

siRNA 在肺损伤治疗中的研究进展

刘福莉^{1,2,3} 胡寒冰^{1,2,3} 申捷^{1,2,3△}

¹复旦大学附属金山医院急危重病中心 上海 201508; ²复旦大学化学伤害急危重病医学研究中心 上海 201508;
³上海市卫生健康委员会化学伤害急危重病医学重点实验室 上海 201508)

【摘要】 肺部是人体与外界环境直接接触的关键器官,极易受到多种外源性因素刺激,从而引发一系列炎症反应,并导致不同程度的组织损伤。随着基因工程技术的发展,通过RNA干扰沉默特定靶基因成为治疗肺损伤的新策略。小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)是RNA干扰技术的重要部分,可通过碱基互补配对的方式与靶基因结合以抑制其表达,进而产生相应的调控作用。因特异性靶向、低生物毒性等特点,siRNA正逐渐成为治疗肺损伤等肺部疾病的理想工具。本文综述了siRNA的作用机制及其在肺损伤治疗中的应用进展与研究现状。

【关键词】 肺损伤; 小干扰RNA(siRNA); 治疗; 基因表达调控

【中图分类号】 R563 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2025.06.014

Research progress on siRNA in the treatment of lung injury

LIU Fu-li^{1,2,3}, HU Han-bing^{1,2,3}, SHEN Jie^{1,2,3△}

¹Center of Emergency and Critical Medicine, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201508, China;
²Research Center for Chemical Injury, Emergency and Critical Medicine, Fudan University, Shanghai 201508, China;
³Key Laboratory of Chemical Injury, Emergency and Critical Medicine, Shanghai Municipal Health Commission, Shanghai 201508, China)

【Abstract】 The lung is a vital organ that is in direct contact with the external environment. It is extremely susceptible to a variety of exogenous factors, which can trigger a series of inflammatory responses and lead to varying degrees of tissue damage. With the development of genetic engineering technology, silencing specific target genes through RNA interference has become a new strategy for the treatment of lung injury. Small interfering RNA (siRNA) is a crucial role in RNA interference that can bind to the target gene through base complementary pairing to inhibit its expression, thereby producing a corresponding regulatory effect. Due to its specific targeting and low biological toxicity, siRNA is gradually becoming an ideal tool for the treatment of lung injury and other lung diseases. This article reviews the mechanism of action of siRNA and its application progress and research status in the treatment of lung injury.

【Key words】 lung injury; small interfering RNA (siRNA); therapy; gene expression regulation

* This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82272243), the Youth Research Foundation of Jinshan Hospital, Fudan University (JYQN-JC-202406) and the Science and Technology Innovation Action Plan for Medical Innovation Research Program, Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (22Y11900800).

国家自然科学基金面上项目(82272243);复旦大学附属金山医院青年科研基金(JYQN-JC-202406);上海市科委“科技创新行动计划”医学创新研究专项(22Y11900800)

[△]Corresponding author E-mail: j1999sh@163.com

网络首发时间:2025-09-04 15:54:35 网络首发地址:https://link.cnki.net/urlid/31.1885.R.20250904.1049.004

肺损伤是一类由体内外各种因素诱发的复杂病理过程,通常会出现明显的肺部炎症和纤维化病变,但其具体发病机制尚未完全阐明,一般认为主要是由微生物感染、系统性损伤和化学物质等刺激所引发的持续性炎症反应,进而导致肺部细胞发生不可逆的损伤和功能丧失。由于对发病机制的探索不足,临床上仍缺乏可根治肺损伤的特异性药物或针对性治疗策略,目前主要通过抗炎、抗氧化药物及呼吸机辅助通气等支持治疗来改善肺损伤的病理症状并延缓疾病进程^[1],但疗效局限,难以进一步提高肺损伤患者的生存率。

RNA疗法是通过特异性的核酸序列直接作用在致病的靶基因上,从而对各种危及生命的疾病进行更加精准的个性化治疗,被认为是一种极具发展潜力的治疗技术^[2]。在测序技术和基因工程技术的不断革新下,非编码RNA对疾病发展的调控作用逐渐清晰,因此被视为RNA疗法中具有潜在应用价值的核心调控分子^[3]。在各类用于RNA疗法的非编码RNA中,具有靶点特异性强、可成药靶点多、药效持续时间久等特点的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)药物被认为是RNA药物开发的新方向^[4]。随着药物靶点的开发、药物高效递送和化学修饰等技术愈发成熟,已有多款药物成功上市。siRNA因体积小、转染效率高、药用效力和特异性强及免疫应答低等优点,被视作未来肺损伤治疗的潜在工具。本文综述了siRNA在不同类型肺损伤治疗中的研究新进展以及siRNA作为肺损伤治疗药物所面临的挑战,以期对肺损伤治疗和siRNA药物开发提供参考。

siRNA的作用机制和应用 基因表达失控可能导致多种生理功能紊乱,进而诱发各种疾病。RNA干扰(RNA interference, RNAi)是通过siRNA与靶基因互补结合后触发信使RNA(messenger RNA, mRNA)降解以阻碍蛋白翻译的一种RNA分子作用机制,属于内在的转录后基因调控机制^[5]。siRNA是由长度为21~25 bp的正义链和反义链通过碱基互补配对形成的双链RNA(double strand RNA, dsRNA)。正常情况下,内源性成熟siRNA在细胞质由前体长链dsRNA或者短发卡结构的RNA(small hairpin RNA, shRNA)经Dicer酶剪切而成。siRNA在细胞质中与Argonaute 2蛋白结合,形成RNA诱导沉默复合物,随后通过siRNA的反

义链寻找到互补的靶基因mRNA并与其结合,诱导mRNA的切割和降解以实现基因沉默^[6]。

在siRNA药物之前,反义核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)药物是RNA疗法的主流形式,可应用于传统小分子无法靶向的mRNA。然而,ASO的稳定性和疗效通常与其化学修饰密切相关,例如硫代磷酸酯(phosphorothioate, PS)的修饰可提高ASO与多种蛋白的亲合力,但同时显著增加其药物毒性^[7]。相较于ASO,siRNA的PS修饰较少且依然有较好的活性^[8]。在结构上,siRNA的反义链与靶基因mRNA的互补程度更高,siRNA药物具有更高的特异性和更低的脱靶效应^[9],可以根据特定靶mRNA序列进行针对性开发,以实现mRNA的精准靶向^[10]。而相较于基因治疗,siRNA对靶mRNA的作用具有瞬时性,因此更适用于对生命活动必需基因的表达调控^[11]。此外,siRNA的合成不需要复杂的细胞表达系统和繁琐的蛋白表达纯化步骤,极大地减少了相关药物的研发资源消耗和风险^[12]。

高特异性、低毒性、靶向精准和药效持久的siRNA药物正逐渐成为RNA疗法的主流,治疗范围也从罕见病扩展到慢性病和常见病。近5年来已有6款siRNA药物获得美国FDA的批准,分别用于不同疾病的治疗^[13],对于癌症、慢性病和感染性疾病均表现出良好的治疗效果^[14-16]。

siRNA通过调控氧化应激及其级联反应减轻急性肺损伤 急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由各种直接或间接因素引发的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,随着病情发展,诱发急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),加重患者的呼吸负担和死亡风险。ALI/ARDS的发病受到各种肺内外因素的影响,不同的发病因素使ALI/ARDS具有不同的病理机制^[17],其中氧化应激被视为ALI/ARDS的关键发病机制^[18]。通过利用特异性siRNA对氧化应激核心基因的靶向调控,可减少机体活性氧的过量积累以及由此引发的炎症扩大和细胞凋亡等级联反应,进而改善ALI/ARDS病情。Jiang等^[19]通过siRNA抑制NOX4基因降低了脓毒症ALI小鼠肺的ROS,同时氧化还原敏感的CaMKII/ERK1/2/MLCK通路被激活,恢复了紧密连接蛋白的表达以维持内皮细胞屏障的完整性,从而提高了ALI小鼠的存活率。Cai

等^[20]发现在烧伤ALI小鼠模型中,siRNA对NOX4的抑制减少了肺微血管内皮细胞(pulmonary microvascular endothelial cell, HPMEC)的ROS生成和细胞凋亡。以NOX4为核心的siRNA抗氧化应激疗法有望成为ALI/ARDS治疗的新方向。

NF- κ B信号通路的持续性激活及炎性细胞因子过度释放是脓毒症及其ALI并发症的重要致病机制之一^[21]。研究发现,通过特异性siRNA靶向抑制NF- κ B信号通路的激活以减轻机体炎症反应,同样也可缓解ALI/ARDS。李丛锋等^[22]设计了一款靶向小鼠NF- κ B P65的siRNA,可显著降低脓毒症ALI小鼠模型P65和MMP9的mRNA及蛋白表达水平,并减轻肺组织炎性细胞浸润和渗出。Chen等^[23]发现黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)受到siRNA抑制后,与转化生长因子- β 活化激酶1(transforming growth factor- β -activated kinase 1, TAK1)的相互作用减弱,降低了LPS诱导的ALI小鼠体内NF- κ B信号通路的活性以及炎症反应,提高了肺组织对LPS攻击的抵御能力。Qu等^[24]使用携带CAV-1-siRNA的腺相关病毒载体处理脓毒症ALI小鼠后,观察到CAV-1表达受抑制,导致NF- κ B等信号通路的激活减弱,并显著促进细胞自噬,从而降低小鼠的肺重量系数,减少炎症细胞浸润,并使肺泡壁显著变薄。除了NF- κ B信号通路,MTOR信号通路^[25]、TGF- β 通路^[26]和PI3K/AKT通路^[27]等免疫炎症通路也可以通过siRNA的靶向调控以缓解ALI/ARDS。

ALI/ARDS的发病机制受多种因素影响,除了氧化应激和炎症因子外,siRNA还可以通过影响其他机制来治疗或缓解ALI。Hu等^[28]提出,siRNA作用于*Bhlhe40*可抑制ALI小鼠的肺部巨噬细胞凋亡。Liang等^[29]发现,siRNA对*YAp1*基因的抑制会促进巨噬细胞的M2极化,从而缓解ALI。Liu等^[30]发现,利用siRNA降低*MBD2*的表达可维持细胞内的锌稳态,从而改善LPS诱导的小鼠肺泡上皮细胞凋亡和ALI病情。Liu等^[31]发现,HPMEC会在LPS诱导过程中释放出DPP-4并分泌IL-6/8,从而加剧内皮炎症并增强细胞通透性,通过siRNA敲低DPP-4基因表达后,HPMEC中的趋化因子释放和单层高通透性则受到抑制;此外,敲低DPP-4还可抑制LPS诱导的中性粒细胞与内皮细胞的黏附、PMN趋化以及跨内皮迁移。由此可见,阻断DPP-4

可能成为预防ALI/ARDS相关内皮功能障碍的潜在治疗策略。

ALI/ARDS是复杂的临床综合征,其核心发病机制涉及氧化应激、炎症反应、细胞凋亡等多种病理过程,有大量基因和通路参与其中,并交织形成庞大的调控网络。siRNA作为一种精准的基因调控工具,通过靶向NOX4、NF- κ B、FAK、CAV-1等关键基因和信号通路,有效抑制了氧化应激和炎症反应,恢复了内皮屏障功能,从而缓解肺损伤。此外,siRNA还被用于调控巨噬细胞极化、锌离子稳态和细胞凋亡等过程,进一步拓展了其在ALI/ARDS治疗中的应用前景。未来可进一步优化siRNA的设计和递送系统,并探索多靶点联合治疗策略。

siRNA通过调控巨噬细胞及上皮-间质转化机制延缓肺纤维化进程 肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是一种以成纤维细胞增殖及大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积为特征的不可逆性致命性慢性疾病,可根据发病类型细分为继发性PF和特发性PF(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)^[32]。TGF- β 是深度参与PF的损伤和修复过程的重要细胞因子,其诱导的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)被认为是PF发病的一个关键步骤^[33]。基于siRNA靶向TGF- β 或其上下游基因以阻碍EMT被视为延缓PF进程的新型治疗方法。Qiu等^[34]开发了一款载有*siTGF- β 1*的牛奶外泌体,通过雾化吸入后,可特异性沉默博来霉素(bleomycin, BLM)诱导的PF小鼠的*TGF β 1*基因,并抑制EMT以保护肺组织免受BLM毒性侵害,从而显著减轻小鼠的炎症浸润,减弱ECM沉积并提高存活率。Cao等^[35]通过可离子化脂质体纳米粒将抗氧化药物虾青素和*siTGF- β 1*同时输送至IPF小鼠体内,在虾青素通过抗氧化作用保护肺泡上皮完整性的同时,*siTGF- β 1*显著抑制成纤维细胞TGF- β 1的表达,抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞分化,减少ECM的过度沉积,极大地提高了IPF的治疗效率。周森等^[36]提出通过siRNA对*HOXB7*的抑制可有效降低TGF- β 1诱导的肺泡EMT过程,进而抑制其纤维化。李昊等^[37]在BLM诱导的小鼠PF模型中发现凋亡抑制蛋白c-FLIP(L)的高表达可促进TGF- β 1诱导的Smad信号通路激活,并促进肺上皮细胞的EMT表型,利用

siRNA对c-FLIP(L)抑制则能阻断上述通路,由此推测通过c-FLIP(L)靶向EMT的调控可能是延缓PF进程的有效策略之一。Cheng等^[38]发现,TGF- β 1介导的UHRF1上调可通过甲基化诱导其启动子,抑制自噬相关蛋白beclin 1,从而导致成纤维细胞活化和PF。通过静脉注射载有UHRF1 siRNA的脂质体,可以显著减缓小鼠的实验性PF病变。此外,siRNA对Acp5^[39]、乙酰化CCAAT/增强子结合蛋白 β ^[40]、ZNF416^[41]和CL17/CCR4^[42]等靶点的特异性抑制同样可以阻碍由TGF- β 1介导的EMT,进而阻滞肺部组织或细胞的纤维化进程。由此可见,通过siRNA对靶基因的调控以减少ECM沉积和抑制EMT过程是延缓PF发展的新型治疗手段之一,同时配合抗氧化等药物可进一步提高治疗效率。但由于纤维化病变的不可逆性,siRNA通过抑制EMT机制在晚期PF中的治疗效果尚不明确。

受炎症因子诱导的M2型巨噬细胞的过度聚集可能与PF的进程密切相关^[43],除直接靶向TGF- β 外,通过siRNA对巨噬细胞等可分泌生长因子的免疫细胞进行调控也是延缓PF进展的方法之一。Wang等^[44]发现,MBD2在PF患者和BLM诱导的PF小鼠中的表达均提高,而将载有Mbd2 siRNA的脂质体通过气管插管给药造成小鼠Mbd2缺乏后,显著抑制TGF- β 1的表达并减少肺中M2巨噬细胞的积累,保护小鼠免受BLM引起的肺损伤和纤维化。Luo等^[45]发现,参与巨噬细胞极化类型转变的髓系触发受体-2在IPF患者和小鼠模型中高度表达且与生存周期有关,特异性siRNA经气管插管给药后抑制髓系触发受体-2,同时也抑制了STAT6的激活以及纤维连接蛋白、胶原蛋白I和 α -平滑肌肌动蛋白等纤维化因子的表达,进而抑制BLM诱导的肺纤维化和M2巨噬细胞极化。Yan等^[46]也发现,Plekhf1在IPF患者和小鼠模型的肺组织中高表达,且受IL-4/IL-13刺激上调后通过增强PI3K/Akt信号传导以促进巨噬细胞M2极化并加剧肺纤维化,气管插管给予载有Plekhf1 siRNA的脂质体能够有效抑制肺部Plekhf1的表达,并显著减少肺内M2巨噬细胞的聚集,从而有效保护小鼠免受BLM引起的肺损伤和纤维化。

矽肺是一种由于长期暴露在二氧化硅粉尘环境中所引发的弥漫性结节状或网格状肺间质纤维化疾病,由于巨噬细胞无法分解吞噬的二氧化硅,

从而导致细胞死亡并释放吞噬的粉尘,会进一步增强患者体内的炎症反应,促使巨噬细胞的M2极化以及各类细胞因子的释放,进而形成患者肺部的纤维化病灶^[47]。Hao等^[48]提出,可通过siRNA作用于c-Src激酶并抑制PI3K/AKT通路的磷酸化和TGF- β 1诱导的间充质表型,减轻二氧化硅诱导的PF。Zhao等^[49]发现,腺病毒转染siRNA可显著抑制成纤维细胞的转分化,并阻碍TGF- β 1诱导的PI3K/AKT/mTOR通路的激活,减少矽肺小鼠的肺损伤和纤维化。Wang等^[50]阐明了二氧化硅刺激肺上皮细胞分泌IL-33并通过体外激活ERK/AP-1/NPM1信号通路进一步促进肺成纤维细胞的活化、增殖和迁移的机制,利用负载NPM1 siRNA的脂质体治疗可显著保护小鼠免受体内二氧化硅诱导的PF。Zhou等^[51]观察到矽肺小鼠肺组织中的巨噬细胞与内皮细胞的相互作用,通过siRNA减少巨噬细胞的MMP12表达可以逆转由二氧化硅引起的内皮细胞紧密连接蛋白TJP1、钙调蛋白CDH5和内皮屏障蛋白occludin的低表达,对内皮细胞屏障功能修复产生积极作用。

M2型巨噬细胞在PF的发病机制中起关键作用,其通过分泌TGF- β 1、胶原蛋白等纤维化因子直接驱动疾病进展。研究发现,靶向巨噬细胞极化相关基因的siRNA疗法可显著减少M2巨噬细胞聚集及纤维化因子表达,从而缓解PF进程。此外,siRNA通过调控巨噬细胞MMP12表达,修复内皮屏障功能,为矽肺治疗提供了新思路。这些研究揭示了siRNA通过调控巨噬细胞极化及相关信号通路治疗PF,是未来药物开发的重要方向之一。

siRNA多靶点、多途径治疗慢性阻塞性肺疾病 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种进行性疾病,病情逐渐恶化且不可逆,甚至影响患者的生活自理能力,还会增加其他疾病的发病概率,显著提高死亡风险^[52]。COPD的发病机制复杂,靶点基因相对较多,将合成的特异性siRNA用于COPD治疗正逐渐成为主流的研究方向之一^[53]。Bigot等^[54]在肺活检中发现,吸烟者的闭合蛋白表达水平较低且与患者吸烟史、COPD水平和组织蛋白酶S(cathepsin S, CatS)活性呈负相关。在细胞模型中也证实香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)可通过mTOR/TFEB信号通路触发THP-1巨噬细胞上调

*CatS*并增强肺上皮细胞的通透性,而通过 siRNA 抑制 *CatS*后则观察到上皮细胞的屏障功能有所恢复,因而推测 *CatS*是 COPD 的治疗靶点之一。Wang 等^[55]发现,暴露于香烟烟雾的小鼠肺内巨噬细胞增多且气道上皮纤毛细胞减少,经细胞实验和转录组测序分析确认,CSE 增强了巨噬细胞分泌蛋白-骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2,BMP-2)对上皮细胞纤毛蛋白的抑制。通过 siRNA 抑制 BMP-2 的表达可适当延缓 COPD 的发病进展。Zhang 等^[56]发现,环丝氨酸蛋白酶 D(cyclophilin D, CypD)的高表达与 COPD 患者的气道上皮细胞线粒体损伤有关且呈浓度和时间依赖性,通过 siRNA 沉默 *CypD*可显著减轻 CSE 诱导的气道上皮细胞线粒体损伤并抑制细胞凋亡,同时提高了细胞活力。Chung 等^[57]发现,siRNA 对 *NLRP3* 的沉默会减少暴露于 CSE 和 PM_{2.5} 的人支气管上皮细胞的焦亡并恢复细胞活力。Zou 等^[58]发现, *Wnt5a* siRNA 可以阻断 *Wnt5a*/JNK/NF- κ B 通路并减少小鼠气道平滑肌细胞中 ECM 成分的生成和白介素的分泌,以抑制 PM_{2.5} 对气道平滑肌细胞纤维化和炎症的影响,从而缓解 COPD 期间肺部炎症因子表达和胶原沉积。热依拉·牙合甫等^[59]研究发现,通过 siRNA 抑制肺组织 *HMGB1* 表达可下调 NF- κ B 信号通路活性,减轻 CSE 诱导的 COPD 小鼠肺部炎症反应及 EMT 进而延缓疾病进展。除了针对炎症反应和 ECM 胶原成分的抑制外,Han 等^[60]发现,COPD 的发病机制和进展与细胞衰老密切相关,他们设计并合成了 *FOXO4* siRNA,并通过自组装 DNA 纳米管进行给药,以敲低衰老成纤维细胞中的 *FOXO4*。研究表明,*FOXO4* 的沉默同时降低了 *BCLXL* 的表达和 *BCL2*/*BAX* 比率,能够选择性清除衰老的成纤维细胞,达到治疗 COPD 的效果。Wei 等^[61]提出,通过 siRNA 抑制 *OMA1* 能够挽救由甲型流感病毒感染引起的 COPD 支气管上皮细胞的能量衰竭,与褪黑素联合应用可改善 COPD 的临床预后。

COPD 的发病受多种内外因素影响,其病理机制的复杂性决定了临床治疗策略的多样性。siRNA 药物作为一种新型的 RNA 治疗策略,为 COPD 的治疗提供了新的思路和手段。

新型递送系统提高 siRNA 药物在肺损伤治疗中的实际效用 将药物高效精准地输送至相应的作用部位是确保其正常发挥作用的前提条件。目

前,临床上主要以吸入的方式将 siRNA 药物直接输送至肺部,以减少被血液中的血清核酸酶降解的可能性,从而提高药物的稳定性、生物利用度并最大限度地减少不良反应^[62]。肺作为人体与外界接触的重要器官,具有可抵御侵害的细胞外屏障和细胞内屏障,从鼻腔到肺泡的 23 组支气管是 siRNA 药物通过肺部途径输送需要突破的首道细胞外屏障^[63]。对于纳米脂质体包载的 siRNA,粒径过小的颗粒会因呼吸提前排出而无法沉积,而粒径过大则会沉积在上呼吸道而难以排出。粒径 100~200 nm 是通过肺部途径输送纳米脂质体包载的 siRNA 药物的最佳选择,这一粒径可有效促进药物在肺泡区域的沉积^[64]并迅速渗透到呼吸系统的黏液中,以避免其由于黏液吸附和聚集后随纤毛运动而被清除^[65]。在成功沉积到肺泡区域后,如何透过细胞膜进入细胞内部是 siRNA 药物设计中需要考虑的第二个问题。siRNA 通常带有负电荷且分子量较大,因此,需要借助阳离子载体,通过载体与细胞膜的相互作用,以内吞的方式进入细胞。进入细胞后,siRNA 还需要从内涵体逃逸到细胞质中,才能发挥沉默靶基因 mRNA 的功能^[66]。因此,siRNA 药物开发的关键不仅在于靶点的选择和 siRNA 修饰,还包括精准高效的递送系统,以确保 siRNA 能够成功输送至作用部位。

腺病毒、腺相关病毒和逆转录病毒都是基因疗法中的常用载体,但由于细胞毒性、高免疫原性和潜在致癌性等缺点的限制^[67],很少应用于肺损伤的治疗。脂质类载体是肺损伤治疗中常见的 siRNA 载体,也被认为是最具潜力的 siRNA 递送纳米载体^[68]。带有正电荷的脂质与核酸的多负电性结合,通过静电相互作用形成直径为 50~200 nm 的脂质体,易于制备的同时也可保护 siRNA 免受核酸酶的降解和肾脏的清除,具有较高的转染效率^[69]。Zhao 等^[70]合成了 28 种带有不同支链长度的脂质,将其与磷脂、胆固醇、聚乙二醇混合形成具有低多分散性、高封装率和低细胞毒性的脂质纳米颗粒(lipid nanoparticles,LNP),并将巨噬细胞特异性抗体 F4/80 缀合到 LNP 表面以提高载体对巨噬细胞的靶向性。体内外实验结果显示,包载了 *TAK1* siRNA 的复合 LNP 经鼻腔给药可以高效地靶向巨噬细胞并显著改善流感引起的肺损伤。

与脂质体类似,阳离子聚合物同样也可以通过

静电吸附作用与 siRNA 自组装成纳米颗粒,但阳离子多聚体容易吸附带负电荷的黏蛋白和糖蛋白,导致堆积在黏液层且随纤毛运动而被清除^[71],因而需要更进一步的修饰。Li 等^[72]合成了多个黏端四面体骨架核酸与四重 *ccr2*-siRNA 结合以靶向 M1 巨噬细胞,成功阻断了 IPF 小鼠模型肺实质中巨噬细胞的聚集,从而阻止了成纤维细胞的活化并缓解疾病。Zhu 等^[73]将缀合多巴胺的透明质酸涂覆在包载 siRNA 的聚(β -氨基酯)载体上,多巴胺-透明质酸的电荷屏蔽效应以及透明质酸的生物黏附性质加强了载体的黏液渗透性。当靶向巨噬细胞后,载体释放 TNF- α siRNA 抑制细胞因子的同时,通过透明质酸的抗氧化能力清除广谱活性氧/氮,从而改善 ALI。Weng 等^[74]开发了一款含有支链聚乙烯亚胺(branched polyethyleneimine, bPEI)和聚(2-二乙氨基)甲基丙烯酸乙酯[poly(2-diethylamino) ethyl methacrylate, PDEA]的纳米级 Zr(IV)基卟啉金属有机骨架[Zr(IV)-based porphyrin metal-organic framework, ZPM]释放系统,用于递送 *ZEB1/2* siRNA。系统中的 bPEI 可提供强 siRNA 亲和力,ZPM 涂层则保护 siRNA 免受生理环境(pH=7.4)中的酶促降解并降低 bPEI 的细胞毒性。PDEA 在生理环境中聚集成疏水核心并在酸性环境中转变正电荷,当系统通过胞吞作用进入细胞后,可在胞吞/溶酶体的酸性环境下迅速质子化,促进内涵体逃逸和 siRNA 在胞质中释放,进而抑制 *ZEB1/2* 的表达以减轻 ALI 期间的早期 PF。Chen 等^[75]以阳离子水溶性柱芳烃(cationic water-soluble pillar arene, CWP)和甘露糖(mannose, Man)为改性剂合成多功能硒纳米酶(CWP-Se@Man),在电中性和靶向性共同驱动下,CWP-Se@Man 的黏液渗透能力提高了约 15 倍,从而有效穿透肺黏液层并将 *CCR2*-siRNA 递送到巨噬细胞中。

相比于脂质体和阳离子聚合物,多肽具有更低的生物毒性和更强的靶向性。Ge 等^[76]开发了一种胍基化和氟化的双功能螺旋多肽,通过气管插管给药,可以高效递送 TNF- α siRNA。该多肽载体借助胍基结构域和 α -螺旋,以突破黏液层和细胞膜的屏障使 siRNA 跨膜递送到巨噬细胞中。多肽的氟修饰能够有效防止多聚复合物表面吸附黏蛋白和糖蛋白,显著增强其黏液渗透能力。外泌体、单链抗体和核酸自组装体等纳米系统也逐渐被用于

siRNA 的递送^[77]。

在各类新型递送系统的辅助下,siRNA 药物可被高效输送至病灶,以更精准的方式调控靶基因,显著提高了 siRNA 药物治疗肺损伤中的临床应用可行性。新型递送系统还可同时搭载其他药物以配合 siRNA 的治疗效用,为肺损伤综合治疗策略提供了研究基础。

结语 肺损伤是一类复杂的疾病,其发病机制受到不同诱因的影响,现已发现大量相关调控基因。通过 RNAi 机制沉默关键基因能够有效缓解肺损伤症状并延缓病程进展,siRNA 药物可能成为肺损伤治疗研究中的重要突破口。

目前 siRNA 在肺损伤治疗领域的研究仍主要停留在细胞和动物模型的探索阶段,研究多聚焦于靶基因或发病机制,而非 siRNA 对于相关靶点的调控。鉴于人体肺部环境复杂,迫切需要开发高效低毒的递送系统,以确保 siRNA 能够成功递送至作用部位。未来的 siRNA 药物研发需要医学、生物学和材料科学等多学科的紧密融合。

作者贡献声明 刘福莉 文献检索和整理,论文构思、撰写和修订。胡寒冰 论文修订。申捷 论文构思和修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] JOHNSON ER, MATTHAY MA. Acute lung injury: epidemiology, pathogenesis, and treatment [J]. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 2010, 23(4): 243-252.
- [2] BELGRAD J, FAKIH HH, KHVOROVA A. Nucleic acid therapeutics: successes, milestones, and upcoming innovation [J]. *Nucleic Acid Ther*, 2024, 34(2): 52-72.
- [3] NAPPI F. Non-coding RNA-targeted therapy: a state-of-the-art review [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(7): 3630.
- [4] HU B, ZHONG L, WENG Y, et al. Therapeutic siRNA: state of the art [J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 101.
- [5] SETTEN RL, ROSSI JJ, HAN SP. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(6): 421-446.
- [6] ALSHAER W, ZUREIGAT H, KARAKI AAL, et al. SiRNA: mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 905: 174178.

- [7] SHEN W, DE HOYOS CL, MIGAWA MT, *et al.* Chemical modification of PS-ASO therapeutics reduces cellular protein-binding and improves the therapeutic index [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(6): 640-650.
- [8] AHN I, KANG CS, HAN J. Where should siRNAs go: applicable organs for siRNA drugs [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(7): 1283-1292.
- [9] CARTHEW RW, SONTHEIMER EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs [J]. *Cell*, 2009, 136(4): 642-655.
- [10] LAM JK, CHOW MY, ZHANG Y, *et al.* SiRNA versus miRNA as therapeutics for gene silencing [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2015, 4(9): e252.
- [11] ASHRAFIZADEH M, DELFI M, HASHEMI F, *et al.* Biomedical application of chitosan-based nanoscale delivery systems: potential usefulness in siRNA delivery for cancer therapy [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 260: 117809.
- [12] SAJID MI, MOAZZAM M, KATO S, *et al.* Overcoming barriers for siRNA therapeutics: from bench to bedside [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2020, 13(10): 294.
- [13] 张宏道,高世琦,吴立刚.小RNA药物研究进展与展望 [J]. *生命的化学*, 2024, 44(9): 1714-1727.
- [14] 虞娇娇,蔡栅愉,俞茂承,等.小干扰RNA药物在慢性病领域的研究新进展:从临床前到临床 [J]. *药学进展*, 2024, 48(8): 579-591.
- [15] 张从一,牧原,李振海,等.siRNA药物在肿瘤靶向治疗中的研究进展 [J]. *药学进展*, 2024, 48(7): 548-560.
- [16] 牛宁奎,马涛,王自立,等.异烟肼、利福平、吡嗪酰胺三联抗结核药/表皮转化生长因子- β 1 siRNA纳米脂质体体外细胞毒性作用及机制研究 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2018, 18(6): 592-598.
- [17] LONG ME, MALLAMPALLI RK, HOROWITZ JC. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2022, 136(10): 747-769.
- [18] 宋凯,湛立娜,章静,等.脓毒症肺损伤相关信号转导通路研究进展 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2023, 29(6): 854-858.
- [19] JIANG J, HUANG K, XU S, *et al.* Targeting NOX4 alleviates sepsis-induced acute lung injury via attenuation of redox-sensitive activation of CaMKII/ERK1/2/MLCK and endothelial cell barrier dysfunction [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101638.
- [20] CAI W, SHEN K, JI P, *et al.* The Notch pathway attenuates burn-induced acute lung injury in rats by repressing reactive oxygen species [J]. *Burns Trauma*, 2022, 10: tkac008.
- [21] MILLAR MW, FAZAL F, RAHMAN A. Therapeutic targeting of NF- κ B in acute lung injury: a double-edged sword [J]. *Cells*, 2022, 11(20): 3317.
- [22] 李丛锋,朱光发,王君,等.针对核因子- κ B小干扰RNA防治脓毒症急性肺损伤的实验研究 [J]. *心肺血管病杂志*, 2012, 31(3): 333-337.
- [23] CHEN X, ZHAO Y, WANG X, *et al.* FAK mediates LPS-induced inflammatory lung injury through interacting TAK1 and activating TAK1-NF κ B pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 589.
- [24] QU L, LI Y, CHEN C, *et al.* Caveolin-1 identified as a key mediator of acute lung injury using bioinformatics and functional research [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(8): 686.
- [25] HUANG C, YOU Q, XU J, *et al.* An mTOR siRNA-loaded spermidine/DNA tetrahedron nanoplatfrom with a synergistic anti-inflammatory effect on acute lung injury [J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11(11): e2200008.
- [26] CHEN Y, WANG L, LIU M, *et al.* Mechanism of exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells on sepsis-induced acute lung injury by promoting TGF- β secretion in macrophages [J]. *Surgery*, 2023, 174(5): 1208-1219.
- [27] WU X, LUO Y, WANG S, *et al.* AKAP12 ameliorates liver injury via targeting PI3K/AKT/PCSK6 pathway [J]. *Redox Biol*, 2022, 53: 102328.
- [28] HU X, ZOU M, ZHENG W, *et al.* Bhlhe40 deficiency attenuates LPS-induced acute lung injury through preventing macrophage pyroptosis [J]. *Respir Res*, 2024, 25(1): 100.
- [29] LIANG L, XU W, SHEN A, *et al.* Inhibition of YAP1 activity ameliorates acute lung injury through promotion of M2 macrophage polarization [J]. *MedComm (2020)*, 2023, 4(3): e293.
- [30] LIU J, YAO S, JIA J, *et al.* Loss of MBD2 ameliorates LPS-induced alveolar epithelial cell apoptosis and ALI in mice via modulating intracellular zinc homeostasis [J]. *FASEB J*, 2022, 36(2): e22162.
- [31] LIU C, XU J, FAN J, *et al.* DPP-4 exacerbates LPS-induced endothelial cells inflammation via integrin- α 5 β 1/FAK/AKT signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2024, 435(1): 113909.
- [32] 尹成胜,徐作军.间质性肺疾病研究进展 [J]. *中国实用内科杂志*, 2024, 44(6): 441-445, 456.
- [33] 邓玲玲,欧阳博书,魏颖,等.上皮间质转化在特发性肺纤维化及其信号通路中的研究进展 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2022, 49(4): 614-619, 627.
- [34] QIU C, ZHAO Z, XU C, *et al.* Nebulized milk exosomes loaded with siTGF- β 1 ameliorate pulmonary fibrosis by inhibiting EMT pathway and enhancing collagen permeability [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 434.

- [35] CAO X, YU C, CHENG S, *et al.* Co-delivery of astaxanthin and siTGF- β 1 *via* ionizable liposome nanoparticles for improved idiopathic pulmonary fibrosis therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2024, 16 (16) : 20260-20272.
- [36] 周森,李风雷,张海龙,等.HOXB7在特发性肺纤维化中抗纤维化的作用[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(24) : 4037-4041.
- [37] 李昊,张林凯,张晶. 凋亡抑制蛋白 c-FLIP(L)调控肺纤维化过程的机制[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(9) : 1310-1314, 1341.
- [38] CHENG D, WANG Y, LI Z, *et al.* Liposomal UHRF1 siRNA shows lung fibrosis treatment potential through regulation of fibroblast activation [J]. *JCI Insight*, 2022, 7 (22) : e162831.
- [39] HU Y, WANG Q, YU J, *et al.* Tartrate-resistant acid phosphatase 5 promotes pulmonary fibrosis by modulating β -catenin signaling [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1) : 114.
- [40] DING H, CHEN J, QIN J, *et al.* TGF- β -induced α -SMA expression is mediated by C/EBP β acetylation in human alveolar epithelial cells [J]. *Mol Med*, 2021, 27(1) : 22.
- [41] CHENG D, LI Z, WANG Y, *et al.* Targeted delivery of ZNF416 siRNA-loaded liposomes attenuates experimental pulmonary fibrosis [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1) : 523.
- [42] WANG QR, LIU SS, MIN JL, *et al.* CCL17 drives fibroblast activation in the progression of pulmonary fibrosis by enhancing the TGF- β /Smad signaling [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 210 : 115475.
- [43] 皮定南,莫碧文.M2型巨噬细胞在肺纤维化中的相关研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2023, 16(3) : 291-294.
- [44] WANG Y, ZHANG L, WU GR, *et al.* MBD2 serves as a viable target against pulmonary fibrosis by inhibiting macrophage M2 program [J]. *Sci Adv*, 2021, 7 (1) : eabb6075.
- [45] LUO Q, DENG D, LI Y, *et al.* TREM2 insufficiency protects against pulmonary fibrosis by inhibiting M2 macrophage polarization [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118 : 110070.
- [46] YAN L, HOU C, LIU J, *et al.* Local administration of liposomal-based Plekhf1 gene therapy attenuates pulmonary fibrosis by modulating macrophage polarization [J]. *Sci China Life Sci*, 2023, 66(11) : 2571-2586.
- [47] 张元元,薄存香,张放. 肺泡巨噬细胞在矽肺发病机制中的研究进展[J]. *中国职业医学*, 2020, 47(1) : 109-113.
- [48] HAO X, JIN Y, ZHANG Y, *et al.* Inhibition of oncogenic src ameliorates silica-induced pulmonary fibrosis via PI3K/AKT pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(1) : 774.
- [49] ZHAO Y, QI Y, XIA J, *et al.* The role of the PI3K/AKT/mTOR pathway in mediating PD-L1 upregulation during fibroblast transdifferentiation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 142(Pt B) : 113186.
- [50] WANG Y, CHENG D, LI Z, *et al.* IL33-mediated NPM1 promotes fibroblast-to-myofibroblast transition via ERK/AP-1 signaling in silica-induced pulmonary fibrosis [J]. *Toxicol Sci*, 2023, 195(1) : 71-86.
- [51] ZHOU X, ZHANG C, YANG S, *et al.* Macrophage-derived MMP12 promotes fibrosis through sustained damage to endothelial cells [J]. *J Hazard Mater*, 2024, 461 : 132733.
- [52] 胡淑婷,陈海杰,张静. 基于合并症的住院慢性阻塞性肺疾病患者死亡风险预测模型及验证[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2024, 16(6) : 24-30.
- [53] MEI D, TAN WSD, TAY Y, *et al.* Therapeutic RNA strategies for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41(7) : 475-486.
- [54] BIGOT P, CHESSERON S, SAIDI A, *et al.* Cleavage of occludin by cigarette smoke-elicited cathepsin S increases permeability of lung epithelial cells [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 12(1) : 5.
- [55] WANG Z, LIANG W, MA C, *et al.* Macrophages inhibit ciliary protein levels by secreting BMP-2 leading to airway epithelial remodeling under cigarette smoke exposure [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8 : 663987.
- [56] ZHANG R, SHAN H, LI Y, *et al.* Cyclophilin D contributes to airway epithelial mitochondrial damage in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Lung*, 2023, 201 (3) : 287-295.
- [57] CHUNG C, PARK SY, HUH JY, *et al.* Fine particulate matter aggravates smoking induced lung injury *via* NLRP3/caspase-1 pathway in COPD [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2024, 21(1) : 13.
- [58] ZOU W, LIU S, YE D, *et al.* PM2.5 induces lung inflammation and fibrosis *via* airway smooth muscle cell expression of the Wnt5a/JNK pathway [J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(11) : 6094-6105.
- [59] 热依拉·牙合甫,买热木古·阿不都热依木,王琴,等. 下调 HMGB1 表达通过抑制炎症反应与上皮间质转化改善慢性阻塞性肺疾病小鼠疾病进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2022, 38(8) : 685-691.
- [60] HAN Y, WU Y, HE B, *et al.* DNA nanoparticles targeting FOXO4 selectively eliminate cigarette smoke-induced senescent lung fibroblasts [J]. *Nanoscale Adv*, 2023, 5(21) : 5965-5973.
- [61] WEI YY, YE JJ, ZHANG DW, *et al.* Melatonin rescues influenza a virus-induced cellular energy exhaustion *via* OMA1-OPA1-S in acute exacerbation of COPD [J]. *J*

- Pineal Res*, 2024, 76(5):e12991.
- [62] SAW PE, SONG EW. SiRNA therapeutics: a clinical reality[J].*Sci China Life Sci*, 2020, 63(4): 485-500.
- [63] AHOOKHOSH K, POURMEHRAN O, AMNFAR H, *et al.* Development of human respiratory airway models: a review[J].*Eur J Pharm Sci*, 2020, 145: 105233.
- [64] ZOULIKHA M, XIAO Q, BOAFO GF, *et al.* Pulmonary delivery of siRNA against acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J].*Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(2): 600-620.
- [65] SCHUSTER BS, SUK JS, WOODWORTH GF, *et al.* Nanoparticle diffusion in respiratory mucus from humans without lung disease[J].*Biomaterials*, 2013, 34(13): 3439-3446.
- [66] SUBHAN MA, TORCHILIN VP. SiRNA based drug design, quality, delivery and clinical translation [J].*Nanomedicine*, 2020, 29: 102239.
- [67] DAVID RM, DOHERTY AT. Viral vectors: the road to reducing genotoxicity [J].*Toxicol Sci*, 2017, 155(2): 315-325.
- [68] LIU Q, GUAN J, QIN L, *et al.* Physicochemical properties affecting the fate of nanoparticles in pulmonary drug delivery[J].*Drug Discov Today*, 2020, 25(1): 150-159.
- [69] KIM B, PARK JH, SAILOR MJ. Rekindling RNAi therapy: materials design requirements for *in vivo* siRNA delivery[J].*Adv Mater*, 2019, 31(49): e1903637.
- [70] ZHAO G, XUE L, GEISLER HC, *et al.* Precision treatment of viral pneumonia through macrophage-targeted lipid nanoparticle delivery[J].*Proc Natl Acad Sci U S A*, 2024, 121(7): e2314747121.
- [71] ENSIGN LM, SCHNEIDER C, SUK JS, *et al.* Mucus penetrating nanoparticles: biophysical tool and method of drug and gene delivery[J].*Adv Mater*, 2012, 24(28): 3887-3894.
- [72] LI C, FENG X, LI S, *et al.* Tetrahedral DNA loaded siCCR2 restrains M1 macrophage polarization to ameliorate pulmonary fibrosis in chemoradiation-induced murine model[J].*Mol Ther*, 2024, 32(3): 766-782.
- [73] ZHU J, GUO M, CUI Y, *et al.* Surface coating of pulmonary siRNA delivery vectors enabling mucus penetration, cell targeting, and intracellular radical scavenging for enhanced acute lung injury therapy[J].*ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(4): 5090-5100.
- [74] WENG C, LI G, ZHANG D, *et al.* Nanoscale porphyrin metal-organic frameworks deliver siRNA for alleviating early pulmonary fibrosis in acute lung injury [J].*Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 939312.
- [75] CHEN X, YANG Y, MAI Q, *et al.* Pillar arene Se nanozyme therapeutic systems with dual drive power effectively penetrated mucus layer combined therapy acute lung injury[J].*Biomaterials*, 2024, 304: 122384.
- [76] GE C, YANG J, DUAN S, *et al.* Fluorinated α -Helical polypeptides synchronize mucus permeation and cell Penetration toward highly efficient pulmonary siRNA delivery against acute lung injury [J].*Nano Lett*, 2020, 20(3): 1738-1746.
- [77] 张琼丹, 陈朝霞, 李芾瑶, 等. siRNA纳米递送系统研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(6): 1018-1035.

(收稿日期: 2024-11-06; 编辑: 段佳)