

# 纳米材料在基因治疗中的研究进展： 从肿瘤治疗到新冠病毒疫苗\*

许慧敏 常建桥 李运超 李晓宏 谢文菁 张 洋 范楼珍†

(北京师范大学化学学院,放射性药物教育部重点实验室和理论及计算光化学教育部重点实验室,100875,北京)

**摘要** 基因治疗作为一种精准有效的策略,可用于治疗包括癌症在内的多种疾病以及预防病毒性感染疾病。然而,基因治疗中使用的核酸药物自身不稳定性和大尺寸阻碍了它们的广泛应用。纳米材料因其免疫原性低、可控性好、易于进行表面修饰等特点,已被证明是基因治疗中最有前途的载体之一。特别是新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情爆发以来,与传统疫苗不同的 mRNA 疫苗备受关注,而脂质纳米颗粒(LNP)作为该疫苗的递送系统发挥了至关重要的作用,展现了纳米材料巨大的应用前景。本文概述了基因治疗的主要类型;介绍了基于脂质的纳米颗粒、基于聚合物的纳米颗粒、无机纳米颗粒及新型纳米材料如碳点等核酸递送平台;强调了其在肿瘤治疗和 COVID-19 核酸疫苗中的最新研究进展;提出了纳米材料用于基因治疗的挑战与前景。

**关键词** 基因治疗; 纳米材料; 肿瘤治疗; 新冠疫苗; 核酸递送

**中图分类号** O646

**DOI:** 10.12202/j.0476-0301.2022093

## 0 引言

基因治疗是指将基因导入目标病理组织或细胞,通过内源性基因来调控抗病蛋白或抗体的产生,从而治愈或预防相关疾病的治疗方法<sup>[1-3]</sup>。广义上来讲,凡是采用分子生物学的方法和原理在核酸水平上开展的疾病预防和治疗的方法都可称为基因治疗。基因治疗中使用的核酸药物包括质粒 DNA(pDNA)、信使 RNA(mRNA)、微小 RNA(miRNA)和小干扰 RNA(siRNA)等。这些核酸药物能够以化学药物和抗体药物无法靶向的分子作为靶点进行治疗,有望为传统药物疗效不佳的疾病如遗传性疾病、癌症以及某些病毒感染性疾病等的治疗带来突破性进展<sup>[4-5]</sup>。

癌症是一种基因型疾病,肿瘤细胞与正常细胞的不同之处在于其遗传信息的改变。大多数癌症是由正向调节的原癌基因或负向调节的抑癌基因突变引起的<sup>[6]</sup>。当基因的结构或调控区发生变异时,原癌基因增多或活性增强,同时抑癌基因功能丧失,细胞便会过度增殖从而形成肿瘤。这为开发肿瘤基因特异性治疗提供了基本原理。肿瘤基因治疗可以通过引入外源基因(DNA或RNA)诱导基因过表达或沉默。相对于传统肿瘤治疗,肿瘤基因治疗具有副作用小、

治疗时间减少、有机会更好提高患者的生活品质的优势。

COVID-19 的迅速蔓延已对整个世界产生了难以估量的冲击,目前尚未研制出特效的治疗药物,只有寄希望于成功开发出有效疫苗。刺突蛋白是新冠病毒用来入侵人类细胞的蛋白质,因此,如果免疫系统能够被“教会”如何识别刺突蛋白,那么刺突蛋白就可以触发免疫反应,抵御外来的 COVID-19 感染。mRNA 疫苗是一种核酸疫苗,通过携带病毒刺突蛋白的遗传信息进入人体细胞,诱导产生该蛋白,从而激发人体特异性免疫反应,保护人体避免感染。相比于传统灭活/减毒疫苗,mRNA 疫苗制造简单、可重复性好、安全性高。

虽然核酸药物潜力十足,但由于其尺寸大,带负电荷无法进入细胞发挥作用且容易被核酸酶降解,肾脏清除速度快等弊端始终“横亘”在科研及临床应用面前,因而发展一种保护核酸进入细胞的递送技术成为基因治疗的关键环节<sup>[7-9]</sup>。基因递送早期的主要策略是以基因工程改造后的病毒作为载体。迄今为止,大约 70% 的基因治疗临床试验使用病毒作为载体<sup>[10-13]</sup>。尽管病毒载体具有很高的转染能力,但一直存在致癌、免疫原性高和潜在的病毒重组等安全问题<sup>[14-15]</sup>。因此,开发安全、高效和可控的基因递送载体仍然是

\* 国家自然科学基金资助项目(21872010)

† 通信作者: 范楼珍(1964—),女,博士,教授,博士生导师。研究方向: 荧光碳纳米材料。E-mail: lzfan@bnu.edu.cn

收稿日期: 2022-04-22

基因治疗临床应用的瓶颈问题。

纳米材料由于具有尺寸较小、制备简单、易于合成并易于多功能修饰等多种优势,可以最大限度地弥补病毒载体的缺陷,是构建基因载体的理想材料<sup>[16-17]</sup>。随着各种基因治疗药物的上市,基于纳米材料的递送平台正在弥合核酸药物分子和医学应用之间的差距。尤其是使用微流控技术产生的脂质纳米颗粒(LNP),是美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)唯一批准上市的 mRNA 递送技术<sup>[18-19]</sup>,并且已经在世界各地注射上亿剂的 COVID-19 mRNA 疫苗中采用,其技术的安全性和有效性已在席卷全球的新冠肺炎疫情中得到验证,体现了纳米材料在基因治疗中的非凡潜力<sup>[20]</sup>。

本文概述了基因治疗的主要类型;介绍了基于脂质的纳米颗粒、基于聚合物的纳米颗粒、无机纳米颗粒及新型纳米材料如碳点等核酸递送平台的结构和性质关系,重点强调了其在肿瘤治疗和针对 COVID-19 的预防性疫苗中的最新应用进展。最后提出了纳米材料在基因治疗中的前景与挑战。

## 1 基因治疗类型

对于任何生物而言,生命的功能离不开蛋白质。每种蛋白质承载不同的生物功能,而基因则是控制蛋白质合成的根本,利用基因来预防或治疗疾病的方式即为基因治疗。相比传统化疗和放疗手段,基因治疗可在基因水平发挥作用,具有特异性和安全性的独特优势。基因疗法于 1990 年初进入临床试验阶段。迄今为止,全球已有约 17 种核酸产品获批,已完成、正在进行或已获批的临床试验近 2700 项。根据最终目标,基因治疗可用于基因增强、基因沉默或基因编辑。不同的核酸如 DNA、mRNA、siRNA、miRNA 等已被广泛用于新医药产品的研发,图 1 显示了不同的核酸分子在细胞内具有的不同基因治疗机制。

**1.1 基因增强** 基因增强是指将正常功能的基因转移到有基因缺陷或基因丢失的细胞中以表达正常蛋白质,从而弥补缺陷基因的功能。用于基因增强的核酸药物有 pDNA 及 mRNA。pDNA 的作用部位主要在细胞核内,即 DNA 必须穿过核膜才可以进行转录并翻译成对应的蛋白质。与 DNA 相比,mRNA 的独特性使其成为优于 pDNA 的潜在药物。首先,mRNA 仅需要进入细胞质即可发挥作用,从而简化了递送途径<sup>[21-22]</sup>。其次,与质粒 DNA 不同,mRNA 不会整合到宿主基因组中,从而使得与 DNA 相关的致癌和诱变风险显著降低,具有更好的安全性<sup>[23-25]</sup>。mRNA 负责将遗传密码翻译成具有功能的蛋白,因此通过编码

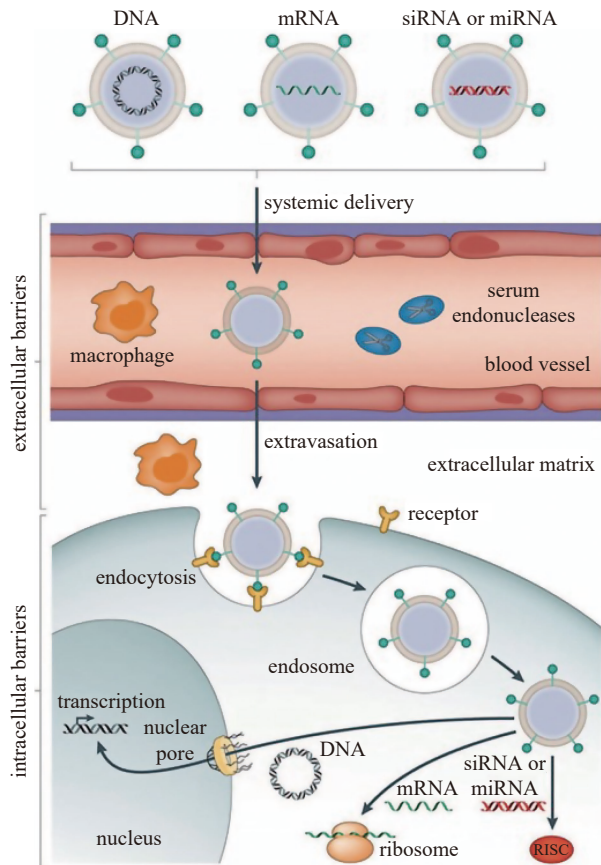


图 1 基于核酸药物的基因治疗原理示意<sup>[17]</sup>

mRNA 使其携带正确的基因信息,就可以让细胞产生机体所需的抗病蛋白或是抗体。自 1989 年使用体外转录 mRNA 作为治疗剂的概念兴起以来,在复杂的递送技术的帮助下,已经迅速开发了 22 种基于 mRNA 的癌症疗法和传染病疫苗。目前,有众多 mRNA 候选药物都处于临床试验阶段,最引人注目的是,莫德纳的 mRNA-1273 获得了第一批针对 COVID-19 的 mRNA 疫苗的临床批准。

**1.2 基因沉默** 基因沉默是一种旨在减少或消除相应基因产生蛋白质的技术。miRNA 和 siRNA 介导的基因沉默被认为是近年来生命科学领域中最重要进步之一<sup>[26-27]</sup>。siRNA 是哺乳动物细胞的外源性 RNA,它是一种双链 RNA;而 miRNA 是内源性的(自然存在于细胞内)非编码 RNA。miRNA 通常通过与多个 mRNA 靶点的不完全碱基配对进行结合,从而导致 mRNA 分子的抑制或降解。而 siRNA 与其 mRNA 靶标分子是完全匹配的,使得 mRNA 水平降低从而直接阻断蛋白质的表达<sup>[28]</sup>。siRNA 的作用通常仅限于单个基因,可以高效和特异地沉默几乎任何基因的表达,包括那些传统上被认为无法成药的靶标。因此,研究人员更常直接使用合成的约 20 bp siRNA 作为基因沉默和研究基因序列的强大工具,使其在治疗癌症和其他疾病领域发挥着重要作用<sup>[29-31]</sup>。

**1.3 基因编辑** 基因编辑技术是对生物体 DNA 断裂的现象及其修复机制的应用<sup>[32]</sup>. 分子剪刀和基因编辑技术, 如锌指核酸酶(ZFN)、转录激活因子样效应核酸酶(TALEN)<sup>[32]</sup>和成簇的规律间隔短回文重复序列(CRISPR)相关的核酸酶 Cas9(CRISPR/Cas9)<sup>[33-36]</sup>, 已被成功应用于基因编辑研究中. 其中, 基于 CRISPR/Cas9 基因编辑系统的治疗已成为癌症免疫治疗的一个重要分支, 可通过直接攻击癌细胞中的关键基因实现杀伤癌细胞的功能, 也可用于编辑免疫细胞, 通过免疫细胞攻击癌细胞.

然而, 所有核酸分子的共同特点是带有强负电荷、较高亲水性和相对较大的尺寸, 其中 siRNA 和 miRNA 的相对分子质量约为  $10^4$ , pDNA 的相对分子质量为  $10^6 \sim 10^8$ . 它们不能轻易地穿过细胞膜和组织间隙, 并且很容易被免疫系统识别并清除. 此外, 它们对核酸酶敏感易被降解导致了半衰期缩短. 据估计, 小鼠静脉注射后 pDNA 的半衰期为 10 min<sup>[7]</sup>. 即使在成功进入细胞后, 它们仍必须克服其他细胞内障碍, 比如在溶酶体逃逸过程中被降解. 表 1 总结了它们的特性和递送挑战.

表 1 核酸药物类型、特性和递送挑战

核酸药物	基因治疗类型	作用方式	化学性质	特征及递送挑战
pDNA	基因增强	在细胞核中转录为 mRNA	双链; 环形; 大小不同 ( $10^3 \sim 10^5$ bp)	尺寸大; 溶酶体逃逸; 需进入核; 脱靶免疫刺激
mRNA	基因增强	翻译成细胞质中的蛋白质	单链; 线性; $10^2 \sim 10^4$ bp	溶酶体逃逸; 释放至细胞质; 对 RNA 酶高度敏感(内体中的 ssRNA)
siRNA	基因沉默	细胞质中的 RNAi 通路	双链; 线性; $\approx 20$ bp	溶酶体逃逸; 释放至细胞质; 对 RNA 酶敏感; 脱靶免疫刺激
miRNA	基因沉默	细胞质中的 RNAi 通路	双链; 线性; $\approx 20$ bp	溶酶体逃逸; 释放至细胞质; 对 RNA 酶敏感; 脱靶免疫刺激; 非特异性基因反应
向导 RNA (guide RNA, gRNA)	基因编辑	识别 CRISPR 的靶点序列	60 ~ 80 个核苷酸	靶向切割效率低

## 2 基因递送系统

尽管在开发基于基因的治疗策略方面取得了长足的进步, 但核酸药物需要借助递送载体以克服宿主生理系统构成的重重障碍, 因此建立有效和安全的基因递送系统仍然是基因治疗领域的主要挑战. 基因递送系统中使用的基因治疗载体可分为 2 类: 病毒载体和非病毒载体.

**2.1 病毒载体** 病毒含有能够被宿主细胞受体识别的表面蛋白, 具有递送核酸的天然能力. 使用病毒作为基因递送载体, 是指利用基因工程技术进行改造后的病毒通过感染细胞将外源基因带入靶细胞. 临床上用于体内基因治疗的主要病毒载体类型有腺病毒、腺相关病毒和逆转录病毒等. 应用最多的是腺病毒, 裸单链 DNA 腺病毒具有 7.5 kb 外源 DNA 的包装能力, 可在相对广泛的宿主细胞中实现目的基因的转染和表达. 基于腺病毒载体的基因疗法主要用于治疗癌症和针对传染病的疫苗接种.

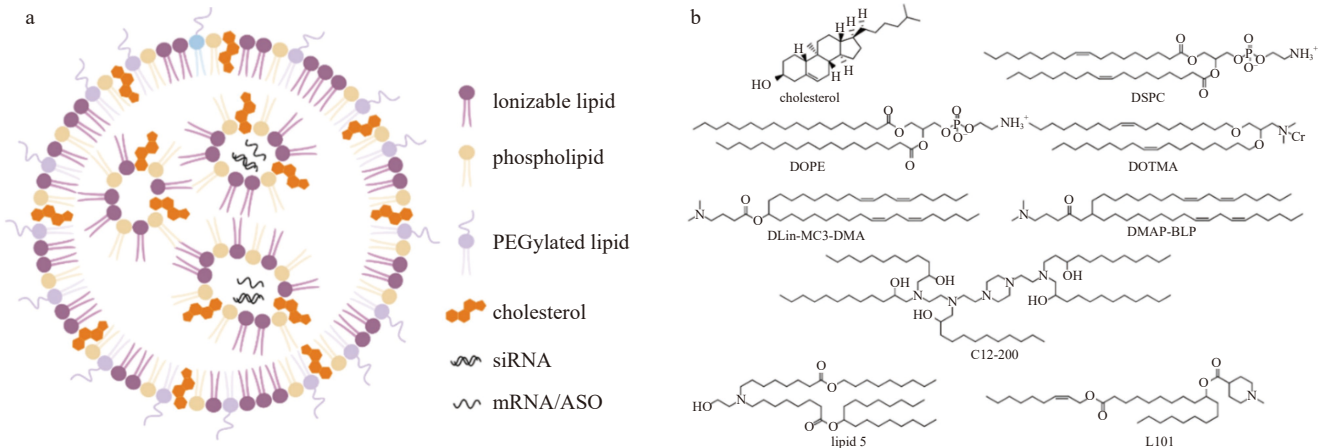
尽管病毒载体在基因转染方面具有非凡的能力, 但其安全性一直是令人担忧的问题, 如致癌作用、免疫原性、突变等<sup>[37]</sup>. 1999 年, 在一项通过静脉注射相对高剂量的病毒进行鸟氨酸转氨酶基因治疗试验中, 受试者在治疗后出现严重并发症, 腺病毒载体更是直接导致患者死亡, 这引起了人们对病毒载体用

于其他应用的安全性的担忧<sup>[15]</sup>. 此外, 腺相关病毒和慢病毒载体等病毒载体存在载量有限和大规模合成困难等问题, 限制了它们的临床应用<sup>[38-39]</sup>. 因此, 开发安全、高效和可控的基因递送载体仍然是基因治疗临床应用的瓶颈问题.

**2.2 非病毒载体** 纳米技术领域的最新进展表明, 纳米颗粒凭借其优越的物理化学、生物学和药理学特性, 能够克服递送核酸分子的各种障碍, 是一种有效的非病毒载体基因递送策略. 此外, 纳米药物递送系统具有改善药物药动学性质、实现定点释药并具有特异性靶向肿瘤的潜在能力, 有助于获得更优的递送效果和抗肿瘤效果, 具有潜在临床应用前景. 纳米载体的基因递送机制大致可以分为 4 步: 1) 纳米颗粒负载核酸药物形成复合物; 2) 复合物进入细胞; 3) 复合物的逃逸; 4) 核酸药物的释放. 基因治疗中广泛使用的纳米载体包括基于脂质的纳米颗粒、聚合物纳米颗粒、无机纳米颗粒和新型纳米材料如碳点等.

**2.2.1 基于脂质的纳米颗粒** 脂质体(liposome)最早于 1961 年由科学家 Bangham 和 Horne 发现<sup>[40]</sup>. 脂质体是由脂质分子组成的囊泡结构, 其脂质双分子层形成疏水外壳和内部水相空腔, 兼具亲水和疏水特性. 脂质体包括阳性、中性和阴性脂质体, 其中阳性脂质体通常被用作递送载体, 它可通过静电吸附与核酸中

带负电荷的磷酸基团相互作用形成纳米颗粒,从而保护核酸药物免遭降解,促进细胞内化.二油酰磷脂乙醇胺(DOPE)是最常用的中性脂质,由于其在溶酶体的酸性体条件下具有去膜稳定作用和分解脂质复合物的能力<sup>[41]</sup>,可大幅提高阳离子脂质体转染细胞的效率.根据体内外应用情况以及转染细胞的类型,可改变阳离子脂质体中的脂质组分以达到最优的转染效果.脂质体纳米材料通常易于制造,兼具有相对较长的血液循环时间和低全身毒性,是药物递送的理想载体.



a. 封装核酸药物的 LNP 的结构; b. 用于核酸递送的 LNP 的阳离子和中性脂质的化学结构.

图 2 用于核酸递送的 LNP 的组成<sup>[43]</sup>

基于脂质的纳米颗粒尽管已具有广泛的应用,但仍存在封装效率低、在肝脏和脾脏中的高度积累导致的生物分布差,以及在极少数情况下存在由 PEG 诱导的过敏反应等问题<sup>[44-45]</sup>.另外,在高盐浓度等生理介质中,带正电荷复合物之间的静电排斥作用降低,易出现不稳定、引发聚集<sup>[46]</sup>或与血液成分(如血清蛋白和红细胞)相互作用.其在血液中的聚集会降低对靶向组织的定位,诱导循环巨噬细胞快速清除,甚至导致肺毛细血管栓塞<sup>[47]</sup>.

**2.2.2 聚合物纳米颗粒(polymer nanoparticle, PNP)** 阳离子聚合物具有带正电的单元,可促进与核酸的静电结合作用形成多聚复合物以促进核酸递送,也可以通过使用可降解的连接剂(如二硫键或巯基-马来酰亚胺键)来实现核酸与聚合物的共价连接.尽管临床进展不如 LNP,但其具有与脂质相似的优势,并且由于其灵活的特性成为非病毒基因递送载体的另一个主要类型.如图 3-a 所示,阳离子聚合物倾向于凝聚和包装带负电荷的核酸.在各种聚合物中,转染效率相对较高的聚乙烯亚胺(PEI)是研究最多的聚阳离子<sup>[48]</sup>.壳聚糖是一种天然的阳离子多糖,聚酰胺(PAMAM)是一种由丙烯酸甲酯和乙二胺合成的树枝

在脂质体的基础上,研发了结构更稳定且递送效率更高的 LNP 用于核酸递送.如图 2 所示, LNP 可由电离脂质、辅助脂质、胆固醇和聚乙二醇(PEG-脂质)组成,可离子化阳离子脂质带铵根的亲水端,在酸性下与氢离子结合呈正电,借助二者的静电吸附,就能够将核酸包裹在 LNP 中<sup>[42]</sup>.当 LNP 被细胞内吞后,辅助型脂质破坏溶酶体膜稳定性,从而实现 LNP 的内涵体逃逸;胆固醇起到稳定 LNP 结构,调节膜流动性,提高粒子稳定性的作用;PEG-脂质提高粒子稳定性,进一步优化细胞内递送的效力和安全性.

状聚合物,都被视为毒性较低的阳离子聚合物材料(图 3-b)<sup>[49]</sup>.由于传统的阳离子聚合物通常具有高电荷密度、与血液成分等非特异性相互作用和不可降解性,目前已采用各种功能修饰策略来缓解这些问题(图 3-c).

树枝状大分子是一种通过不断重复生长枝化形成类似于树枝状结构的大分子.随着聚合代数的增加,枝化程度不断扩展,最终形成封闭的三维球体结构,因此被作为一种特殊的 PNP<sup>[50-52]</sup>.树枝状大分子类型主要有肽树枝状大分子、聚(L-赖氨酸)树枝状大分子等.树枝状大分子内部藏有广阔空腔结构,表面密布活性官能团,这种特殊的结构使其既可以通过空腔包载进行内部负载,也可以通过静电络合或者共价结合实现表面负载.目前,树枝状大分子因其阳离子特性,已被广泛用于基因递送,在生理 pH 条件下,树枝状大分子便能通过静电络合与遗传物质连接,凝聚后的核酸通过细胞摄取、内体逃逸和细胞内核酸释放进行基因表达.

上述 2 种 PNP 尽管具有独特的特点,例如易于开发、易于使用功能配体进行修饰等,但仍存在易聚集性和高毒性的潜在风险<sup>[53-54]</sup>,以及合成过程难以控制

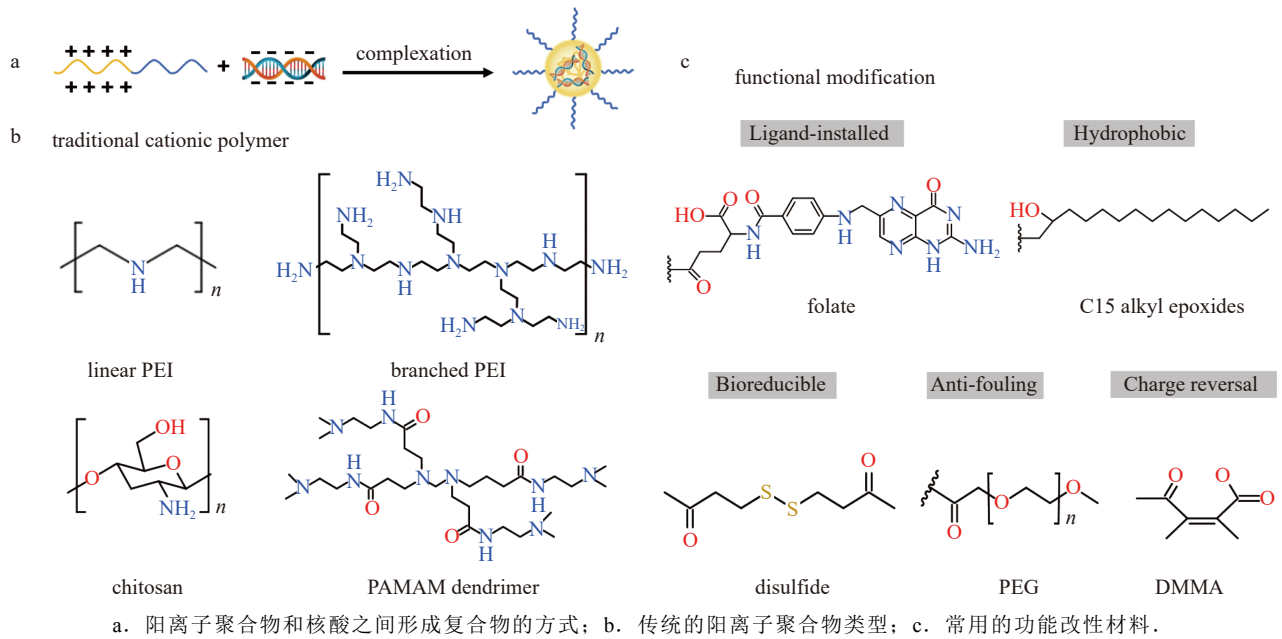


图3 用于核酸递送的合成聚合物材料

的缺点<sup>[55]</sup>, 因而目前只有少数基于聚合物纳米载体进入临床应用。

**2.2.3 无机纳米颗粒(inorganic nanoparticle, INP)** INPs种类繁多, 其中氧化铁、金、二氧化硅等常用于核酸递送。其小尺寸和高比表面积有利于高效负载核酸药物。与通过自组装形成的许多纳米结构相比, INP通常具有很好的分散性和可控性, 可实现可视化和实时监测的特殊功能。

金纳米粒子(AuNPs)因其易于合成并且易于功能化可实现安全有效的基因递送, 是研究最深入的无机纳米系统之一<sup>[56-58]</sup>。可用共价或静电方法将核酸分子结合到金表面, 特别是游离硫醇基团的存在可用于AuNPs的修饰, 核酸分子通过硫醇化连接到AuNPs后, 显示出更高的稳定性和细胞摄取效率以及更长半衰期<sup>[59-60]</sup>。在临床应用中, 如氧化铁纳米粒子等无机材料已获得FDA批准以供使用, 而另一些则正在进行临床试验。但对这类材料存在的潜在长期毒性和有限的生物降解性仍具有争议性<sup>[61-63]</sup>。

**2.2.4 碳点(carbon dots, CDs)** CDs作为新兴的碳基纳米材料被认为是纳米医学应用的潜在材料<sup>[64-68]</sup>。北京师范大学放射性药物教育部重点实验室和理论及计算光化学教育部重点实验室成功合成了表面具有游离的 $\alpha$ -氨基酸结构的LAAM TC-CQDs(图4-a), 利用转运氨基酸的LAT1受体蛋白, 该CDs能够特异性地被肿瘤细胞识别, 并通过网格蛋白介导的内吞作用被细胞内化。体内成像证明了其优异的靶向能力。此外, LAAM TC-CQDs可以携带化疗药物实现癌症精准治疗<sup>[69]</sup>, 这一发现为具有靶向性CDs的研发提供了

重要思路。

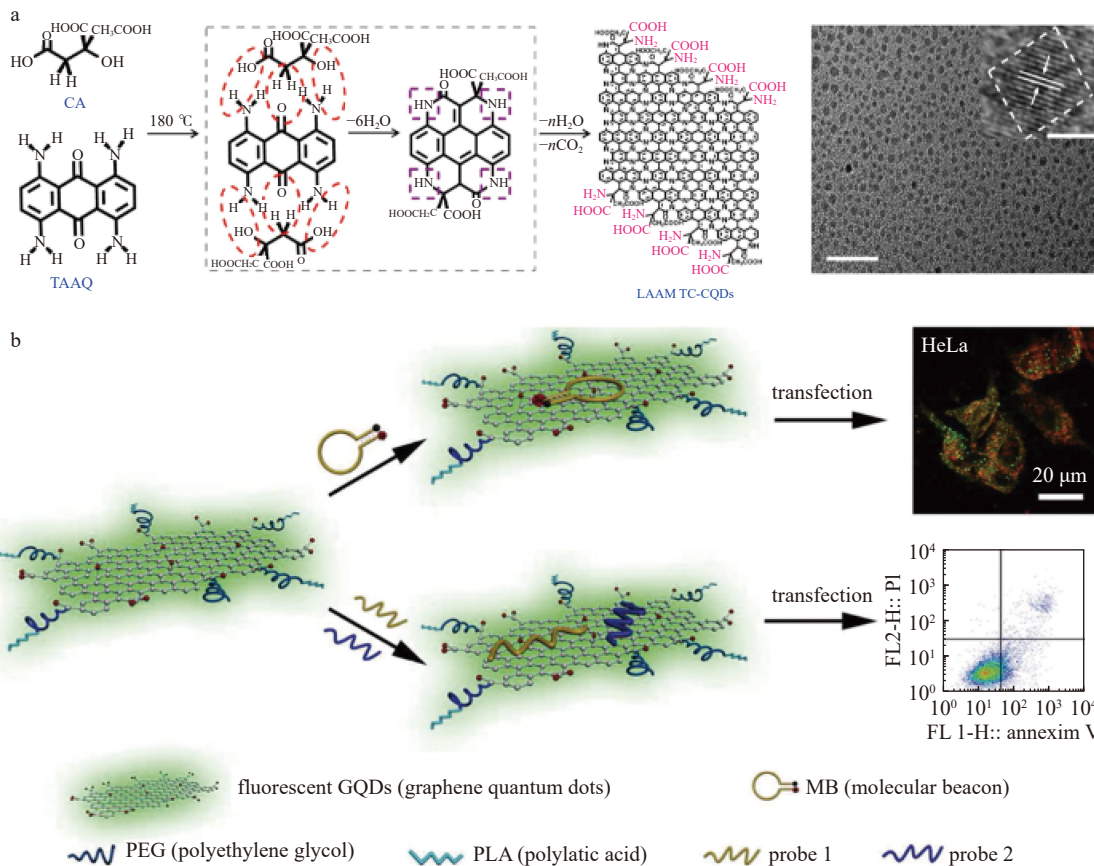
由于良好的生物相容性、易表面改性和独特的发光特性, CDs也成为基因递送应用的新兴纳米载体, 被应用于pDNA和siRNA递送的研究。PEI和胺类化合物, 如EDA、精胺等已被用于阳离子型CDs的前驱体<sup>[71-73]</sup>。具有阳离子电荷的CDs可以与核酸药物结合并转染到细胞中。此外, CDs具有的荧光特性有益于观测细胞水平上的基因转染过程。如图4-b所示, 一种基于CDs的多功能纳米复合材料被合成, 用于同时进行细胞内miRNA成像分析和基因递送<sup>[70]</sup>。

基于CDs在纳米医学中的广阔应用前景, 对其安全性的担忧最近引起了越来越多的关注。体外研究表明, CDs对多种细胞系是非常安全的; 体内研究表明, CDs在各种器官中具有极低积累量。目前还没有任何关于其明显毒性、临床症状、体质量下降甚至死亡的报道。此外, 经高浓度CDs摄取后, 对治疗小鼠的组织病理学研究没有发现明显的损伤, 与对照组几乎相同<sup>[74]</sup>。

虽然CDs在基因治疗中的应用处于发展阶段, 但是, 作为一种拥有基因载体和生物成像探针双重功能的新型纳米材料, CDs有着优异的转染效率和生物相容性, 这使得CDs在治疗诊断和基因递送中具有巨大的潜力, 有望成为临床前和临床研究中的下一代新型核酸载体。

### 3 纳米材料在肿瘤基因治疗中的应用

癌症是由基因表达失调引起的疾病, 基因治疗可通过调节基因的表达来起到治疗作用。肿瘤基因治



a. LAAM TC-CQDs 的合成示意、透射电子显微镜和高分辨透射电子显微镜(插图)图像, 标尺分别为 10 nm 和 1 nm(插图)<sup>[69]</sup>;  
b. 基于 GQDs 的细胞成像和特异性基因递送示意<sup>[70]</sup>。

图 4 碳点的合成和基因治疗应用

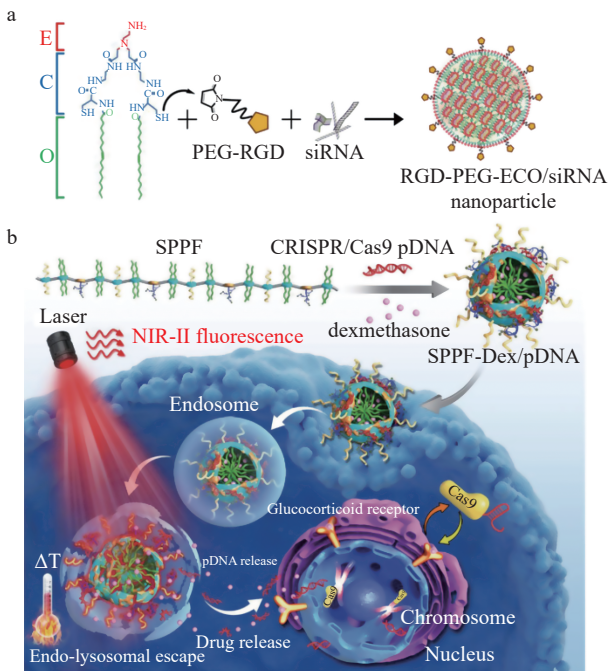
疗可以通过用外源核酸恢复突变的抑癌基因或者使用 RNAi 沉默过表达的原癌基因实现。纳米材料便是使得核酸药物稳定表达的有效载体。

肿瘤微环境与正常组织相比呈现出不同的特征, 如微酸性环境、缺氧、各种酶的过度产生和更高水平的活性氧, 这些生理特征促进了癌症的精准诊断和治疗<sup>[75-77]</sup>。设计具有多重功能的纳米材料, 突破了传统载体对核酸分子递送的局限性, 例如缺乏靶向性和高效的溶酶体逃逸。多功能氨基脂质具有 2 个可聚合的硫醇基团, 它们可以通过自氧化形成二硫键交联以稳定核酸分子。除了通过形成二硫化物交联来稳定纳米颗粒外, 氨基脂质的一个有利特征是它们具有 pH 敏感性, 在 pH=7.4 的生理条件下稳定, 但是在 pH=3.5~5.5 的溶酶体中易质子化, 从而诱导细胞膜破裂并促进有效逃逸。

如图 5-a 所示, 肿瘤靶向 RGD-PEG-ECO/siRNA 纳米颗粒通过多功能氨基脂质、环状 RGD 肽-PEG 的自组装用于全身递送 siRNA, 纳米颗粒中的二硫键在细胞内发生还原性裂解, 导致 siRNA 在细胞质中释放, 从而导致高效率基因沉默<sup>[78]</sup>。此外, 一种用于黑色素瘤治疗的靶向阳离子脂质体被开发<sup>[79]</sup>。该系统将

DSPE-PEG2000、胆固醇、DOTAP 和磷脂分别作为阳离子脂类和中性脂类并用环状 RGD 肽偶联, 该脂质体对电解质和血清核酸酶具有优异稳定性, 且与非靶向制剂相比, 这种靶向脂质体使得细胞凋亡效率增加 2.1 倍, 并且显著增强 STAT3 基因的抑制作用。B16F10 黑色素瘤小鼠的全身成像也证实了其更显著的肿瘤积累。c-RGD 肽修饰的脂质体为设计增强溶酶体逃逸和具有靶向性的脂质体提供了思路。

此外, 一些聚合物能够在外部刺激(如光、声、磁、热等)的激发下发生构象和化学变化, 使其成为制造刺激响应纳米治疗剂的有力候选者。响应式聚合物刷是一个典型的例子。一种刷状结构的含氟化聚乙烯亚胺的半导体聚合物(SPPF)被设计用于 CRISPR/Cas9 基因编辑。当该聚合物纳米粒子在特定组织富集之后, 给予近红外光照, 半导体聚合物进行光热转换之后快速释放出 CRISPR/Cas9 复合物, 可在体外和体内诱导有效的位点进行精确基因组编辑并显著提高了安全性(图 5-b)<sup>[80]</sup>。该研究为 NIR-II 成像引导的近红外光触发无创远程控制体内 CRISPR/Cas9 基因组编辑提供了范例, 为基于 CRISPR/Cas9 基因组编辑的精准基因治疗提出了一种解决方案。



a. RGD-PEG-ECO/siRNA 纳米粒子的形成<sup>[78]</sup>; b. 用于 CRISPR/Cas9 递送的 SPPF-Dex 纳米粒子设计及激光响应作用机制<sup>[80]</sup>。

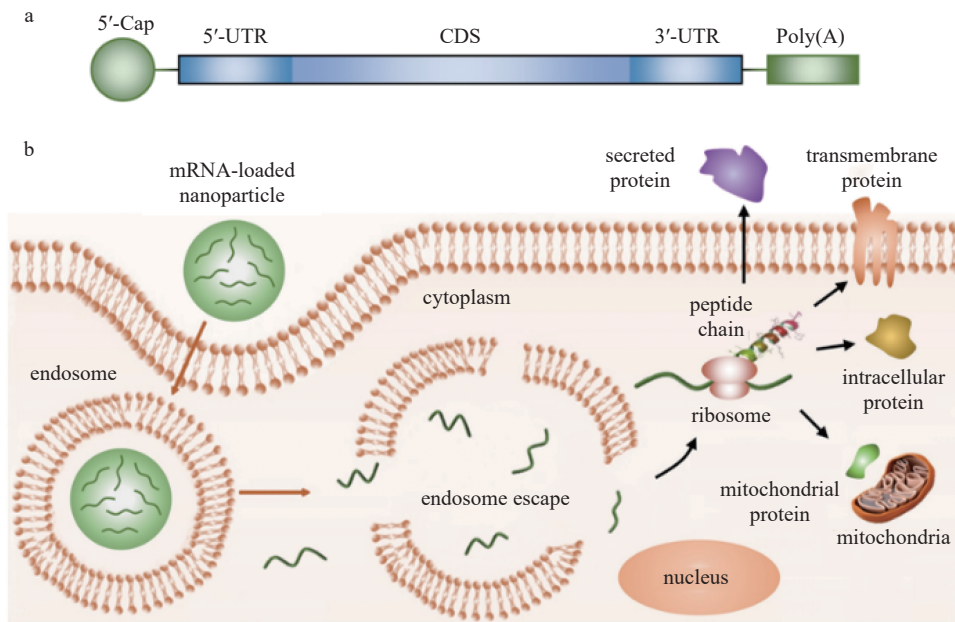
图 5 氨基脂质的设计和作用机制

虽然纳米材料作为新型基因载体具有控释、提高生物利用度的特点,但大部分研究仍处于体外和动物实验阶段,需要深入研究和进一步的活体实验以提高肿瘤的早期诊断率和靶向基因治疗的效果。

## 4 纳米材料在新冠病毒疫苗中的应用

2019 年年底至今, COVID-19 引起的疫情在全球范围内肆虐。这是一种由冠状病毒引起的急性传染病,具有较强的传染性和致病性,且具有一定的死亡率<sup>[81]</sup>。因此,在全球范围内研究 COVID-19 的致病机制,迅速开发安全有效的疫苗并设计相应的治疗方案成为当前一项艰巨的任务。

首个进入临床试验的新冠病毒疫苗是 LNP 运送的 mRNA 疫苗。mRNA 疫苗需要进入细胞质发挥作用,因此载有 mRNA 的纳米颗粒需通过内吞作用被细胞摄取,然后从内体和溶酶体释放的 mRNA 启动翻译并产生蛋白质<sup>[82]</sup>(图 6)。在整个过程中, mRNA 被特异性地递送至细胞是其发挥作用的关键,相对于其他类型的核酸药物递送系统而言, LNP 具有很多优势,比如核酸包封率高并且能够有效转染细胞、组织穿透性强、细胞毒性和免疫原性低等。



a. 体外转录 mRNA 结构示意; b. mRNA 的细胞摄取和蛋白表达过程。

图 6 mRNA 疫苗作用原理<sup>[82]</sup>

在 2018 年,美国 FDA 批准了使用 LNP 技术递送的 RNAi 疗法药物 Onpattro 上市,其作用原理就是利用 LNP 包裹 siRNA,通过静脉注射将药物直接递送至肝脏,防止人体产生致病蛋白<sup>[83-84]</sup>。这是 LNP 在药物递送应用实现从有机小分子到生物大分子跨越的重要里程碑。得益于前期关于 mRNA 的优化和 LNP 的

大量基础研究和实验,针对 COVID-19 新型冠状病毒的 mRNA 疫苗开发,从病毒序列开发到成功上市只用了不到 1 年的时间。2020 年首批上市的辉瑞与莫德纳新冠 RNA 疫苗均使用 LNP 作为载体,将编码 COVID-19 病毒的刺突蛋白 mRNA 递送到宿主细胞的细胞质中, mRNA 被翻译成刺突蛋白,作为抗原诱导

针对病毒的免疫反应,应对了全球 COVID-19 大流行带来的挑战.当然,由 LNPs 作为递送载体的 mRNA 疫苗不仅可以用于预防 COVID-19,还可以用类似技术开发针对多种疾病的 mRNA 疫苗,比如癌症、狂犬病、流感等<sup>[85]</sup>.

## 5 纳米材料应用于基因治疗的挑战

纳米颗粒具有多种优势,包括可调节的物理化学性质、易于生产、可扩展性和储存期间的稳定性.然而,进一步提高纳米材料基因递送的效力并加快这些纳米颗粒的临床转化,仍存在诸多挑战.

1) 一个理想的递送体系不仅需要保持体内循环稳定性,而且在有效到达组织或细胞后,必须有效地递送至细胞并将核酸药物释放,才能实现高效的基因表达.因此在递送过程中,良好的稳定性和细胞内核酸的有效解离,仍是基因递送体系设计中常见的一对矛盾,未来应开发新型的智能纳米材料应对这些问题.

2) 生物安全性是纳米材料临床转化的先决条件.目前,对基于可生物降解聚合物的纳米材料具有较少的毒理学研究和规范的监管机制,仍存在化学组成、相对分子质量、分散性、尺寸、结构和电荷密度等参数需深入研究的问题<sup>[86]</sup>. PEG 化作为一种通用策略,可通过屏蔽表面电荷、避免免疫识别和防止与血液成分的非特异性相互作用,以提高纳米材料的生物相容性.然而,PEG 可能引起过敏反应、加速血液清除和降低疗效的后果<sup>[87]</sup>.因此,开发一种超越 PEG 化的更安全、更有效的递送方法,将为基因治疗领域做出贡献.

3) 纳米材料的制备及其随后的核酸制剂必须具有可扩展性、可重复性和稳定性.对于 LNP,微流体混合和错流注射已成为传统脂质膜水合或乙醇注射的替代方法,以提高其可扩展性、再现性和封装效率<sup>[88]</sup>.阳离子聚合物可经济高效合成,但它们与核酸分子的静电络合,需精确控制以实现良好可控的物理化学特性和高品质的放大生产.无机纳米材料的制造具有良好的均匀性和可控性,但通常面临复杂的合成、修饰和纯化以及低核酸负载能力.因此,开发高品质、可重复性和安全性的纳米材料是必要的.

4) 靶向癌细胞的能力对于最大限度地提高抗癌治疗的效率以及避免对健康组织造成不必要的副作用至关重要.因此急需开发用于肝脏以外递送的纳米材料.目前, GalNAc-RNA 偶联物是唯一可行的专门用于靶向肝细胞的分子平台<sup>[89]</sup>.实现肿瘤靶向基因递送的策略,仍主要集中在通过 EPR 效应的被动靶向或通过癌细胞特异性配体的主动靶向来增强纳米

颗粒的靶向能力.但事实上,肿瘤异质性对纳米颗粒在肿瘤靶向中的行为有显著影响.异常的血管结构和浸润性免疫细胞、趋化因子和细胞因子的存在会阻碍纳米颗粒的靶向递送<sup>[90]</sup>.因此合理设计精准靶向特定组织的材料仍具有挑战性.

## 6 结论与展望

基因治疗本质上是将目的基因通过载体进行转染的问题,基因递送是基因治疗技术成功的关键.在过去 10 年中,基因治疗取得了重大进展,包括开发新的递送策略和提高基因药物的效力和稳定性.随着生物技术的不断发展和跨学科的相互渗透和交叉,纳米基因载体的研究也逐渐深入.在临床基因治疗的进程中,纳米材料存在跨越生物、化学和工程学科的重要挑战,以及有安全性、监管标准和规模化的问题,应制定全面而详细的纳米药物评价标准,加快布局纳米药物监管科学研究计划,推动纳米基因载体的临床应用.

临床上已证明 LNP 在 RNA 递送方面取得了巨大成功,尤其是在传染性方面. COVID-19 疫苗已经证明了基于 LNP 的 mRNA 递送作为大规模基因治疗策略的临床实现.随着新辅料的发现,制备工艺的创新改进, LNP 会表现出更复杂的内部结构和更优的物理稳定性,未来将会看到更多基于 LNP 递送的核酸药物上市,为肿瘤、传染病等多种疾病提供治疗方案.

在肿瘤基因治疗中,核酸药物的序列设计基于癌细胞中的异常基因,通过诱导有效的细胞凋亡或免疫原性作用实现癌症特异性治疗,核酸药物的使用序列和剂量与组织中的免疫反应息息相关.因此,在开发载体时必须考虑肿瘤靶向问题,以最大限度地向癌细胞运送药物,同时避免脱靶效应.具有肿瘤靶向性 CDs 的开发可能为实现基因递送提供新的靶向策略,从而解决基因治疗中最具挑战性的问题.

具有生物安全性、多功能性纳米载体递送系统的持续发展,不仅为肿瘤治疗带来了巨大的希望,而且为病毒传染性疾病的核酸疫苗提供了更多设计思路.例如正在开发阶段的、具有基因载体和生物成像探针的双重作用的 CDs,有可能通过优化生产的方式进一步改善非病毒载体的放大和存储.我们相信,使用高效低毒的 CDs 作为核酸药物载体的持续发展,将为临床基因治疗带来巨大的希望.

## 7 参考文献

[1] TAMBUIZER E, VANDENDRIESSCHE B, AUSTIN C

- P, et al. Therapies for rare diseases: therapeutic modalities, progress and challenges ahead[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2020, 19(2): 93
- [2] NALDINI L. Gene therapy returns to centre stage[J]. *Nature*, 2015, 526(7573): 351
- [3] SULLENGER B A, NAIR S. From the RNA world to the clinic[J]. *Science*, 2016, 352(6292): 1417
- [4] ANGUELA X M, HIGH K A. Entering the modern era of gene therapy[J]. *Annual Review of Medicine*, 2019, 70: 273
- [5] GÓMEZ-AGUADO I, RODRÍGUEZ-CASTEJÓN J, VICENTE-PASCUAL M, et al. Nanomedicines to deliver mRNA: state of the art and future perspectives[J]. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 2020, 10(2): 364
- [6] VOGT P K. Cancer genes[J]. *The Western Journal of Medicine*, 1993, 158(3): 273
- [7] KAWABATA K, TAKAKURA Y, HASHIDA M. The fate of plasmid DNA after intravenous injection in mice: involvement of scavenger receptors in its hepatic uptake[J]. *Pharmaceutical Research*, 1995, 12(6): 825
- [8] QUIJANO E, BAHAL R, RICCIARDI A, et al. Therapeutic peptide nucleic acids: principles, limitations, and opportunities[J]. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 2017, 90(4): 583
- [9] ANDO M, TAKAHASHI Y, YAMASHITA T, et al. Prevention of adverse events of interferon  $\gamma$  gene therapy by gene delivery of interferon  $\gamma$ -heparin-binding domain fusion protein in mice[J]. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, 2014, 1: 14023
- [10] WAEHLER R, RUSSELL S J, CURIEL D T. Engineering targeted viral vectors for gene therapy[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(8): 573
- [11] THOMAS C E, EHRHARDT A, KAY M A. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2003, 4(5): 346
- [12] 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
- [13] LING S K, YANG S Q, HU X D, et al. Lentiviral delivery of co-packaged Cas9 mRNA and a Vegfa-targeting guide RNA prevents wet age-related macular degeneration in mice[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2021, 5(2): 144
- [14] BESSIS N, GARCIAOZAR F J, BOISSIER M C. Immune responses to gene therapy vectors: influence on vector function and effector mechanisms[J]. *Gene Therapy*, 2004, 11(1): S10
- [15] SOMIA N, VERMA I M. Gene therapy: trials and tribulations[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2000, 1(2): 91
- [16] NAFISSI N, ALQAWLAQ S, LEE E A, et al. DNA ministrings: highly safe and effective gene delivery vectors[J]. *Molecular Therapy: Nucleic Acids*, 2014, 3: e165
- [17] YIN H, KANASTY R L, ELTOUKHY A A, et al. Non-viral vectors for gene-based therapy[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2014, 15(8): 541
- [18] CROSS R. Without these lipid shells, there would be no mRNA vaccines for COVID-19[J]. *Chemical & Engineering News*, 2021, 99(8): 16
- [19] ALDOSARI B N, ALFAGIH I M, ALMURSHEDI A S. Lipid nanoparticles as delivery systems for RNA-based vaccines[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(2): 206
- [20] CHATZIKLEANTHOUS D, O'HAGAN D T, ADAMO R. Lipid-based nanoparticles for delivery of vaccine adjuvants and antigens: toward multicomponent vaccines[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2021, 18(8): 2867
- [21] KAUFFMAN K J, WEBBER M J, ANDERSON D G. Materials for non-viral intracellular delivery of messenger RNA therapeutics[J]. *Journal of Controlled Release*, 2016, 240: 227
- [22] YOUN H, CHUNG J K. Modified mRNA as an alternative to plasmid DNA (pDNA) for transcript replacement and vaccination therapy[J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2015, 15(9): 1337
- [23] MENG Z, O'KEEFE-AHERN J, LÜ J, et al. A new developing class of gene delivery: messenger RNA-based therapeutics[J]. *Biomaterials Science*, 2017, 5(12): 2381
- [24] ZARGHAMPOOR F, AZARPIRA N, KHATAMI S R, et al. Improved translation efficiency of therapeutic mRNA[J]. *Gene*, 2019, 707: 231
- [25] ZHONG Z F, MC CAFFERTY S, COMBES F, et al. mRNA therapeutics deliver a hopeful message[J]. *Nano Today*, 2018, 23: 16
- [26] FIRE A, XU S Q, MONTGOMERY M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806
- [27] HAMMOND S M, BERNSTEIN E, BEACH D, et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells[J]. *Nature*, 2000, 404(6775): 293
- [28] ELBASHIR S M, HARBORTH J, LENDECKEL W, et al. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells[J]. *Nature*, 2001, 411(6836): 494
- [29] HANNON G J, ROSSI J J. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 371
- [30] MERRITT W M, LIN Y G, HAN L Y, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer[J].

- The New England Journal of Medicine, 2008, 359(25): 2641
- [31] KARIM M E, THA K K, OTHMAN I, et al. Therapeutic potency of nanoformulations of siRNAs and shRNAs in animal models of cancers[J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(2): 65
- [32] CHANDRASEGARAN S, CARROLL D. Origins of programmable nucleases for genome engineering[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2016, 428(5): 963
- [33] MALI P, YANG L H, ESVELT K M, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 823
- [34] CONG L, RAN F A, COX D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 819
- [35] RAN F A, HSU P D, LIN C Y, et al. Double nicking by RNA-guided CRISPR Cas9 for enhanced genome editing specificity[J]. *Cell*, 2013, 154(6): 1380
- [36] CHO S W, KIM S, KIM J M, et al. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease[J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(3): 230
- [37] BAUM C, KUSTIKOVA O, MODLICH U, et al. Mutagenesis and oncogenesis by chromosomal insertion of gene transfer vectors[J]. *Human Gene Therapy*, 2006, 17(3): 253
- [38] JIANG J J, ZHANG X R, TANG Y, et al. Progress on ocular siRNA gene-silencing therapy and drug delivery systems[J]. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2021, 35(1): 4
- [39] BOUARD D, ALAZARD-DANY N, COSSET F L. Viral vectors: from virology to transgene expression[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157(2): 153
- [40] SHAH S, DHAWAN V, HOLM R, et al. Liposomes: advancements and innovation in the manufacturing process[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020, 154/155: 102
- [41] ZHANG Y, LI H M, SUN J, et al. DC-Chol/DOPE cationic liposomes: a comparative study of the influence factors on plasmid pDNA and siRNA gene delivery[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, 390(2): 198
- [42] TENCHOV R, BIRD R, CURTZE A E, et al. Lipid nanoparticles-from liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(11): 16982
- [43] WAHANE A, WAGHMODE A, KAPPAHN A, et al. Role of lipid-based and polymer-based non-viral vectors in nucleic acid delivery for next-generation gene therapy[J]. *Molecules*, 2020, 25(12): 2866
- [44] FENTON O S, OLAFSON K N, PILLAI P S, et al. Advances in biomaterials for drug delivery[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(29): 1705328
- [45] MOGHIMI S M. Allergic reactions and anaphylaxis to LNP-based COVID-19 vaccines[J]. *Molecular Therapy*, 2021, 29(3): 898
- [46] WIETHOFF C M, MIDDAUGH C R. Barriers to nonviral gene delivery[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 92(2): 203
- [47] MORILLE M, PASSIRANI C, VONARBOURG A, et al. Progress in developing cationic vectors for non-viral systemic gene therapy against cancer[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(24/25): 3477
- [48] BOUSSIF O, LEZOUALC'H F, ZANTA M A, et al. A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(16): 7297
- [49] LÜ H T, ZHANG S B, WANG B, et al. Toxicity of cationic lipids and cationic polymers in gene delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2006, 114(1): 100
- [50] TOMALIA D A. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry[J]. *Progress in Polymer Science*, 2005, 30(3/4): 294
- [51] WANG M M, LIU H M, LI L, et al. A fluorinated dendrimer achieves excellent gene transfection efficacy at extremely low nitrogen to phosphorus ratios[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 3053
- [52] LIU H M, WANG H, YANG W J, et al. Disulfide cross-linked low generation dendrimers with high gene transfection efficacy, low cytotoxicity, and low cost[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(42): 17680
- [53] EKLADIOUS I, COLSON Y L, GRINSTAFF M W. Polymer-drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2019, 18(4): 273
- [54] BEGINES B, ORTIZ T, PÉREZ-ARANDA M, et al. Polymeric nanoparticles for drug delivery: recent developments and future prospects[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(7): 1403
- [55] HAMID AKASH M S, REHMAN K, CHEN S Q. Natural and synthetic polymers as drug carriers for delivery of therapeutic proteins[J]. *Polymer Reviews*, 2015, 55(3): 371
- [56] HUO S D, GONG N Q, JIANG Y, et al. Gold-DNA nanosunflowers for efficient gene silencing with controllable transformation[J]. *Science Advances*, 2019, 5(10): eaaw6264

- [57] DENG J J, YU P, WANG Y X, et al. Visualization and quantification of neurochemicals with gold nanoparticles: opportunities and challenges[J]. *Advanced Materials*, 2014, 26(40): 6933
- [58] CHEN X Y, ZHANG Q, LI J L, et al. Rattle-structured rough nanocapsules with in-situ-formed gold nanorod cores for complementary gene/chemo/photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(6): 5646
- [59] CUTLER J I, AUYEUNG E, MIRKIN C A. Spherical nucleic acids[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(3): 1376
- [60] PISSUWAN D, NIIDOME T, CORTIE M B. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 149(1): 65
- [61] YILDIRIMER L, THANH N T K, LOIZIDOU M, et al. Toxicology and clinical potential of nanoparticles[J]. *Nano Today*, 2011, 6(6): 585
- [62] LI J J, HARTONO D, ONG C N, et al. Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(23): 5996
- [63] YAN M, ZHANG Y, XU K D, et al. An in vitro study of vascular endothelial toxicity of CdTe quantum dots[J]. *Toxicology*, 2011, 282(3): 94
- [64] GEORGAKILAS V, PERMAN J A, TUCEK J, et al. Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(11): 4744
- [65] WU H, XU H M, SHI Y X, et al. Recent advance in carbon dots: from properties to applications[J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2021, 39(5): 1364
- [66] SU W, WU H, XU H M, et al. Carbon dots: a booming material for biomedical applications[J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2020, 4(3): 821
- [67] SHI Y X, XU H M, YUAN T, et al. Carbon dots: an innovative luminescent nanomaterial[J]. *Aggregate*, 2022, 3(3): e108
- [68] YUAN F L, DING L, LI Y C, et al. Multicolor fluorescent graphene quantum dots colorimetrically responsive to all-pH and a wide temperature range[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(27): 11727
- [69] LI S H, SU W, WU H, et al. Targeted tumour theranostics in mice via carbon quantum dots structurally mimicking large amino acids[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4(7): 704
- [70] DONG H F, DAI W H, JU H X, et al. Multifunctional poly(L-lactide)-polyethylene glycol-grafted graphene quantum dots for intracellular microRNA imaging and combined specific-gene-targeting agents delivery for improved therapeutics[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(20): 11015
- [71] LIU C J, ZHANG P, ZHAI X Y, et al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(13): 3604
- [72] WANG Q, ZHANG C L, SHEN G X, et al. Fluorescent carbon dots as an efficient siRNA nanocarrier for its interference therapy in gastric cancer cells[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2014, 12: 58
- [73] ZHANG M, ZHAO X, FANG Z, et al. Fabrication of HA/PEI-functionalized carbon dots for tumor targeting, intracellular imaging and gene delivery[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(6): 3369
- [74] CHONG Y, MA Y F, SHEN H, et al. The in vitro and in vivo toxicity of graphene quantum dots[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(19): 5041
- [75] YUAN Y, JIANG Y C, SUN C K, et al. Role of the tumor microenvironment in tumor progression and the clinical applications (Review)[J]. *Oncology Reports*, 2016, 35(5): 2499
- [76] LIU Y J, DAI X G, YU B R, et al. pH-Responsive hyaluronic acid-cloaked polycation/gold nanohybrids for tumor-targeted synergistic photothermal/gene therapy[J]. *Biomaterials Science*, 2022, 10(10): 2618
- [77] ZHANG S Q, DENG G, LIU F Y, et al. Autocatalytic delivery of brain tumor-targeting, size-shrinkable nanoparticles for treatment of breast cancer brain metastases[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(14): 1910651
- [78] VAIDYA A M, SUN Z H, AYAT N, et al. Systemic delivery of tumor-targeting siRNA nanoparticles against an oncogenic lncRNA facilitates effective triple-negative breast cancer therapy[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2019, 30(3): 907
- [79] KHABAZIAN E, VAKHSHITEH F, NOROUZI P, et al. Cationic liposome decorated with cyclic RGD peptide for targeted delivery of anti-STAT3 siRNA to melanoma cancer cells[J]. *Journal of Drug Targeting*, 2022, 30(5): 522
- [80] LI L, YANG Z, ZHU S J, et al. A rationally designed semiconducting polymer brush for NIR-II imaging-guided light-triggered remote control of CRISPR/Cas9 genome editing[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(21): 1901187
- [81] COVID-19 therapies and vaccine landscape[J]. *Nature Materials*, 2020, 19(8): 809
- [82] 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
- [83] ADAMS D, GONZALEZ-DUARTE A, O'RIORDAN W D, et al. Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 379(1): 11
- [84] KIRTANE A R, PANYAM J. Weighing up gene delivery[J]. *Nature Nanotechnology*, 2013, 8(11): 805
- [85] 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
- [86] MERKLE H P. Drug delivery's quest for polymers: where are the frontiers?[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2015, 97: 293
- [87] KOZMA G T, MÉSZÁROS T, VASHEGYI I, et al. Pseudo-anaphylaxis to polyethylene glycol (PEG)-coated liposomes: roles of anti-PEG IgM and complement activation in a porcine model of human infusion reactions[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(8): 9315
- [88] LOSTALÉ-SEIJO I, MONTENEGRO J. Synthetic materials at the forefront of gene delivery[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2018, 2(10): 258
- [89] NAIR J K, WILLOUGHBY J L S, CHAN A, et al. Multivalent N-acetylgalactosamine-conjugated siRNA localizes in hepatocytes and elicits robust RNAi-mediated gene silencing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(49): 16958
- [90] SONG G, DARR D B, SANTOS C M, et al. Effects of tumor microenvironment heterogeneity on nanoparticle disposition and efficacy in breast cancer tumor models[J]. *Clinical Cancer Research*, 2014, 20(23): 6083

## Nanomaterials in gene therapy from tumor therapy to novel coronavirus vaccine

XU Huimin    CHANG Jianqiao    LI Yunchao    LI Xiaohong    XIE Wenjing  
ZHANG Yang    FAN Louzhen

( College of Chemistry, Key Laboratory of Radiopharmaceuticals, and Theoretical & Computational Photochemistry,  
Ministry of Education, Beijing Normal University, 100875, Beijing, China )

**Abstract** Gene therapy, a precise and effective therapeutic strategy, can be applied to a variety of diseases including cancer and infectious diseases. However, instability and large size of nucleic acid drugs used in gene therapy hinder their effective applications. Nanomaterials have proved to be the most promising in clinical tumor gene therapy due to low immunogenicity, good controllability, easy surface modification and multifunctioning. In particular, mRNA vaccines have attracted much attention since the outbreak of COVID-19. Lipid nanoparticles (LNP) has been used successfully as the delivery system of this vaccine. Major types of gene therapy were outlined in this mini-review. The delivery platform for nucleic acids could be based on lipids, cationic polymers, inorganic nanoparticles and other new nanomaterials such as carbon dots. Their applications in tumor therapy and development of novel coronavirus vaccine are emphasized. Future challenges and prospects of nanomaterial for gene therapy are presented.

**Keywords** gene therapy; nanomaterials; tumor therapy; novel coronavirus vaccine; nucleic acid delivery

【责任编辑: 武 佳】