤疫苗领域,mRNA技术能够编码个体化新抗原或肿瘤相关抗原,促进抗原特异性T细胞应答,为精准免疫治疗提供了新的策略。然而,mRNA疫苗的发展仍面临免疫持续时间、递送靶向性以及免疫逃逸等挑战。未来,通过优化mRNA分子设计、递送系统以及免疫调控策略,有望进一步拓展mRNA疫苗在各类疾病中的应用。

## 3 mRNA介导的蛋白替代疗法

### 3.1 特点与发展历程

与mRNA疫苗主要通过短暂表达抗原蛋白以激活免疫应答不同,mRNA介导的PRT通过递送编码蛋白的mRNA分子,借助细胞内翻译系统持续产生具有生物活性的功能蛋白,从而恢复因基因缺陷或蛋白功能异常导致的疾病(图3)。因此,该类应用对mRNA药物介导的蛋白表达水平及表达持续时间提出了更高的要求。1992年,Jirikowski等<sup>[82]</sup>通过向大鼠下丘脑注



LNP包裹mRNA(上)或mRNA与sgRNA(下)进入细胞后,通过内吞作用被摄取,并通过内体逃逸将所递送的核酸分子释放至细胞质中。对于单独递送的mRNA,其在细胞质中被翻译成目标蛋白,从而实现蛋白替代疗法。对于共递送mRNA和sgRNA的情况,mRNA编码的Cas9蛋白与sgRNA在胞质中组装形成核糖核蛋白(RNP)复合物,随后其进入细胞核,在靶DNA位点产生双链断裂(DSBs),并通过非同源末端连接(NHEJ)或同源定向修复(HDR)途径修复,从而导致基因插入/缺失(indels)或外源DNA插入,实现基因编辑。

LNP-mediated delivery of mRNA (top) or mRNA and sgRNA (bottom): cellular uptake via endocytosis, followed by endosomal escape and release of the nucleic acid cargo into the cytoplasm. In the case of mRNA delivered alone, it undergoes ribosomal translation in the cytoplasm to produce the target protein, thereby enabling protein replacement therapy. For co-delivered mRNA and sgRNA, the Cas9 protein encoded by the mRNA assembles with sgRNA in the cytoplasm to form a RNP (ribonucleoprotein) complex. This complex subsequently translocates into the nucleus, induces DSBs (double-strand breaks) at the target DNA site, and promotes repair via NHEJ (non-homologous end joining) or HDR (homology-directed repair) pathways. Consequently, this process results in insertions or deletions (indels) or the integration of exogenous DNA, thereby achieving gene editing.

图3 LNP介导的mRNA递送及CRISPR基因编辑机制(根据参考文献[106]修改)

Fig.3 Mechanism of LNP-mediated mRNA delivery and CRISPR gene editing (modified from the reference [106])

射编码血管升压素的mRNA暂时缓解了尿崩症症状,这是首次成功的mRNA介导的PRT应用。随着技术的发展,蛋白替代类RNA药物展现出突出的潜力。

### 3.2 疾病应用

单基因疾病是由单基因突变引起的遗传性缺陷,目前已发现超过5 000种单基因疾病<sup>[83]</sup>。精氨酸酶1(arginase 1, ARG1)缺乏症是由代谢酶异常引起的遗传性疾病<sup>[84]</sup>,2015年,Burrage等<sup>[85]</sup>首先在ARG1缺陷小鼠模型中证实,聚乙二醇化人重组精氨酸酶1(AEB1102)可显著降低血浆精氨酸水平,为后续ARG1缺乏症的临床治疗奠定了基础。随后,Truong等<sup>[86]</sup>将编码ARG1的mRNA递送至体内,实现了功能蛋白表达并部分恢复了尿素循环功能,为蛋白替代疗法提供了新的治疗思路。该团队在后续研究

中,通过间歇性重复给药策略递送mRNA维持ARG1蛋白的稳定表达,从而实现了对代谢异常及皮质髓鞘的长期控制,该结果显示了递送体系与给药节律的协同优化,为mRNA介导的蛋白替代疗法在慢性代谢性疾病中的应用提供了重要依据<sup>[87]</sup>。类似策略也已扩展至多种代谢酶缺陷疾病,包括利用编码丙氨酸-乙醛酸氨基转移酶(alanine-glyoxylate aminotransferase, AGT)的mRNA改善原发性高草酸尿症<sup>[88]</sup>;通过编码溶酶体酸性脂肪酶(lysosomal acid lipase, LAL)的mRNA逆转LAL缺陷相关脂质沉积等病理改变<sup>[89]</sup>;Zhao等<sup>[90]</sup>通过递送编码鸟氨酸氨甲酰转移酶(ornithine transcarbamylase, OTC)的mRNA,在OTC缺陷导致的尿素循环障碍及继发性肝纤维化模型中恢复OTC活性,并减轻肝细胞损伤和炎症反应。

随着研究推进, 2024年PRT进行了首次人体I/II期临床试验<sup>[91]</sup>, Moderna公司开发的mRNA-3927利用LNP递送mRNA, 可以在丙酸血症患者中实现功能酶表达, 表现出良好的安全性并改善了代谢指标。这标志着mRNA用于细胞内蛋白替代疗法的临床可行性已获得初步验证, 但相关研究仍处于早期转化阶段, 其长期治疗效果、重复给药的安全性及给药方案仍需进一步评估。

囊性纤维化跨膜电导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)是一种参与盐分跨膜转运的蛋白质。CFTR基因突变可导致CFTR蛋白缺失或功能异常, 进而造成盐分转运减少和水分流动受阻, 最终引发严重的肺功能障碍, 引起囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)<sup>[92]</sup>。Robinson等<sup>[93]</sup>发现将Cftr mRNA递送至缺乏CFTR的小鼠体内, 可改善肺功能。MRT5005(NCT03375047)是首个进入人体临床研究的吸入型mRNA替代疗法, 通过雾化递送mRNA-LNP可在CF患者气道上皮细胞中恢复CFTR功能<sup>[94]</sup>。与肺部疾病等相比, 针对中枢神经系统(central nervous system, CNS)疾病的mRNA蛋白替代疗法, 对递送系统提出了更高要求。血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)常阻止用于CNS的药物进入脑实质<sup>[95]</sup>, 使其难以实现有效的CNS靶向。为解决这一问题, Wang等<sup>[96]</sup>开发了具有血脑屏障穿越能力的脂质纳米颗粒, 该递送系统能够将mRNA递送至脑内神经元和星形胶质细胞, 并在人脑离体组织中验证了其递送能力, 为进一步利用mRNA在CNS内表达治疗性蛋白、开展神经系统疾病的蛋白替代治疗提供了重要的递送平台。除了上述疾病外, 心脏疾病也是基于mRNA的蛋白替代疗法的重要应用领域。心肌梗死(myocardial infarction, MI)会导致心肌细胞(cardiomyocytes, CMs)大量流失, 从而导致瘢痕形成, 严重时会引起心力衰竭。成年哺乳动物CMs细胞周期停滞, 心脏内在可再生能力差, 但是目前尚无有效的治疗方案<sup>[97]</sup>。自1990年代以来, 血管内皮生长因子-A(vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)在缺血性心脏病患者的治疗潜力已被认可<sup>[98-99]</sup>。AZD8601(NCT03370887)是一种编码VEGF-A的mRNA药物, 是首个进入临床试验阶段的编码蛋白的mRNA药物<sup>[100]</sup>, 已被证明能保护小鼠免受心力衰竭并减少心肌细胞凋亡<sup>[101]</sup>。此外,

mRNA编码的转录因子STEMIN和YAP5SA还能再生成体心肌细胞并修复梗死的小鼠心脏<sup>[102]</sup>, 表明mRNA技术在心脏病中具有特殊潜力。

除线性mRNA外, saRNA凭借其胞内自我扩增的特性, 同样可实现治疗性蛋白的长效表达。Feng等<sup>[103]</sup>基于诺如病毒复制子构建了VPg-saRNA系统, 通过工程化改造VPg及RdRp介导的复制过程, 实现了帽非依赖性翻译、高保真复制, 并且该系统表现出较低的免疫原性。在肿瘤模型中, 该治疗方法有效改善了小鼠的代谢状态, 该结果证实了工程化saRNA在蛋白替代疗法中具备潜在应用价值。

### 3.3 蛋白替代疗法的优势与挑战

PRT的临床转化仍面临剂量需求较高和治疗性蛋白表达持续时间有限等挑战。在疫苗接种时, 较低水平的抗原蛋白即可有效诱导免疫应答; 相比之下, 生长因子、激素和单克隆抗体等治疗性蛋白通常要达到足够高的表达水平才能发挥治疗作用<sup>[104]</sup>, 而部分疾病还要求治疗性蛋白维持较长时间的有效表达, 或通过重复给药持续控制病情<sup>[105]</sup>。尽管存在上述挑战, 但mRNA介导的PRT在罕见病与代谢性疾病治疗中仍展现出突出优势。该疗法可借助宿主细胞自身的蛋白质翻译机制, 实现膜蛋白与胞内酶的天然构象表达, 有效弥补了重组蛋白药物制备工艺复杂、难以靶向胞内靶点的固有缺陷。

## 4 mRNA在基因编辑中的应用

### 4.1 外源性CRISPR-Cas介导的基因编辑

随着mRNA技术的发展, mRNA不仅可作为蛋白编码分子, 还成为了基因精准调控的重要工具。在此趋势下, 以CRISPR-Cas为代表的编辑系统逐步发展完善, 现已成为mRNA治疗领域的重要研究方向。目前应用最广泛的CRISPR核酸酶主要包括Cas9、Cas12和Cas13。其中Cas9和Cas12主要靶向DNA, 而Cas13则能够实现RNA靶向调控<sup>[106]</sup>。随着LNP等非病毒递送体系的发展, Cas核酸酶可通过mRNA形式实现体内递送, 从而在实现基因编辑的同时降低基因组整合风险。

在现有CRISPR系统中, Cas9至今仍是体内基因编辑中应用最广泛、技术体系最成熟的工具。CRISPR-Cas9系统主要由Cas9核酸内切酶和单导向RNA(single-guide RNA, sgRNA)组成。sgRNA与Cas9结合形成核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)

复合物, RNP识别特定基因组序列, 进而诱导DNA双链断裂(double-strand breaks, DSBs), 最终通过细胞内源性DNA修复途径实现基因敲除、插入或校正<sup>[107]</sup>(图3)。以DNA形式递送的CRISPR-Cas9系统具有较高的稳定性, 可在细胞内持续表达, 从而提升编辑效率<sup>[19,108]</sup>。但与mRNA及RNP复合物相比, DNA递送导致Cas9持续表达的时间较长, 可能增加脱靶效应的发生率<sup>[18-19,109]</sup>, 且DNA存在随机整合至宿主基因组的潜在风险。而mRNA介导的基因编辑能瞬时表达Cas核酸酶, 可有效降低基因组整合风险与脱靶效应<sup>[18-19]</sup>, 因此逐渐成为体内基因编辑的重要策略。Ding等<sup>[110]</sup>通过递送Cas9 mRNA和靶向前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, *Pcsk9*)的sgRNA, 在小鼠肝脏中实现了体内基因编辑, 使PCSK9表达水平和血清胆固醇水平显著下降, 验证了CRISPR-Cas9体内基因编辑的可行性。随后, 研究者进一步开始关注mRNA高级空间结构对基因编辑效率的影响。Yang等<sup>[111]</sup>研究通过设计具有高结构稳定性的刚性mRNA折叠架构, 显著增强了mRNA的稳定性并提高了蛋白表达效率, 且在体内*Pcsk9*基因编辑模型中实现了更优的编辑效果, 表明RNA结构改造策略可进一步拓展工程化mRNA在基因编辑疗法中的应用前景。

现有递送体系主要呈现肝脏趋向性, 限制了CRISPR在其他器官中的应用。为此, Masarwy等<sup>[112]</sup>开发了一种EGFR靶向的CRISPR-LNP递送策略。该策略通过在LNP表面引入EGFR靶向配体, 使CRISPR-LNP选择性递送至头颈癌组织, 从而提高了肿瘤细胞中的基因编辑效率。近期, Lei等<sup>[113]</sup>构建了基于器官囊膜过滤机制的胰腺靶向脂质纳米颗粒AH-LNP, 其可在体液环境中吸附蛋白而增大粒径, 并借助囊膜过滤效应靶向富集于胰腺, 实现了CRISPR组分的递送与胰腺细胞的基因编辑。随着递送系统与RNA工程的不断优化, mRNA介导的体内CRISPR基因编辑逐步进入临床阶段。Gillmore等<sup>[114]</sup>针对遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性(hereditary transthyretin amyloidosis, ATTR)患者开展了临床研究, 通过递送Cas9 mRNA和sgRNA, 靶向敲除肝脏中的转甲状腺素蛋白(transthyretin, TTR)编码基因, 首次在人体内实现了CRISPR-Cas9介导的基因编辑, 使患者血浆中的TTR水平显著降低。依托该技术研发的体内基因编辑疗

法nex-z(nexiguran ziclumeran, 又称NTLA-2001), 标志着CRISPR体内治疗正式迈入临床试验阶段, 目前该疗法已进入III期临床研究阶段。随后开展的临床研究进一步证实, nex-z可以长期抑制ATTR伴多发性神经病患者体内的TTR表达, 展现了mRNA介导体内CRISPR基因编辑的临床应用前景<sup>[115]</sup>。进一步地, 这项技术逐步扩展至遗传性血管性水肿(hereditary angioedema, HAE)等慢性炎症性疾病。Longhurst等<sup>[116]</sup>开发了靶向激肽释放酶B1(kallikrein B1, *KLKB1*)基因的体内编辑疗法NTLA-2002, 同样通过共递送Cas9 mRNA及sgRNA, 持续抑制了缓激肽生成。NTLA-2002的I期临床结果显示, 单次给药即可显著降低患者HAE发作频率, 且该疗法表现出较好的安全性和持久的治疗效果, 进一步体现了mRNA递送CRISPR系统在慢性疾病长期干预中的应用潜力。除罕见遗传病外, mRNA递送CRISPR系统也逐渐拓展至代谢性疾病领域。Laffin等<sup>[117]</sup>针对血管生成素样蛋白3(angiopoietin-like protein 3, ANGPTL3)的I期临床试验结果表明, 通过LNP共递送Cas9 mRNA及sgRNA进行体内基因编辑, 一次给药即可实现持续性降脂效果, 进一步推动了mRNA介导的CRISPR疗法在心血管代谢性疾病中的临床转化, 也体现了体内基因编辑由罕见遗传病向常见慢性疾病领域的逐步延伸。

## 4.2 内源性RNA编辑技术

尽管CRISPR-Cas系统能够实现高效的基因组编辑, 但其永久性改变DNA序列的特点也带来了潜在的安全风险, 包括脱靶效应、基因组不稳定性等。因此, 近年来逐渐关注RNA层面的编辑策略, 特别是RNA腺苷脱氨酶(adenosine deaminase acting on RNA, ADAR), 其能够将腺苷(A)转换为次黄嘌呤(I), 从而改变RNA序列信息, 并影响蛋白质编码结果, 已成为操控RNA以纠正致病突变、调节基因表达和蛋白质功能的强大工具<sup>[118]</sup>。RNA编辑通过在不改变基因组DNA序列的情况下, 对转录后的RNA分子进行精准修饰, 从而纠正致病性RNA序列中的异常信息, 恢复或调控相关蛋白的功能, 为更加安全、可逆的遗传疾病治疗提供了新的方向。

为提高RNA编辑系统的靶向性并拓展其适用范围, 近年来围绕引导RNA设计以及编辑酶结构优化和编辑活性调控开展了系列探索。2022年, Reautschnig等<sup>[119]</sup>提出了CLUSTER设计策略, 通过在gRNA中引入招募序列(recruitment sequence, RS), 可以产生具有

高度序列灵活性的、可使用质粒编码的gRNA,并能够在细胞和体内进行有效的RNA编辑,同时大大减弱了脱靶效应。随着RNA编辑应用需求从单一位点调控向多位点信息重编程拓展,2026年,Zhuang等<sup>[120]</sup>构建了一种用于可调控RNA信息操作(adjustable RNA information manipulation, AIM)的单链脱氨酶辅助系统,该系统可在目标RNA中构建由配对区域调控的环状结构,实现对环大小的精准调节,从而实现单个或多个碱基的转换。同年, Song等<sup>[121]</sup>推出了新一代RNA编辑工具LEAPER 3.0,该工具通过引入AlphaFold 3结构预测技术,解析ADAR与引导RNA的相互作用,在一定程度上克服了现有RNA编辑技术在编辑效率、精准性及适用范围方面的局限。

### 4.3 mRNA介导基因编辑的研究进展与挑战

总体而言, mRNA兼具瞬时表达能力、非整合性和体内递送潜力,为基因编辑系统提供了灵活的编辑器表达方式,推动了CRISPR介导的基因编辑由外源性逐步向内源性及临床转化发展。近年来,由于编辑器优化及递送策略的进步, mRNA介导基因编辑的应用范围得到了拓宽。然而,近期染色域解旋酶DNA结合蛋白3(chromodomain helicase DNA binding protein 3, Chd3)基因编辑治疗<sup>[122]</sup>的临床研究显示,动物模型中的病情改善并不意味着人体应用具有同等的安全性,相关严重安全性事件凸显了基因编辑在安全性方面的挑战。因此,未来仍需通过优化递送系统、降低免疫原性及加强长期安全性评价,进一步拓宽基因编辑治疗的临床安全窗口。

## 5 不同应用领域中mRNA药物的设计策略比较

mRNA药物的核心理念是利用外源性mRNA作为遗传信息载体,在细胞内翻译产生目标蛋白,从而实现疾病预防或治疗。尽管疫苗研发、蛋白替代疗法和基因编辑均依赖mRNA介导的蛋白表达,但由于表达产物的功能不同,其对蛋白表达水平、表达持续时间以及递送部位提出了不同要求。因此,不同应用领域的mRNA药物需要根据疾病类型和治疗目的进行针对性设计,而非采用统一化策略。

在mRNA疫苗中, mRNA编码的抗原本身并不直接产生治疗作用,而是作为免疫系统识别的靶标。因此,这类应用通常更关注抗原表达效率以及由递送体系产生的免疫刺激。与之不同的是,蛋白

替代疗法旨在恢复疾病相关功能蛋白的表达,需要保证表达蛋白具有正确结构和生物活性。而基因编辑治疗则主要利用mRNA编码Cas蛋白或RNA编辑工具,实现遗传信息调控,因此更关注编辑效率。这种差异同样还表现在蛋白表达持续时间上。疫苗不需要抗原长期存在,短暂的抗原表达即可提供足够的免疫刺激,因此疫苗更关注mRNA的翻译效率和免疫原性。对于蛋白替代疗法而言,则需要延长蛋白表达时间,以此弥补机体的蛋白功能缺陷。基因编辑则呈现出另一种需求,长时间的蛋白表达可能增加脱靶风险,因此通常需要对其表达持续时间进行严格控制,以实现瞬时表达。另外,由于mRNA无法自主进入细胞,不同疾病靶点对递送系统提出了组织特异性要求。mRNA疫苗通常采用肌肉注射,通过局部表达抗原建立起全身性免疫反应。蛋白替代疗法对递送部位具有较强的依赖性,例如呼吸道疾病治疗需要实现肺部递送,而CNS疾病治疗需要突破血脑屏障。而对于基因编辑来说,只有编辑工具进入表达致病基因的目标细胞,才能产生治疗作用。

总体来看, mRNA药物虽然采用同一技术路径,但不同治疗领域需要优化的方面并不相同。疫苗强调免疫激活和抗原表达效率,蛋白替代疗法主要关注疾病相关功能蛋白的补充及其长期表达,而基因编辑则更加依赖编辑系统的精准递送和编辑器的瞬时表达控制。因此, mRNA药物的优化已经不再局限于提高mRNA本身的翻译效率,而是逐渐转向mRNA分子设计、递送材料和组织靶向策略之间的协同优化。

## 6 总结与展望

新型冠状病毒感染的大爆发推动了mRNA药物的发展。新冠mRNA疫苗的成功应用,证实了基于LNP的mRNA药物大规模生产的可行性、安全性和有效性。近年来, mRNA候选药物已广泛应用于传染病预防以及肿瘤免疫治疗、蛋白替代治疗和CRISPR基因编辑等领域,其临床试验申报及获批上市的数量呈现增长趋势。本文主要对mRNA药物在这三个方面的应用进行了详细的综述,从基础理论到前沿发展,对mRNA药物研究进展进行了总结。

mRNA药物凭借序列可编程的特性、较短的开发周期,以及可直接调控蛋白表达的独特优势,正推

动药物研发模式从传统小分子药物逐步向编码型药物转型。然而, mRNA疗法在临床转化过程中仍面临关键挑战: (1) 核酸分子的体内递送效率及组织特异性仍有待进一步提升, 目前多数递送系统存在固有的肝脏趋向性<sup>[123]</sup>, 如何突破这一生理屏障, 实现肝外靶向递送是拓展 mRNA 治疗应用范围的关键; (2) mRNA 天然不稳定, 且 RNase 普遍存在, 使其在体外制备和储存过程中更易发生降解, 从而增加了制备与储存的难度; (3) 利用 LNP 递送 mRNA 会引发较强的炎症反应, mRNA 药物半衰期短, 在治疗时需要频繁多次给药, 这会增加患者的治疗负担, 因此如何提高 mRNA 药物应用的安全性是迫切需要解决的问题。

针对以上挑战, mRNA 药物的研发需突破单一技术的制约: (1) 在递送载体研发层面, 突破传统被动靶向的局限, 通过调控脂质组分及其配比, 实现选择性器官靶向(selective organ targeting, SORT)<sup>[124]</sup>, 或构建兼具天然低免疫原性的外泌体载体, 实现精密的器官级乃至细胞级靶向, 攻克血脑屏障穿透、肺及淋巴组织靶向定植等技术难题; (2) 在分子设计层面, 借助人工智能与深度学习算法, 实现对 mRNA 序列的精准预测, 延长 mRNA 的体内半衰期, 提高蛋白表达水平。随着这些关键技术的持续突破与发展, mRNA 技术有望在疫苗研发、蛋白替代疗法与基因编辑等领域发挥重要作用, 逐步拓展其在不同疾病治疗中的应用。

### 参考文献 (References)

- [1] Kim Y K. RNA therapy: rich history, various applications and unlimited future prospects [J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2022, 54(4): 455-465.
- [2] Brenner S, Jacob F, Meselson M. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis [J]. *Nature*, 1961, 190(4776): 576-581.
- [3] Lockard R E, Lingrel J B. The synthesis of mouse hemoglobin chains in a rabbit reticulocyte cell-free system programmed with mouse reticulocyte 9S RNA [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1969, 37(2): 204-212.
- [4] Kim Y K. RNA therapy: current status and future potential [J]. *Chonnam Medical Journal*, 2020, 56(2): 87-93.
- [5] Wolff J A, Malone R W, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo* [J]. *Science*, 1990, 247(4949): 1465-1468.
- [6] 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.
- [7] Baden L R, El Sahly H M, Essink B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384(5): 403-416.
- [8] Polack F P, Thomas S J, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 383(27): 2603-2615.
- [9] Damase T R, Sukhovshin R, Boada C, et al. The limitless future of RNA therapeutics [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 628137.
- [10] Finan C, Gaulton A, Kruger F A, et al. The druggable genome and support for target identification and validation in drug development [J]. *Science Translational Medicine*, 2017, 9(383): eaag1166.
- [11] Fauman E B, Rai B K, Huang E S. Structure-based druggability assessment: identifying suitable targets for small molecule therapeutics [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2011, 15(4): 463-468.
- [12] Kiaie S H, Majidi Zolbanin N, Ahmadi A, et al. Recent advances in mRNA-LNP therapeutics: immunological and pharmacological aspects [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 276.
- [13] Pardi N, Krammer F. mRNA vaccines for infectious diseases: advances, challenges and opportunities [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2024, 23(11): 838-861.
- [14] Chaudhary N, Weissman D, Whitehead K A. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(11): 817-838.
- [15] Liu J, Fu M Y, Wang M N, et al. Cancer vaccines as promising immuno-therapeutics: platforms and current progress [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15(1): 28.
- [16] Karikó K, Muramatsu H, Welsh F A, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability [J]. *Molecular Therapy*, 2008, 16(11): 1833-1840.
- [17] Andries O, Mc Cafferty S, de Smedt S C, et al. N<sup>1</sup>-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice [J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 217: 337-344.
- [18] Behr M, Zhou J, Xu B, et al. *In vivo* delivery of CRISPR-Cas9 therapeutics: progress and challenges [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021, 11(8): 2150-2171.
- [19] Liang X Q, Potter J, Kumar S, et al. Rapid and highly efficient mammalian cell engineering via Cas9 protein transfection [J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 208: 44-53.
- [20] Vallet T, Vignuzzi M. Self-amplifying RNA: advantages and challenges of a versatile platform for vaccine development [J]. *Viruses*, 2025, 17(4): 566.
- [21] Qu L, Yi Z Y, Shen Y, et al. Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants [J]. *Cell*, 2022, 185(10): 1728-1744.e16.
- [22] Pardi N, Hogan M J, Porter F W, et al. mRNA vaccines: a new era in vaccinology [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2018, 17(4): 261-279.
- [23] Weng Y H, Li C H, Yang T R, et al. The challenge and prospect of mRNA therapeutics landscape [J]. *Biotechnology Advances*, 2020, 40: 107534.
- [24] Dobrowolski C, Paunovska K, Hatit M Z C, et al. Therapeutic

- RNA delivery for COVID and other diseases [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2021, 10(15): 2002022.
- [25] 闫慧杰, 黄琳, 吴军军. 新型STING激动剂及递送策略的研究进展[J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2025, 41(6): 87-94.
- Yan H J, Huang L, Wu J J. Research advances in novel STING agonists and their delivery strategies [J]. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science Edition)*, 2025, 41(6): 87-94.
- [26] Hou X C, Zaks T, Langer R, et al. Lipid nanoparticles for mRNA delivery [J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(12): 1078-1094.
- [27] Wu J J, Zhao Z N, Wu H S, et al. Novel swelling-lytic cell death triggered by cargo-free ionizable lipid nanoparticles [J]. *Advanced Science*, 2025, 12(40): e09208.
- [28] Lin Y, Li M Y, Luo Z J, et al. Tissue-specific mRNA delivery and prime editing with peptide-ionizable lipid nanoparticles [J]. *Nature Materials*, 2026, 25(1): 133-145.
- [29] Vadovics M, Zhao W C, Daley E F, et al. Tailoring the adjuvanticity of lipid nanoparticles by PEG lipid ratio and phospholipid modifications [J]. *Nature Nanotechnology*, 2025, 20(9): 1312-1322.
- [30] Binici B, Rattray Z, Zinger A, et al. Exploring the impact of commonly used ionizable and pegylated lipids on mRNA-LNPs: a combined *in vitro* and preclinical perspective [J]. *Journal of Controlled Release*, 2025, 377: 162-173.
- [31] Howard G P, Verma G, Ke X Y, et al. Critical size limit of biodegradable nanoparticles for enhanced lymph node trafficking and paracortex penetration [J]. *Nano Research*, 2019, 12(4): 837-844.
- [32] Ma X, Liu S L, Zhang S H, et al. Engineering of mRNA vaccine platform with reduced lipids and enhanced efficacy [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 8913.
- [33] Kong W W, Wei Y N, Dong Z R, et al. Role of size, surface charge, and PEGylated lipids of lipid nanoparticles (LNPs) on intramuscular delivery of mRNA [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 553.
- [34] Voke E, Arral M L, Squire H J, et al. Protein corona formed on lipid nanoparticles compromises delivery efficiency of mRNA cargo [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 8699.
- [35] Akinc A, Zumbuehl A, Goldberg M, et al. A combinatorial library of lipid-like materials for delivery of RNAi therapeutics [J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(5): 561-569.
- [36] Duan X, Huang H, Liu S B, et al. Reprogramming mRNA delivery tropism via nitrogen-to-sulfur substitution in ionizable lipids [J]. *Advanced Materials*, 2026, 38(9): e09471.
- [37] Yamagata H M, Padilla M S, Hamilton A G, et al. Liver-detargeted aromatic bioreducible mRNA lipid nanoparticles confer lymph node tropism and robust antigen-specific immunity [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2026, 148(13): 14137-14150.
- [38] Kelly M D, Vu T Q, Iyer A U, et al. DNA-directed assembly of multivalent lipid nanoparticles for targeted T cell gene delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 2026, 394: 114885.
- [39] Zhang X, Xu C, Gao S, et al. CRISPR/Cas9 delivery mediated with hydroxyl-rich nanosystems for gene editing in aorta [J]. *Advanced Science*, 2019, 6(12): 1900386.
- [40] Yu X Y, Qi S L, Cao W Y, et al. Metabolism-programming mRNA-lipid nanoparticles remodel the immune microenvironment to improve immunotherapy against MAFLD [J]. *Science Translational Medicine*, 2025, 17(827): eadv2293.
- [41] Wang D, Chen L, Li C B, et al. CRISPR/Cas9 delivery by NIR-responsive biomimetic nanoparticles for targeted HBV therapy [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 27.
- [42] Norota K, Ishizuka S, Hirose M, et al. Lipid nanoparticle delivery of the CRISPR/Cas9 system directly into the mitochondria of cells carrying m.7778G>T mutation in MtDNA (mt-Atp8) [J]. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 18717.
- [43] Wang Y, Zhao M, Xie H X, et al. Mitochondria-targeted gene delivery using fluorinated lipid nanoparticles to alleviate leber's hereditary optic neuropathy [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 10891.
- [44] Yang X P, Bui T A, Mei H Q, et al. Exploring the potential and challenges of CRISPR delivery and therapeutics for genetic disease treatment [J]. *Advanced Functional Materials*, 2024, 34(38): 2402630.
- [45] Wu Z J, Yang H Y, Colosi P. Effect of genome size on AAV vector packaging [J]. *Molecular Therapy*, 2010, 18(1): 80-86.
- [46] Bushman F D. Retroviral insertional mutagenesis in humans: evidence for four genetic mechanisms promoting expansion of cell clones [J]. *Molecular Therapy*, 2020, 28(2): 352-356.
- [47] Lee C S, Bishop E S, Zhang R Y, et al. Adenovirus-mediated gene delivery: potential applications for gene and cell-based therapies in the new era of personalized medicine [J]. *Genes & Diseases*, 2017, 4(2): 43-63.
- [48] Hashimoto M, Takemoto T. Electroporation enables the efficient mRNA delivery into the mouse zygotes and facilitates CRISPR/Cas9-based genome editing [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 11315.
- [49] Dever D P, Bak R O, Reinisch A, et al. CRISPR/Cas9  $\beta$ -globin gene targeting in human hematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2016, 539(7629): 384-389.
- [50] Tröder S E, Ebert L K, Butt L, et al. An optimized electroporation approach for efficient CRISPR/Cas9 genome editing in murine zygotes [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0196891.
- [51] Kaneko T, Sakuma T, Yamamoto T, et al. Simple knockout by electroporation of engineered endonucleases into intact rat embryos [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4(1): 6382.
- [52] Nooraei S, Bahrulolum H, Hoseini Z S, et al. Virus-like particles: preparation, immunogenicity and their roles as nanovaccines and drug nanocarriers [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 59.
- [53] Han J B, Bai H Y, Li F, et al. Engineering a streamlined virus-like particle for programmable tissue-specific gene delivery [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 9157.
- [54] Wang X Q, Munson M J, Friis K, et al. Hybrid extracellular vesicles for efficient loading and functional delivery of mRNA [J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2025, 14(12): e70201.
- [55] Wang R, Bao L, Yu Y Y, et al. Bacterial membrane coating potentiates lipid nanoparticles for mRNA delivery [J]. *Nano Letters*, 2025, 25(49): 17074-17081.
- [56] Brown D W, Wee P, Bhandari P, et al. Safe and effective *in vivo* delivery of DNA and RNA using proteolipid vehicles [J]. *Cell*, 2024, 187(19): 5357-5375.e24.
- [57] Crank M C, Ruckwardt T J, Chen M, et al. A proof of concept for structure-based vaccine design targeting RSV in humans [J]. *Science*, 2019, 365(6452): 505-509.
- [58] Wilson E, Goswami J, Baqui A H, et al. Efficacy and safety of an mRNA-based RSV PreF vaccine in older adults [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2023, 389(24): 2233-2244.

- [59] Ploquin A, Mason R D, Holman L A, et al. A structure-based mRNA vaccine for Nipah virus in healthy adults: a phase 1 trial [J]. *Nature Medicine*, 2026, 32: 1401-1410.
- [60] Ramezani-Rad P, Cottrell C A, Marina-Zárate E, et al. Vaccination with an mRNA-encoded membrane-bound HIV envelope trimer induces neutralizing antibodies in animal models [J]. *Science Translational Medicine*, 2025, 17(809): eadw0721.
- [61] Parks K R, Moodie Z, Allen M A, et al. Vaccination with mRNA-encoded membrane-anchored HIV envelope trimers elicited tier 2 neutralizing antibodies in a phase 1 clinical trial [J]. *Science Translational Medicine*, 2025, 17(809): eady6831.
- [62] Wu J J, Chen G J, Fan C Y, et al. An adjustable adjuvant STINGosome for tailoring the potent and broad immunity against SARS-CoV-2 and monkeypox virus via STING and necroptosis [J]. *Advanced Functional Materials*, 2023, 33(50): 2306010.
- [63] Vidal S J, Lasrado N, Tostanoski L H, et al. Mining the CD4 antigen repertoire for next-generation tuberculosis vaccines [J]. *Cell*, 2025, 188(24): 6791-6803.e13.
- [64] Liu X Y, Xiu C L, He L, et al. Strong immune response and protection against *Brucella abortus* by Omp25 and BP26 mRNA vaccine candidates [J]. *International Immunopharmacology*, 2025, 158: 114765.
- [65] Elia U, Levy Y, Cohen H, et al. Novel bivalent mRNA-LNP vaccine for highly effective protection against pneumonic plague [J]. *Advanced Science*, 2025, 12(26): 2501286.
- [66] Faghfuri E, Pourfarzi F, Faghfour A H, et al. Recent developments of RNA-based vaccines in cancer immunotherapy [J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2021, 21(2): 201-218.
- [67] van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma [J]. *Science*, 1991, 254(5038): 1643-1647.
- [68] Boczkowski D, Nair S K, Snyder D, et al. Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1996, 184(2): 465-472.
- [69] Rojas L A, Sethna Z, Soares K C, et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2023, 618(7963): 144-150.
- [70] Lopez J, Powles T, Braithe F, et al. Autogene cevumeran with or without atezolizumab in advanced solid tumors: a phase 1 trial [J]. *Nature Medicine*, 2025, 31(1): 152-164.
- [71] Weber J S, Carlino M S, Khattak 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]. *The Lancet*, 2024, 403(10427): 632-644.
- [72] Sahin U, Schmidt M, Derhovannessian E, et al. Individualized mRNA vaccines evoke durable T cell immunity in adjuvant TNBC [J]. *Nature*, 2026, 651(8107): 1088-1096.
- [73] Zhao H C, Cheng Y F, Zhang T C, et al. Harnessing alternative splicing for off-the-shelf mRNA neoantigen vaccines in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Research*, 2025, 35(12): 970-986.
- [74] Wang R, Wu J N, Lin Y F, et al. An epitope-directed mRNA vaccine inhibits tumor metastasis through the blockade of MICA/B  $\alpha 1/2$  shedding [J]. *Cell Reports Medicine*, 2025, 6(3): 101981.
- [75] Wang W G, Chu Y, Zhao L L, et al. HBsAg-tagged tumour vaccine system eliminates solid tumours through virus-specific memory T cells [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2025, 10: 1898-1914.
- [76] Zhu Y N, Yao Z C, Li S Y, et al. An mRNA lipid nanoparticle-incorporated nanofiber-hydrogel composite for cancer immunotherapy [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 5707.
- [77] Palmer C D, Rappaport A R, Davis M J, et al. Individualized, heterologous chimpanzee adenovirus and self-amplifying mRNA neoantigen vaccine for advanced metastatic solid tumors: phase 1 trial interim results [J]. *Nature Medicine*, 2022, 28(8): 1619-1629.
- [78] Niu D, Wu Y R, Lian J Q. Circular RNA vaccine in disease prevention and treatment [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(1): 341.
- [79] Li H J, Hu Y T, Li J X, et al. Intranasal prime-boost RNA vaccination elicits potent T cell response for lung cancer therapy [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2025, 10(1): 101.
- [80] Wang Y Y, Lin L R, Wang X Y, et al. Synergically enhanced anti-tumor immunity of *in vivo* panCAR by circRNA vaccine boosting [J]. *Cell Reports Medicine*, 2025, 6(8): 102250.
- [81] Cai Z Y, Wuri Q, Song Y, et al. CircRNA-loaded DC vaccine in combination with low-dose gemcitabine induced potent anti-tumor immunity in pancreatic cancer model [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2025, 74(2): 68.
- [82] Jirikowski G F, Sanna P P, Maciejewski-Lenoir D, et al. Reversal of diabetes insipidus in Brattleboro rats: intrahypothalamic injection of vasopressin mRNA [J]. *Science*, 1992, 255(5047): 996-998.
- [83] Prakash V, Moore M, Yáñez-Muñoz R J. Current progress in therapeutic gene editing for monogenic diseases [J]. *Molecular Therapy*, 2016, 24(3): 465-474.
- [84] Sin Y Y, Baron G, Schulze A, et al. Arginase-1 deficiency [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2015, 93(12): 1287-1296.
- [85] Burrage L C, Sun Q, Elsea S H, et al. Human recombinant arginase enzyme reduces plasma arginine in mouse models of arginase deficiency [J]. *Human Molecular Genetics*, 2015, 24(22): 6417-6427.
- [86] Truong B, Allegri G, Liu X B, et al. Lipid nanoparticle-targeted mRNA therapy as a treatment for the inherited metabolic liver disorder arginase deficiency [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(42): 21150-21159.
- [87] Khoja S, Liu X B, Truong B, et al. Intermittent lipid nanoparticle mRNA administration prevents cortical dysmyelination associated with arginase deficiency [J]. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2022, 28: 859-874.
- [88] Yang T H, Ge J H, Huang L, et al. Preclinical evaluation of AGT mRNA replacement therapy for primary hyperoxaluria type I disease [J]. *Science Advances*, 2025, 11(15): eadt9694.
- [89] Zadory M, Lopez-Vince E, Haddouch H, et al. Lipid-based nanoparticles deliver mRNA to reverse the pathogenesis of lysosomal acid lipase deficiency in a preclinical model [PP/OL]. *bioRxiv* (2024-12-08) [2026-05-15]. <https://doi.org/10.1101/2024.12.07.627318>.
- [90] Zhai D Q, Ni J P, Shao X Y, et al. Lipid nanoparticle-delivered ornithine transcarbamylase mRNA alleviates liver fibrosis in preclinical models [J]. *Hepatology*, 2026, DOI: 10.1097/HEP.0000000000001708.
- [91] Koeberl D, Schulze A, Sondheimer N, et al. Interim analyses of a first-in-human phase 1/2 mRNA trial for propionic acidemia [J].

- Nature, 2024, 628(8009): 872-877.
- [92] Endres T M, Konstan M W. What is cystic fibrosis? [J]. The Journal of the American Medical Association, 2022, 327(2): 191.
- [93] Robinson E, MacDonald K D, Slaughter K, et al. Lipid nanoparticle-delivered chemically modified mRNA restores chloride secretion in cystic fibrosis [J]. Molecular Therapy, 2018, 26(8): 2034-2046.
- [94] Rowe S, Zuckerman J, Dorgan D, et al. Inhaled mRNA therapy for treatment of cystic fibrosis: interim results of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 1/2 clinical study [J]. Journal of Cystic Fibrosis, 2023, 22(4): 656-664.
- [95] Liu J J, Wang T, Dong J, et al. The blood-brain barriers: novel nanocarriers for central nervous system diseases [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2025, 23(1): 146.
- [96] Wang C, Xue Y E, Markovic T, et al. Blood-brain-barrier-crossing lipid nanoparticles for mRNA delivery to the central nervous system [J]. Nature Materials, 2025, 24(10): 1653-1663.
- [97] Magadam A, Kaur K, Zangi L. mRNA-based protein replacement therapy for the heart [J]. Molecular Therapy, 2019, 27(4): 785-793.
- [98] Chien K R, Zangi L, Lui K O. Synthetic chemically modified mRNA (modRNA): toward a new technology platform for cardiovascular biology and medicine [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 2015, 5(1): a014035.
- [99] Ylä-Herttuala S, Bridges C, Katz M G, et al. Angiogenic gene therapy in cardiovascular diseases: dream or vision? [J]. European Heart Journal, 2017, 38(18): 1365-1371.
- [100] Mullard A. mRNA-based drug approaches phase I milestone [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2016, 15(9): 595.
- [101] Anttila V, Saraste A, Knuuti J, et al. Direct intramyocardial injection of VEGF mRNA in patients undergoing coronary artery bypass grafting [J]. Molecular Therapy, 2023, 31(3): 866-874.
- [102] Xiao S Y, Liang R, Lucero E, et al. STEMIN and YAP5SA synthetic modified mRNAs regenerate and repair infarcted mouse hearts [J]. The Journal of Cardiovascular Aging, 2022, 2(3): 31.
- [103] Feng Z Y, Chu L X, Li Q, et al. Engineered VPg saRNA achieves cap-independent, low-immunogenic and precise encoding of therapeutic proteins *in vivo* [J]. Nature Communications, 2026, 17(1): 1666.
- [104] Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. mRNA-based therapeutics: developing a new class of drugs [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2014, 13(10): 759-780.
- [105] Wei H H, Zheng L L, Wang Z F. mRNA therapeutics: new vaccination and beyond [J]. Fundamental Research, 2023, 3(5): 749-759.
- [106] Abudayyeh O O, Gootenberg J S, Konermann S, et al. C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector [J]. Science, 2016, 353(6299): aaf5573.
- [107] Wu F, Li N, Xiao Y D, et al. Lipid nanoparticles for delivery of CRISPR gene editing components [J]. Small Methods, 2026, 10(2): 2401632.
- [108] Lin Y, Wagner E, Lächelt U. Non-viral delivery of the CRISPR/Cas system: DNA versus RNA versus RNP [J]. Biomaterials Science, 2022, 10(5): 1166-1192.
- [109] Kim S, Kim D, Cho S W, et al. Highly efficient RNA-guided genome editing in human cells via delivery of purified Cas9 ribonucleoproteins [J]. Genome Research, 2014, 24(6): 1012-1019.
- [110] Ding Q R, Strong A, Patel K M, et al. Permanent alteration of PCSK9 with *in vivo* CRISPR-Cas9 genome editing [J]. Circulation Research, 2014, 115(5): 488-492.
- [111] Yang B W, Li B H, Zhu Y L, et al. Rational design of rigid mRNA folding architecture to enhance intracellular processing and protein production [J]. Nature Nanotechnology, 2026, 21(3): 407-418.
- [112] Masarwy R, Breier D, Stotsky-Oterin L, et al. Targeted CRISPR/Cas9 lipid nanoparticles elicits therapeutic genome editing in head and neck cancer [J]. Advanced Science, 2024, 12(7): 2411032.
- [113] Lei J Q, Yang K, Cao W Y, et al. Pancreatic-targeted lipid nanoparticles based on organ capsule filtration [J]. Nature, 2026, 652(8108): 220-229.
- [114] Gillmore J D, Gane E, Taubel J, et al. CRISPR-Cas9 *in vivo* gene editing for transthyretin amyloidosis [J]. The New England Journal of Medicine, 2021, 385(6): 493-502.
- [115] Gillmore J D, Gane E, Täubel J, et al. Nexiguran ziclumeran gene editing in hereditary ATTR with polyneuropathy [J]. The New England Journal of Medicine, 2025, 393(14): 1375-1386.
- [116] Longhurst H J, Lindsay K, Petersen R S, et al. CRISPR-Cas9 *in vivo* gene editing of KLKB1 for hereditary angioedema [J]. The New England Journal of Medicine, 2024, 390(5): 432-441.
- [117] Laffin L J, Nicholls S J, Scott R S, et al. Phase 1 trial of CRISPR-Cas9 gene editing targeting ANGPTL3 [J]. The New England Journal of Medicine, 2025, 393(21): 2119-2130.
- [118] Booth B J, Nourredine S, Katrekara D, et al. RNA editing: expanding the potential of RNA therapeutics [J]. Molecular Therapy, 2023, 31(6): 1533-1549.
- [119] Reautschnig P, Wahn N, Wettengel J, et al. CLUSTER guide RNAs enable precise and efficient RNA editing with endogenous ADAR enzymes *in vivo* [J]. Nature Biotechnology, 2022, 40(5): 759-768.
- [120] Zhuang Y, Zhu Q G, Wu H, et al. Single-strand deaminase-assisted editing for functional RNA manipulation [J]. Nature Biotechnology, 2026, DOI: 10.1038/s41587-025-02956-7.
- [121] Song D L, Liu G X, Zhang W, et al. RNA structure programs endogenous ADAR for precise and efficient editing [J]. Cell, 2026, 189(14): 4359-4376.e27.
- [122] Yang K, Li W K, Geng Y X, et al. *In vivo* base editing of Chd3 rescues behavioural abnormalities in mice [J]. Nature, 2026, 651(8106): 785-795.
- [123] Saber N, Estape Senti M, Schiffelers R M. Lipid nanoparticles for nucleic acid delivery beyond the liver [J]. Human Gene Therapy, 2024, 35(17/18): 617-627.
- [124] Cheng Q, Wei T, Farbiak L, et al. Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue specific mRNA delivery and CRISPR/Cas gene editing [J]. Nature Nanotechnology, 2020, 15(4): 313-320.