

脂质纳米粒信使RNA递送系统研究进展

何 顺, 刘 帅

浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058

[摘 要] 信使RNA(mRNA)疗法是一种将体外转录的mRNA递送至特定细胞,生成目标蛋白以治疗或预防疾病的生物技术。mRNA疗法离不开有效的mRNA递送系统,而脂质纳米粒(LNP)是目前临床应用最为广泛的一类mRNA递送载体。LNP由可电离脂质、两性磷脂、胆固醇和聚乙二醇化脂质四种脂质材料组成,可有效解决mRNA药物存在的体内稳定性较差、难以跨越体内多级生物屏障等难题,并能够针对肝脏、肺和脾脏等器官实现mRNA安全、高效和靶向递送。本文阐述了LNP四种脂质组分在递送mRNA中的作用,介绍了通过抗体修饰、改变脂质结构和使用特殊的给药方式等策略实现LNP针对肝脏、肺、脾脏、胰腺、骨髓及胎盘等不同器官或组织的靶向递送,并探讨了基于LNP的mRNA药物在疾病治疗领域的应用及面临的挑战,以期 mRNA 疗法的临床转化和 LNP 递送系统的优化创新提供参考。



[关键词] 信使RNA疗法;信使RNA递送系统;脂质纳米粒;靶向递送;基因治疗;综述

[中图分类号] R945 **[文献标志码]** A

Research progress on lipid nanoparticle messenger RNA delivery system

HE Shun, LIU Shuai (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Corresponding author: LIU Shuai, E-mail: shuailiu@zju.edu.cn, ORCID: 0000-0002-8405-6743

[Abstract] Messenger RNA (mRNA) therapeutics involve delivering *in vitro* transcribed mRNA into specific cells to produce target proteins for the treatment or prevention of diseases. However, the development of mRNA therapeutics relies largely

收稿日期(Received): 2024-12-25 修改返回日期(Revised): 2025-04-21 接受日期(Accepted): 2025-05-14 网络预发表日期(Online): 2025-06-04

基金项目(Funding): 国家自然科学基金(32471375, 22205201); 浙江省自然科学基金(LZ23H180003)

第一作者(First author): 何 顺, 博士研究生, 主要从事 mRNA 递送研究; E-mail: shunhe@zju.edu.cn; ORCID: 0009-0009-3307-0674

通信作者(Corresponding author): 刘 帅, 研究员, 博士生导师, 主要从事 mRNA 递送及应用研究; E-mail: shuailiu@zju.edu.cn; ORCID: 0000-0002-8405-6743

on mRNA delivery systems. Lipid nanoparticles (LNPs) represent the most widely used mRNA carriers in clinical applications. Composed of ionizable lipids, zwitterionic phospholipids, cholesterol, and polyethylene glycol-lipids, LNPs can address critical challenges in mRNA drug development, such as poor *in vivo* stability and the difficulty in crossing biological barriers. Ultimately, LNPs enable safe, efficient, and targeted mRNA delivery to the liver, lung, spleen, and other organs. This review outlines the roles of the four lipid components in LNPs for mRNA delivery. It then introduces targeted mRNA delivery to various organs/tissues such as the liver, lung, spleen, pancreas, bone marrow, and placenta, using strategies such as antibody modification, lipid structure alteration, and specialized administration routes. Additionally, this review discusses the applications and challenges of LNP-based mRNA therapeutics in disease treatment, aiming to provide insights for the clinical translation of mRNA therapies and for further innovations in LNP delivery systems.

[**Key words**] Messenger RNA therapy; Messenger RNA delivery system; Lipid nanoparticle; Targeted delivery; Gene therapy; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2025, 54(4): 446-454.]

[**缩略语**] 信使RNA (messenger RNA, mRNA); 脂质纳米粒 (lipid nanoparticle, LNP); 2019冠状病毒病 (coronavirus disease 2019, COVID-19); 食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA); 聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG); 小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA); 1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine, DSPC); 1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油 (1,2-dimyristoyl-sn-glycerol, DMG); 1,2-二油酰-3-二甲基铵-丙烷 (1,2-dioleoyl-3-dimethylammonium-propane, DODAP); 酸解离常数 (acid dissociation constant, pK_a); 1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺 (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DOPE); 嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR); 器官选择性靶向 (selective organ targeting, SORT); 1,2-二油酰-3-三甲基铵丙烷 (1,2-dioleoyl-3-trimethylammoniumpropane, DOTAP)

mRNA在20世纪90年代初被证明可在体内成功表达蛋白质^[1],此后基于mRNA的基因疗法蓬勃发展,目前已成功应用于肿瘤、感染、炎症等多种疾病的治疗^[2]。2005年,Karikó等^[3]报道了对mRNA进行碱基修饰可有效降低体内免疫反应,并在后续研究中发现碱基修饰可明显提高mRNA的稳定性及蛋白质表达^[4],这对于提升mRNA药物的安全性和有效性具有重大意义,极大地推动了mRNA疗法的发展。然而,mRNA作为一种亲水性生物大分子,携带大量负电荷,并且容易被环境中的核糖核酸酶降解,致使单独的mRNA难以跨越多重生理屏障到达靶部位产生效果,因此mRNA药物的发展亟须一种高效的递送系统。

LNP是一种优异的基因递送载体^[5]。首先,LNP能够有效保护mRNA免受核糖核酸酶降解,避免mRNA在到达靶部位前失活;其次,LNP可介导mRNA分子高效跨越生物屏障,携带mRNA经内吞到达细胞内,进一步经内体逃逸进入细胞质,有效解决mRNA大分子难以入胞的难题,进而能使mRNA在细胞质中翻译成相应蛋白质以发挥功效;最后,通过合理设计可使LNP对特定器官产生靶向性,甚至能够实现靶向特定组织或特定细胞亚型,使得mRNA在靶器官、组织和细胞中实现特异性分布和表达^[6]。在COVID-19疫情爆发后,两款基于LNP的mRNA COVID-19疫苗(美国Moderna公司开发的mRNA-1273和美国

辉瑞/德国 BioNTech 公司联合开发的 BNT162b2) 在全球多个国家快速获得紧急使用授权,在疫情防控中发挥了巨大作用,随后这两款疫苗经美国 FDA 批准正式上市^[7]。2024 年,美国 Moderna 公司开发的针对呼吸道合胞病毒的 mRNA 疫苗 mRESVIA(mRNA-1345)获批上市,该疫苗也应用了 LNP 递送技术^[8]。

高效安全的 LNP 已成为 mRNA 药物临床成功应用的关键因素之一^[9]。本文系统阐述了 LNP 的脂质组成,综述了具有器官或组织靶向特性的 LNP-mRNA 递送系统研究进展,并探讨了基于 LNP 的 mRNA 药物在疾病治疗领域的应用,旨在增强研究人员对 LNP-mRNA 递送系统的理解,并为基于 LNP 技术的 mRNA 药物进一步研发提供思路。

1 脂质纳米粒的组成

传统 LNP 通常由四种脂质构成:可电离脂质、两性磷脂、胆固醇和 PEG 化脂质^[10]。2018 年,LNP 作为递送系统经美国 FDA 批准用于全球首个 siRNA 药物 Patisiran(商品名 Onpattro),该药物经静脉注射后可有效进入肝脏细胞,沉默甲状腺素运载蛋白 mRNA,从而抑制其表达^[11]。Patisiran 中使用的 LNP 由可电离脂质 DLin-MC3-DMA(简称 MC3)、胆固醇、两性磷脂 DSPC 和 PEG 化脂质 PEG2000-C-DMG 四种脂质组分以摩尔比 50:38.5:10:1.5 组成。后续批准的两款 COVID-19 疫苗 mRNA-1273 和 BNT162b,以及呼吸道合胞病毒疫苗 mRNA-1345 中所使用的 LNP 均由四种脂质组分组成^[9,12]。其中,mRNA-1273 和 mRNA-1345 使用的 LNP 由可电离脂质 SM-102、胆固醇、两性磷脂 DSPC 和 PEG 化脂质 DMG-PEG2000 以摩尔比 50:38.5:10:1.5 组成,BNT162b2 使用的 LNP 则是由可电离脂质 ALC-0315、胆固醇、两性磷脂 DSPC 和 PEG 化脂质 ALC-0159 以摩尔比 46.3:42.7:9.4:1.6 组成。在上述美国 FDA 批准的 mRNA 疫苗中,LNP 递送系统的各脂质组分结构如附图 1 所示。LNP 中各个脂质组分以一定的配比共同形成纳米粒,每一种组分都有不同的性质和功能,本文将对 LNP 中的四种脂质组分进行介绍。

1.1 可电离脂质

阳离子脂质表现出正电性,具有与带负电的生物大分子静电结合的能力。第一代阳离子脂

质结构中常含有季胺基团,称为永久性阳离子脂质。然而,永久性阳离子脂质具有较高的毒性,限制了其临床转化。为解决永久性阳离子脂质的安全性问题,第二代阳离子脂质——可电离脂质应运而生。可电离脂质通常包含胺基头部、疏水尾部和两者之间的连接基团^[10]。胺基头部含有一个或多个叔胺基团。在酸性条件下,叔胺基团质子化使得可电离脂质带有正电荷,可与带负电荷的 mRNA 发生静电相互作用进而增加对 mRNA 的包封率,同时可增强对内体膜的破坏从而 mRNA 能够被释放进入细胞质中;中性条件下,叔胺基团去质子化呈中性,不仅可以增加 LNP 的稳定性,还可以减少其在血液循环过程中与负电性的细胞膜或蛋白质的相互作用,因此可起到降低毒性并延长血液循环时间的作用^[13]。

可电离脂质是 LNP 中的关键组分,也一直是研究者们关注的重点。1994 年,Bailey 等^[14]报道合成了可电离脂质 AL1(DODAP),其结构中含有一个叔胺基团,表观 pK_a 值为 6.58,可实现在低 pH 值条件下质子化带正电荷而在生理 pH 值下不带电荷。随后,科学家们设计合成出大量具有新型化学结构的可电离脂质如 MC3、SM-102、ALC-0315 等。这些可电离脂质在安全性和递送效率方面表现优异,已成功应用于上市的 RNA 药物中。新型可电离脂质的设计及更新迭代进一步推动了 LNP 发展。例如,Han 等^[15-20]通过理性设计并运用定向进化、组合合成等方法,制备并优化了大量可降解的可电离脂质,这些可电离脂质实现了高效且安全的体内外 mRNA 递送,并在多种疾病的治疗中展现出优异的疗效。

1.2 两性磷脂

两性磷脂是 LNP 中另一种重要的脂质组分,通常被称为“辅助脂质”,其化学结构中含有磷酸基团^[21]。获美国 FDA 批准的四种 LNP-RNA 药物中使用的两性磷脂均是 DSPC,由两性离子基团磷脂酰胆碱头部、长碳链尾部及两者间连接的酯键构成。另一种常用的两性磷脂为 DOPE,其结构中的两性离子基团为磷脂酰乙醇胺,且其长碳链尾部含有不饱和烯键。Álvarez-Benedicto 等^[22]研究发现,磷脂能够增强 LNP 与生物膜的融合从而促进内体逃逸,并且 DOPE 比 DSPC 具有更强的促进内体逃逸的作用,因此也展示出更高的 mRNA 递送效率。此外,不同结构的两性磷脂对

LNP的器官靶向性产生不同的影响。Zhang等^[23]通过比较DSPC和DOPE对LNP递送mRNA的靶向性,发现含DSPC的LNP更倾向在脾脏聚集,而含DOPE的LNP则更容易在肝脏聚集,进一步研究发现含DOPE的LNP能够与载脂蛋白E产生更强的相互作用,LNP表面载脂蛋白E的特异性吸附提高了mRNA在肝脏的聚集和表达。

除了上述商业化两性磷脂,学者们通过化学合成得到了许多具有全新结构的两性磷脂,并且从中发现了一些独特的性质和功能。例如,Gan等^[24]在两性磷脂结构中的尾链末端引入金刚烷,改造后的两性磷脂与可电离脂质、胆固醇和PEG化脂质构建稳定的LNP用于mRNA递送,并且经静脉注射后可实现针对肝脏中免疫细胞的靶向性。研究者们还对两性磷脂的化学结构进行了更为系统的研究,Liu等^[25]通过组合合成方法建立了新型可电离两性磷脂库,包含572种具有不同化学结构的可电离磷脂,分别具有一个或多个两性离子基团和不同数量及长度的脂肪尾链。该类磷脂具有促膜失稳的特性,其中优选出的磷脂由一个包含磷酸基团和叔胺基团的两性离子头部以及三条长碳链尾部构成,这种小头部、大尾部的锥状结构能够有效介导LNP与内体膜融合,促进膜向六方晶相转变,从而提高内体逃逸和mRNA递送效率。通过对磷脂化学结构的改造可实现对mRNA递送靶向性及递送效率的调控,进而实现mRNA在不同靶器官(如肝脏和脾脏)中高表达。此外,可电离磷脂还能够通过与两性离子脂质、可电离脂质和永久性阳离子脂质配伍制备LNP,分别实现mRNA在脾脏、肝脏和肺部的靶向递送。

1.3 胆固醇

胆固醇是一种内源性的脂类物质,起到调节LNP脂质膜流动性和渗透性的作用,对LNP的稳定性和mRNA递送效率及靶向性均会产生影响。Kawaguchi等^[26]发现肌肉注射LNP-mRNA时,随着LNP中胆固醇含量减少,肝脏的mRNA表达降低,而给药部位肌肉的mRNA表达仍能维持原有水平。近期有研究发现,LNP中删去胆固醇组分可有效降低LNP的肝脏趋向性,介导有效的肝外mRNA靶向递送^[27]。原因在于,胆固醇的存在易使LNP在血液中吸附脂蛋白,不可避免地使肝细胞表面的脂蛋白受体结合。

研究人员除了探索LNP中胆固醇的含量对mRNA递送的影响,还针对胆固醇的化学结构进行了研究。Patel等^[28]使用六种不同结构的羟基胆固醇替换LNP中的胆固醇,研究结果表明7 α -羟基胆固醇分别以25%和50%比例替换胆固醇后,所制备的LNP对人原代T淋巴细胞的mRNA递送效率分别提升了1.8和2.0倍,这是由于在LNP中引入7 α -羟基胆固醇增加了晚期内体的生成并减少了循环内体的存在。Hatit等^[29]深入研究了胆固醇类似物的立体化学结构对mRNA递送的影响,发现LNP含有20 α -羟基胆固醇、20 β -羟基胆固醇和两者的混合物(摩尔比2:1)时,LNP展示出不同的递送效率及不同的细胞亚型选择性。Radmand等^[30]使用两种正电性的胆固醇衍生物DC-胆固醇和GL67制备LNP,发现相比肝脏靶向,两者都展现出对肺部的趋向性。该研究还发现,正电性的胆固醇衍生物联合正电性的辅助脂质制备LNP,可实现mRNA的心脏递送和肺部干细胞递送。

1.4 PEG化脂质

PEG化脂质结构由亲水性PEG链和疏水性脂质链两个部分通过化学键偶联,通常分布在LNP表面。虽然PEG化脂质在LNP中的占比较低(美国FDA批准的LNP配方中PEG化脂质仅占约1.5 mol%),但是PEG化脂质对于LNP的构建非常重要。Lokugamage等^[31]发现,当制备的LNP中不含PEG化脂质时,LNP极其不稳定并且粒径大于200 nm。因此,PEG化脂质的引入可以有效控制LNP粒径、提升LNP稳定性并有效阻止LNP团聚^[13]。

更为重要的是,PEG化脂质可发挥“隐形”特性,减少LNP与体内蛋白质间的相互作用,有利于减缓体内单核巨噬细胞系统对LNP的清除,延长LNP在体内的循环时间,进而延长药物的半衰期。然而,PEG化脂质的“隐形”作用也阻碍了LNP与靶细胞间的相互作用,使靶细胞对LNP药物的摄取降低,从而影响mRNA递送效率^[32]。Ryals等^[33]在小鼠视网膜下注射包载mRNA的LNP,调整LNP中PEG化脂质占比(从5%到0.5%),发现眼部mRNA的表达量在PEG化脂质占比为0.5%时达到最高。但是,Lam等^[34]发现在非人类灵长类动物中,LNP中PEG化脂质占比对于mRNA递送效率的影响呈现出不一样的规律,

增加 PEG 化脂质的占比(从 1.6% 增加到 2.2%), LNP-mRNA 经静脉注射后在灵长类动物的肝脏中产生了更高的蛋白质表达量。

虽然 PEG 化脂质在 LNP 中发挥重要作用,但许多研究表明药物中的 PEG 会使得体内产生针对 PEG 的抗体,即抗 PEG 抗体。抗 PEG 抗体的产生将导致含 PEG 的药物在体内被快速清除,被称作“加速血液清除”现象,并且可能引起机体产生严重的免疫反应^[35]。针对 PEG 化脂质的免疫原性问题,研究者们尝试寻找 PEG 化脂质的替代材料用于制备 LNP。例如,Kang 等^[36]设计了一系列聚肌氨酸脂质材料,以聚肌氨酸脂质替代 PEG 化脂质用于 LNP 制备可保证 LNP 的安全性和有效性,且不会产生抗 PEG 抗体;Xiao 等^[37]设计并合成了一类高密度刷状聚合物脂质作为 PEG 化脂质的替代物,可有效减少抗 PEG 抗体与 LNP 的结合,改善 LNP 在血液循环中的药物代谢动力学特征,提升重复给药后的蛋白质表达能力,在蛋白质替代疗法和基因编辑中均优于传统 PEG 化脂质(DMG-PEG2000)。

2 脂质纳米粒的器官或组织靶向性

实现药物的靶向递送不仅能保证药物在目标部位发挥作用、增加药物疗效,还能减少其他部位的药物暴露及不良反应。配体受体特异性结合是一种常见的靶向策略,如 Rurik 等^[38]报道了一种抗体修饰 LNP 的策略,可在体内靶向 T 淋巴细胞进而原位产生 CAR-T 细胞。而且,通过改变 LNP 中所用脂质的化学结构也可调整 LNP 的器官或组织靶向性^[39-40]。值得一提的是,Cheng 等^[41]开发了一种普适性策略,即通过向传统四组分 LNP 体系中引入 SORT 脂质分子,实现 mRNA 在肝脏、肺部和脾脏的特异性递送。进一步的机制研究揭示,靶向调控的实现是基于 LNP 的 pK_a 及其表面蛋白冠的变化,从而改变了其与不同细胞受体的相互作用^[42]。Pan 等^[43]通过在 LNP 中添加硬脂酸实现了脾脏特异性的 mRNA 递送,并探索了其在肿瘤疫苗中的应用。此外,使用特殊的给药方式也是实现器官或组织靶向性的有效策略。以下将对 LNP 的器官或组织靶向性进行具体阐述。

2.1 肝脏靶向

纳米粒在进入血液循环后会与肝脏中多种

细胞发生相互作用,导致其在肝脏发生滞留和聚集^[44]。因此,LNP 经静脉给药后能够将负载的基因药物高效递送进入肝脏,实现肝脏靶向。例如,Onpattro 经静脉注射后在血液循环的过程中可吸附载脂蛋白 E,载脂蛋白 E 与肝实质细胞表面的脂蛋白受体结合并介导肝实质细胞对 LNP 的摄取,从而实现 LNP 的肝脏靶向^[45]。肝脏靶向的 LNP 可有效介导肝脏疾病的基因治疗。此外,由于肝脏能够分泌蛋白质进入血液循环中,基于肝脏靶向的 LNP 通过递送 mRNA 至肝细胞,使其表达并分泌治疗性蛋白,可实现对其他部位疾病的治疗^[46]。

通过多种策略可增强 LNP 的肝脏靶向性。例如,在 SORT 策略中,采用可电离脂质 DODAP 作为 SORT 组分,明显增强 LNP 的肝脏靶向性。研究表明,在肝脏靶向的 LNP 中添加 20% 的 DODAP 可提升肝脏中 mRNA 表达水平数倍^[41]。此外,Paunovska 等^[47]在 LNP 中加入氧化胆固醇,能明显增强 mRNA 在肝脏非肝实质细胞中的递送效率。

2.2 肺靶向

肺作为呼吸系统的关键器官,负责机体与外界的气体交换,使得氧气能够成功进入体内以保证机体各生理功能的完成,因此肺疾病对机体可产生严重后果。若能调控 LNP 将 mRNA 治疗药物选择性递送至肺,进而介导肺疾病的基因治疗,具有重要价值。研究者们开发了多种具有特异性肺靶向的 LNP 递送系统,如基于 SORT 技术,在经典四组分 LNP 体系中引入永久性阳离子脂质(如 DOTAP),以实现 LNP 递送系统从肝脏靶向向肺靶向的转变^[41]。此外,研究人员设计了一种三组分 LNP 体系构筑策略,即剔除掉胆固醇组分,仅使用可电离脂质、永久性阳离子脂质和 PEG 化脂质构建 LNP,不仅维持了 LNP 的稳定性,还实现了 mRNA 在肺中的特异性分布和高效表达,为真正意义上的肺靶向递送提供了新策略^[27]。值得注意的是,这一设计理念可普适性地拓展至其他 LNP 递送系统。

对脂质结构进行调整同样可实现 LNP 的肺靶向。Qiu 等^[48-49]合成了两类可电离脂质,分别为含有酰胺键的 *N*-系列脂质和含有酯键的 *O*-系列脂质,其中基于 *O*-系列可电离脂质构建的 LNP 能够靶向递送 mRNA 至肝脏,而基于 *N*-系列脂质构

建的LNP能够将mRNA特异性递送至肺,并成功用于肺肿瘤治疗。此外,Chen等^[50]设计开发了一系列冠状可电离脂质,该脂质与胆固醇、DOPE、PEG化脂质配伍构建的LNP体系可实现肝脏mRNA递送。但是,当这些冠状脂质与特定金属离子配位后,LNP的靶向特性发生明显改变,可实现肺部特异性靶向递送mRNA。值得注意的是,通过选用功能性金属离子(如钆离子),该体系还可用于成像和诊断。

2.3 脾靶向

脾脏是重要的免疫器官,靶向脾脏的LNP对于免疫治疗具有重要的意义,有助于多种疾病(如感染、癌症、炎症等疾病)的治疗^[51-52]。Zhao等^[53]发现含有咪唑基团的脂质能够实现LNP的mRNA脾脏递送和T淋巴细胞高效转染。Dong等^[54]合成了792种含有芳香基团和咪唑基团的可电离脂质并制备LNP,通过高通量筛选优选出了可同时实现脾脏部位mRNA高表达和脾脏细胞高转染效率的LNP,极大地提高了LNP在脾脏相关疾病中的应用潜力。Wang等^[55]开发了一种非阳离子硫脲脂质联合胆固醇制备LNP的方法,其mRNA的包封机制不依赖于传统的静电相互作用,而是利用硫脲基团与mRNA磷酸基团间的强氢键作用。这种非阳离子LNP能够实现mRNA的脾脏靶向递送,且在有效剂量范围内未诱发体内明显的炎症反应或毒性反应,展现出良好的生物安全性。

2.4 其他器官或组织靶向

LNP除了能够靶向肝脏、肺和脾脏外,还可以实现对体内其他器官或组织的靶向mRNA递送。例如,Melamed等^[56]研究发现,通过腹腔注射LNP-mRNA可明显增强小鼠胰腺部位的mRNA表达,当加入DOTAP辅助脂质时,LNP能特异性递送多种mRNA至胰腺并成功表达相应的蛋白质,其中转染细胞主要为胰岛 β 细胞。Lian等^[57]通过SORT技术实现了LNP的骨髓靶向性,将mRNA有效递送至小鼠骨髓中的多种细胞,包括造血干细胞、祖细胞、B淋巴细胞、T淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞和内皮细胞等。Kim等^[58]成功开发出能够将mRNA递送至灵长类动物恒河猴骨髓中造血干细胞的四组分LNP。Swingle等^[59]通过合成新型可电离脂质,成功构建了具有胎盘靶向能力的LNP递送系统,实现向怀

孕小鼠的胎盘递送mRNA。

3 脂质纳米粒递送信使RNA应用于生物医学展望

LNP在mRNA药物递送领域展现出巨大的优势,既能有效解决mRNA难以入胞和易被酶解等难题,又可实现精准的mRNA靶向递送。因此,LNP-mRNA系统在生物医学领域应用前景广阔,正应用于疫苗开发、蛋白质替代疗法、基因编辑、免疫治疗及细胞治疗等多个方面。LNP通过递送编码正常蛋白质的mRNA,补偿细胞内缺失或功能缺陷的蛋白质,恢复细胞生理功能;递送基因编辑组件,实现对细胞内异常基因的编辑;递送mRNA至细胞内,使其表达CAR等蛋白,生成具有疾病治疗能力的工程化细胞,实现免疫治疗或细胞治疗^[60]。

目前,已有五款使用LNP的基因药物被美国FDA批准上市,分别是Onpattro、mRNA-1273、BNT162b2、mRNA-1345和mRNA-1283,其中Onpattro是siRNA药物,其余四种均为mRNA药物。还有大量基于LNP递送系统的药物正处于临床试验或临床前研究阶段,广泛用于多种疾病的治疗。例如,一款用于艾滋病治疗的LNP-mRNA疫苗在非人类灵长类动物中产生中和抗体持续41周^[61],而另一款LNP-mRNA艾滋病疫苗在临床试验中证实可在成人體內成功诱发特异性免疫反应^[62]。Swingle等^[59]开发了能够靶向胎盘的LNP,将治疗性mRNA递送至怀孕小鼠的胎盘中用于治疗先兆子痫,结果表明该LNP-mRNA递送系统可明显改善母鼠的先兆子痫并提高胎鼠的健康水平。Álvarez-Benedicto等^[63]使用靶向脾脏的SORT LNP递送CAR mRNA,在小鼠体内产生CAR-T细胞用于淋巴瘤治疗。

总之,LNP作为一种优异的mRNA递送平台,为mRNA药物的成功应用提供了条件,极大地推动了mRNA药物的发展。在传统的四组分(可电离脂质、两性磷脂、胆固醇和PEG化脂质)LNP的基础上,研究者还开发出五脂质组分、三脂质组分甚至是单脂质组分的LNP递送系统,成功用于mRNA等核酸分子的递送。同时,大量具有新型化学结构的可电离脂质、两性磷脂、胆固醇类似物及PEG化脂质已成功合成,为LNP的临床应用提供了许多新的可能性,如实现了肝脏、

肺、脾脏、胎盘、骨髓等器官或组织甚至是某些特定细胞的特异性 mRNA 递送,在多种疾病(病毒感染、肿瘤等重大疾病)的治疗中展示出良好的效果。

然而,LNP 技术目前仍面临关键挑战,如 LNP 中的脂质组分可能具有免疫原性,进而引发机体的免疫反应,产生一定的安全隐患;肝外组织的靶向递送效率仍然偏低。未来 LNP 递送系统性能的提升应聚焦以下方面:第一,进一步提升 LNP 对 mRNA 的递送效率,产生更高的蛋白质表达量;第二,进一步提升 LNP 的递送精准性,不仅要实现器官或组织靶向性,而且还要实现对靶器官或组织中特定靶细胞的精准递送;第三,进一步提升 LNP 的安全性,降低体内免疫反应及细胞毒性,为多次给药奠定基础。综上,基于 LNP 的 mRNA 递送系统现已取得了可喜的进展,但仍有很大发展空间,今后需要进一步探索。

本文附加文件见电子版。



志谢 研究得到国家自然科学基金(32471375,22205201)和浙江省自然科学基金(LZ23H180003)支持

Acknowledgements This work was supported by National Natural Science Foundation of China (32471375, 22205201), and Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LZ23H180003)

作者贡献 何顺和刘帅参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释,起草研究论文或修改重要智力性内容。所有作者均已阅读并认可最终稿件,并对数据的完整性和安全性负责。具体见电子版

Author Contribution HE Shun and LIU Shuai participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究未生成任何新数据集,所有分析数据均已公开,并已在文中明确标引

Data Availability This study did not generate any new datasets, all data analyzed are publicly available, and have been properly cited

医学伦理 研究不涉及人体或动物实验

Ethical Approval This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [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] PARHIZ H, ATOCHINA-VASSERMAN E N, WEISSMAN D. mRNA-based therapeutics: looking beyond COVID-19 vaccines[J]. **Lancet**, 2024, 403(10432): 1192-1204.
- [3] 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.
- [4] 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]. **Mol Ther**, 2008, 16(11): 1833-1840.
- [5] ZHANG Y, ZHANG X, GAO Y, et al. Principles of lipid nanoparticle design for mRNA delivery[J/OL]. **BMEMat**, 2025, 3(1): e12116.
- [6] YU M, LIN L, ZHOU D, et al. Interaction design in mRNA delivery systems[J]. **J Control Release**, 2025, 377: 413-426.
- [7] TEO S P. Review of COVID-19 mRNA vaccines: bnt162b2 and mRNA-1273[J]. **J Pharm Pract**, 2022, 35(6): 947-951.
- [8] TERSTAPPEN J, HAK S F, BHAN A, et al. The respiratory syncytial virus vaccine and monoclonal antibody landscape: the road to global access[J/OL]. **Lancet Infect Dis**, 2024, 24(12): e747-e761.
- [9] HOU X, ZAKS T, LANGER R, et al. Lipid nanoparticles for mRNA delivery[J]. **Nat Rev Mater**, 2021, 6(12): 1078-1094.
- [10] ZONG Y, LIN Y, WEI T, et al. Lipid nanoparticle (LNP) enables mRNA delivery for cancer therapy[J/OL]. **Adv Mater**, 2023, 35(51): e2303261.
- [11] HOY S M. Patisiran: first global approval[J]. **Drugs**, 2018, 78(15): 1625-1631.
- [12] SHAW C A, ESSINK B, HARPER C, et al. Safety and immunogenicity of an mRNA-based RSV vaccine including a 12-month booster in a phase 1 clinical trial

- in healthy older adults[J/OL]. **J Infect Dis**, 2024, 230(3): e647-e656.
- [13] HALD ALBERTSEN C, KULKARNI J A, WITZIGMANN D, et al. The role of lipid components in lipid nanoparticles for vaccines and gene therapy[J]. **Adv Drug Deliv Rev**, 2022, 188: 114416.
 - [14] BAILEY A L, CULLIS P R. Modulation of membrane fusion by asymmetric transbilayer distributions of amino lipids[J]. **Biochemistry**, 1994, 33(42): 12573-12580.
 - [15] HAN X, ALAMEH M G, XU Y, et al. Optimization of the activity and biodegradability of ionizable lipids for mRNA delivery *via* directed chemical evolution[J]. **Nat Biomed Eng**, 2024, 8(11): 1412-1424.
 - [16] 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.
 - [17] HAN X, XU J, XU Y, et al. *In situ* combinatorial synthesis of degradable branched lipidoids for systemic delivery of mRNA therapeutics and gene editors[J]. **Nat Commun**, 2024, 15(1): 1762.
 - [18] HAN X, GONG N, XUE L, et al. Ligand-tethered lipid nanoparticles for targeted RNA delivery to treat liver fibrosis[J]. **Nat Commun**, 2023, 14(1): 75.
 - [19] HAN X, ALAMEH M G, BUTOWSKA K, et al. Adjuvant lipidoid-substituted lipid nanoparticles augment the immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA vaccines[J]. **Nat Nanotechnol**, 2023, 18(9): 1105-1114.
 - [20] HAN X, ZHANG H, BUTOWSKA K, et al. An ionizable lipid toolbox for RNA delivery[J]. **Nat Commun**, 2021, 12(1): 7233.
 - [21] HE S, LIU S. Zwitterionic materials for nucleic acid delivery and therapeutic applications[J]. **J Control Release**, 2024, 365: 919-935.
 - [22] ÁLVAREZ-BENEDICTO E, FARBIK L, RAMÍREZ M M, et al. Optimization of phospholipid chemistry for improved lipid nanoparticle (LNP) delivery of messenger RNA (mRNA)[J]. **Biomater Sci**, 2022, 10(2): 549-559.
 - [23] ZHANG R, EL-MAYTA R, MURDOCH T J, et al. Helper lipid structure influences protein adsorption and delivery of lipid nanoparticles to spleen and liver[J]. **Biomater Sci**, 2021, 9(4): 1449-1463.
 - [24] GAN Z, LOKUGAMAGE M P, HATIT M Z C, et al. Nanoparticles containing constrained phospholipids deliver mRNA to liver immune cells *in vivo* without targeting ligands[J/OL]. **Bioeng Transl Med**, 2020, 5(3): e10161.
 - [25] LIU S, CHENG Q, WEI T, et al. Membrane-destabilizing ionizable phospholipids for organ-selective mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing[J]. **Nat Mater**, 2021, 20(5): 701-710.
 - [26] KAWAGUCHI M, NODA M, ONO A, et al. Effect of cholesterol content of lipid composition in mRNA-LNPs on the protein expression in the injected site and liver after local administration in mice[J]. **J Pharm Sci**, 2023, 112(5): 1401-1410.
 - [27] SU K, SHI L, SHENG T, et al. Reformulating lipid nanoparticles for organ-targeted mRNA accumulation and translation[J]. **Nat Commun**, 2024, 15(1): 5659.
 - [28] PATEL S K, BILLINGSLEY M M, FRAZEE C, et al. Hydroxycholesterol substitution in ionizable lipid nanoparticles for mRNA delivery to T cells[J]. **J Control Release**, 2022, 347: 521-532.
 - [29] HATIT M Z C, DOBROWOLSKI C N, LOKUGAMAGE M P, et al. Nanoparticle stereochemistry-dependent endocytic processing improves *in vivo* mRNA delivery[J]. **Nat Chem**, 2023, 15(4): 508-515.
 - [30] RADMAND A, KIM H, BEYERSDORF J, et al. Cationic cholesterol-dependent LNP delivery to lung stem cells, the liver, and heart[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2024, 121(11): e2307801120.
 - [31] 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.
 - [32] SABER N, SENTI M E, SCHIFFELERS R M. Lipid nanoparticles for nucleic acid delivery beyond the liver[J]. **Hum Gene Ther**, 2024, 35(17-18): 617-627.
 - [33] RYALS R C, PATEL S, ACOSTA C, et al. The effects of PEGylation on LNP based mRNA delivery to the eye[J/OL]. **PLoS One**, 2020, 15(10): e0241006.
 - [34] LAM K, SCHREINER P, LEUNG A, et al. Optimizing lipid nanoparticles for delivery in primates[J/OL]. **Adv Mater**, 2023, 35(26): e2211420.
 - [35] SHI D, BEASOCK D, FESSLER A, et al. To PEGylate or not to PEGylate: immunological properties of nanomedicine's most popular component, polyethylene glycol and its alternatives[J]. **Adv Drug Deliv Rev**, 2022, 180: 114079.
 - [36] KANG D D, HOU X, WANG L, et al. Engineering LNPs with polysarcosine lipids for mRNA delivery[J]. **Bioact Mater**, 2024, 37: 86-93.
 - [37] XIAO Y, LIAN X, SUN Y, et al. High-density brush-shaped polymer lipids reduce anti-PEG antibody binding for repeated administration of mRNA therapeutics[J]. **Nat Mater**, 2025. DOI: 10.1038/s41563-024-02116-3.
 - [38] RURIK J G, TOMBÁČZ I, YADEGARI A, et al. CAR T cells produced *in vivo* to treat cardiac injury[J]. **Science**, 2022, 375(6576): 91-96.
 - [39] LIN L, SU K, CHENG Q, et al. Targeting materials and strategies for RNA delivery[J]. **Theranostics**, 2023, 13(13): 4667-4693.
 - [40] LIN L, SU K, ZHANG X, et al. A versatile strategy to transform cationic polymers for efficient and organ-selective mRNA delivery[J/OL]. **Angew Chem Int Ed**, 2025, 64(17): e202500306.
 - [41] CHENG Q, WEI T, FARBIK L, et al. Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue-specific mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing[J]. **Nat**

- Nanotechnol**, 2020, 15(4): 313-320.
- [42] DILLIARD S A, CHENG Q, SIEGWART D J. On the mechanism of tissue-specific mRNA delivery by selective organ targeting nanoparticles[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2021, 118(52): e2109256118.
- [43] PAN L, ZHANG L, DENG W, et al. Spleen-selective co-delivery of mRNA and TLR4 agonist-loaded LNPs for synergistic immunostimulation and Th1 immune responses[J]. **J Control Release**, 2023, 357: 133-148.
- [44] LI J, CHEN C, XIA T. Understanding nanomaterial-liver interactions to facilitate the development of safer nanoapplications[J/OL]. **Adv Mater**, 2022, 34(11): e2106456.
- [45] AKINC A, MAIER M A, MANOHARAN M, et al. The Onpattro story and the clinical translation of nano-medicines containing nucleic acid-based drugs[J]. **Nat Nanotechnol**, 2019, 14(12): 1084-1087.
- [46] DILLIARD S A, SIEGWART D J. Passive, active and endogenous organ-targeted lipid and polymer nanoparticles for delivery of genetic drugs[J]. **Nat Rev Mater**, 2023, 8(4): 282-300.
- [47] PAUNOVSKA K, DA SILVA SANCHEZ A J, SAGO C D, et al. Nanoparticles containing oxidized cholesterol deliver mRNA to the liver microenvironment at clinically relevant doses[J/OL]. **Adv Mater**, 2019, 31(14): e1807748.
- [48] 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/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2021, 118(10): e2020401118.
- [49] QIU M, TANG Y, CHEN J, et al. Lung-selective mRNA delivery of synthetic lipid nanoparticles for the treatment of pulmonary lymphangioleiomyomatosis[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2022, 119(8): e2116271119.
- [50] CHEN Z, YANG Y, QIU X, et al. Crown-like biodegradable lipids enable lung-selective mRNA delivery and dual-modal tumor imaging *in vivo*[J]. **J Am Chem Soc**, 2024, 146(49): 34209-34220.
- [51] ZHANG X, SU K, WU S, et al. One-component cationic lipids for systemic mRNA delivery to splenic T cells[J/OL]. **Angew Chem Int Ed**, 2024, 63(26): e202405444.
- [52] WEI P S, THOTA N, JOHN G, et al. Enhancing RNA-lipid nanoparticle delivery: organ- and cell-specificity and barcoding strategies[J]. **J Control Release**, 2024, 375: 366-388.
- [53] 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.
- [54] DONG W, LI Z, HOU T, et al. Multicomponent synthesis of imidazole-based ionizable lipids for highly efficient and spleen-selective messenger RNA delivery[J]. **J Am Chem Soc**, 2024, 146(22): 15085-15095.
- [55] WANG C, ZHAO C, WANG W, et al. Biomimetic non-cationic lipid nanoparticles for mRNA delivery[J/OL]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2023, 120(51): e2311276120.
- [56] MELAMED J R, YERNENI S S, ARRALL M L, et al. Ionizable lipid nanoparticles deliver mRNA to pancreatic β cells *via* macrophage-mediated gene transfer[J]. **Sci Adv**, 2023, 9(4): eade1444.
- [57] LIAN X, CHATTERJEE S, SUN Y, et al. Bone-marrow-homing lipid nanoparticles for genome editing in diseased and malignant haematopoietic stem cells[J]. **Nat Nanotechnol**, 2024, 19(9): 1409-1417.
- [58] KIM H, ZENHAUSERN R, GENTRY K, et al. Lipid nanoparticle-mediated mRNA delivery to CD34⁺ cells in *Rhesus* monkeys[J]. **Nat Biotechnol**, 2024. DOI: 10.1038/s41587-024-02470-2.
- [59] SWINGLE K L, HAMILTON A G, SAFFORD H C, et al. Placenta-tropic VEGF mRNA lipid nanoparticles ameliorate murine pre-eclampsia[J]. **Nature**, 2025, 637(8045): 412-421.
- [60] MENDES B B, CONNIOT J, AVITAL A, et al. Nano-delivery of nucleic acids[J]. **Nat Rev Methods Primers**, 2022, 2: 24.
- [61] SAUNDERS K O, PARDI N, PARKS R, et al. Lipid nanoparticle encapsulated nucleoside-modified mRNA vaccines elicit polyfunctional HIV-1 antibodies comparable to proteins in nonhuman Primates[J]. **NPJ Vaccines**, 2021, 6(1): 50.
- [62] LEGGAT D J, COHEN K W, WILLIS J R, et al. Vaccination induces HIV broadly neutralizing antibody precursors in humans[J]. **Science**, 2022, 378(6623): eadd6502.
- [63] ÁLVAREZ-BENEDICTO E, TIAN Z, CHATTERJEE S, et al. Spleen SORT LNP generated *in situ* CAR T cells extend survival in a mouse model of lymphoreplete B cell lymphoma[J/OL]. **Angew Chem Int Ed**, 2023, 62(44): e202310395.

[本文编辑 余 方 沈 洁]