·综 述·

小干扰 RNA 递送系统和化学修饰的研究进展

赵晓东[1,2]，陈华英[2]，陈 涛[1,2]，张燕媚[1,3]，李 华[2*]
（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203；
3. 深圳市益诺思生物医药安全评价研究院有限公司，广东深圳 518000）

摘要：2018 年美国 FDA 批准首个小干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）药物 patisiran，标志着 RNA 干扰疗法进入一个新时代。siRNA 凭借独特的成药优势，近些年发展迅速。目前已有 5 款 siRNA 药物获 FDA 批准上市。然而，其在治疗应用中的靶向性和疗效方面仍存诸多问题。为开发出具有更多潜在价值的新产品，有必要深入探讨 siRNA 药物研发现状。该文综述 siRNA 在成药方面的优势与阻碍，重点讨论 siRNA 药物的化学修饰策略和递送系统的研究进展。以期为后续研究提供参考。

关键词：小干扰 RNA；RNA 干扰；递送系统；化学修饰
中图分类号：R91 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2024）07-0786-008
引用：赵晓东, 陈华英, 陈涛, 等. 小干扰RNA递送系统和化学修饰的研究进展[J]. 世界临床药物, 2024, 45(7): 786-793. DOI：10.13683/j.wph.2024.07.015

Research progress of small interfering RNA delivery system and chemical modification

ZHAO Xiaodong[1,2], CHEN Huaying[2], CHEN Tao[1,2], ZHANG Yanmei[1,3], LI Hua[2*]
(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Innostar Biotech CO., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. Shenzhen Innostar Institute of Biomedical Safety Evaluation and Research Co., Ltd., Shenzhen 518000, Guangdong Province, China*)

Abstract: In 2018, the U.S. FDA approved the first small interfering RNA (siRNA) drug Patisiran, marking a brand-new era for RNA interference therapy. siRNA has developed rapidly in recent years due to its unique drug-forming advantages. Five siRNA drugs have been approved for marketing by the FDA. However, there are still many problems in targeting and efficacy in therapeutic applications. In order to develop new products with more potential value, it is necessary to deeply explore the current status of siRNA drug discovery and development. This article reviewed the advantages and hindrances of siRNA in drug discovery, focused on the research progress of chemical modification strategies and delivery systems of siRNA drugs, in order to provide a reference for the subsequent research.

Key words: small interfering RNA; RNA interference; delivery system; chemical modification

RNA 干扰（RNA interference，RNAi）是指内源性或外源性双链 RNA 介导的细胞内信使 RNA（messenger RNA，mRNA）发生特异性降解，从而导致靶基因的表达沉默，产生相应的功能表型缺失现象[1]。RNAi 在生物生命活动中广泛存在，是一种由 RNA 介导的天然基因调控过程。人工合成的小干扰 RNA（small interfering RNA，siRNA）是模拟细胞内的双链 RNA 专一性 RNA 内切酶（Dicer 酶）将外源性双链 RNA 切割的产物，通常由 2 条寡核苷酸链组成[2]。进入血液循环后，合成的 siRNA 进入靶细胞，然后从核内体逃逸至胞质

收稿日期：2023-12-18
作者简介：赵晓东，硕士研究生，研究方向：药物毒理。
通信作者：李华，博士，研究员，研究方向：药物毒理。

中，与 RNA 诱导沉默复合物（RNA induced silencing complex，RISC）结合。随后 AGO 蛋白家族成员识别并选择反义链。值得一提的是，尽管目前已鉴定出 4 种 AGO 蛋白，但在人类中仅 AGO2 具有催化活性[3]。siRNA 双链在 RISC 复合体中分离，正义链被降解，反义链保留下来作为引导，与目标 mRNA 序列特异性结合[4]。在结合后，RISC 中的 AGO 会切割特定靶基因 mRNA，并阻断体内基因表达[5]。

siRNA 虽有成药优势，但要将其运输到靶细胞内与靶基因特异性结合依旧具有一定难度。siRNA 需跨越大量细胞内、外屏障。在细胞外，未修饰的 siRNA 易被核酸酶降解[6]。此外，siRNA 本身带负电荷且具高亲水性，这使其无法通过生物膜。同时，siRNA 药物作为人工合成产物还会激活 Toll 样受体引发免疫反应[7]。在细胞内，siRNA 进入细胞后，主要障碍之一就是其无法逃离核内体。此外，即便 siRNA 从核内体逃逸出来，在寻找靶基因降解过程中可能会发生脱靶效应。目前，研究人员主要通过化学修饰及递送载体这 2 种方法提高 siRNA 的成药性。本文综述 siRNA 在成药方面的优势及阻碍，重点讨论 siRNA 药物的化学修饰策略和递送系统的研究进展，以期为后续研究提供参考。

1 化学修饰

siRNA 药物的化学修饰能提高其效率和特异性，并降低脱靶毒性及免疫原性。根据核苷酸的自然结构，化学修饰可分为磷酸骨架修饰、核糖修饰及碱基修饰 3 种不同类型[8]。

1.1 磷酸骨架修饰

硫代磷酸酯（phosphorothioate，PS）是目前最常用的磷酸骨架修饰。由于 PS 的负电荷能降低 RNA 双链的熔解温度，适当的 PS 修饰不仅可增强 siRNA 药物对核酸酶降解的抵抗力，还可增加其疏水性，并促进其与载体血浆蛋白的结合，延长半衰期[9]。然而，由于 PS 与某些阳离子蛋白的非特异性结合会导致细胞应激反应，诱导凋亡，具体表现为注射部位反应及肝转氨酶水平升高[10]。仅做 PS 修饰的 siRNA 药物生物分布主要聚集在肝脏和肾脏，这与未修饰的 siRNA 药物相同[11]。

1.2 核糖修饰

核糖修饰常用方法为在 2- 羟基位置引入氟、甲氧基及甲氧乙基等取代基，以提高 siRNA 药物的亲和力，增强其对核酸酶的抗性，从而提高血浆稳定性[12]。近来，研究人员设计了一种双核糖修饰策略，包括 2', 4'- 和 2', 5'- 修饰以及 5'-E/Z- 乙烯基膦酸酯和北甲基碳环修饰，这些修饰能增强 siRNA 药物对核酸酶的抗性，提高基因沉默效率及热稳定性，增加组织积累[13]，从而以较低剂量达到治疗效果。这为 siRNA 药物中使用核糖修饰提供新的思路。

1.3 碱基修饰

目前，碱基修饰在 siRNA 药物修饰中并未广泛应用，尚处研究阶段。碱基修饰作为一种调节双链相互作用的修饰方法，有助于反义链与 RISC 的结合，且能抑制免疫反应[14]。使用伪尿嘧啶、2'- 硫尿嘧啶、二氢尿嘧啶及次黄嘌呤等其他尿嘧啶和胞苷残基的碱基类似物取代核苷酸碱基，可增强互补核苷酸之间氢键，从而提高热稳定性，但同时会降低 RNAi 效率，且无法增强其对核酸酶的抗性[15]。此外，由于非自然残留的安全性尚不清楚，故常使用 5- 甲基胞嘧啶或 N_6- 甲基腺嘌呤这种自然产生的碱基结构[8]。研究表明，以 N_6- 甲基腺嘌呤替代所有的腺苷能逃避针对 siRNA 的免疫反应，且不降低 RNAi 活性[16]。

2 递送系统

递送载体可将 siRNA 递送到目标位置。最佳的 siRNA 传递载体应该有能力保护 siRNA 免于降解，并能穿透目标组织、细胞，促进 siRNA 核内体逃逸，且不会引起有害的免疫反应或其他不良影响[17]。

2.1 *N*- 乙酰半乳糖胺（*N*-acetylgalactosamine，GalNAc）

GalNAc 是目前最具优势的递送载体，并已在

多种药物中得到应用。GalNAc 是一种碳水化合物衍生的 3 价配体，可结合抗去唾液酸糖蛋白受体（asialoglycoprotein receptor，ASGPR），以共价形式偶联到 siRNA 正义链的 3' 末端形成稳定的偶联物。ASGPR 是一种理想的活性靶向受体，在肝细胞上高表达。此外，GalNAc 分子量＜ 2 kDa、毒性小、可自行皮下给药，这些特性使其成为理想的靶向配体。有研究表明，GalNAc-siRNA 的药代动力学特性具有良好的可预测性 [18]。此外，Boianelli 等 [19] 汇总 11 种 GalNAc-siRNA 药物在不同物种中的时程生物标志物数据，并应用动力学 - 药效学模型方法估算半衰期和药效，结果显示，小鼠的肝脏半衰期为 0.6 ～ 3 周，猴子为 1 ～ 8 周，人类为 1.5 ～ 14 周。

关于 GalNAc-siRNA 药物的安全性，Janas 等 [20] 发现，在肝脏、肾脏和淋巴结等组织中这些偶联物大多无不良反应，部分完全可逆。Sutherland 等 [21] 分别对 GalNAc-siRNA 药物的安全药理学、急性和重复给药毒性、遗传毒性和致癌性进行评估，结果发现，其具有良好的非临床安全性。目前已上市 GalNAc-siRNA 药物包括 givosiran、lumasiran、inclisiran 及 vutrisiran。GalNAc-siRNA 在血液循环中较少，绝大多数被肝脏快速吸收，少数分布于其他组织（如肾脏和淋巴结等），并通过核酸酶在肝脏或其他组织中代谢。其血液循环中主要消除途径是经肝脏迅速摄取后代谢，次要清除途径是通过肾脏清除 [22—25]。目前，进入临床研究的 GalNAc-siRNA 相较其他递送系统数量最多。

2.2 脂质纳米颗粒（lipid nanoparticles，LNP）

LNP 递送系统具有优异的生物相容性、安全性及生物降解性，且易于大规模制备，是合适的 siRNA 药物递送载体 [26]。用于 siRNA 的 LNP 主要由 4 部分组成，包括可离子化的阳离子脂质、辅助磷脂、胆固醇及聚乙二醇（polyethyleneglycol，PEG）脂质 [27]。可离子化的阳离子脂质结构影响 siRNA 的递送效率；辅助脂类有利于 LNP 的核内体逃逸；胆固醇通过填充辅助脂类间的空隙来调节膜的流动性并稳定 LNP 结构；PEG 脂质在调节 LNP 的生理学特性和理化性质方面起重要作用 [28]。研究人员通过优化 LNP 成分以达到最优递送效果。

Hirai 等 [29] 合成一种新型电荷可逆脂质衍生物二油酰甘油磷酸酯 - 二乙烯二胺偶联物（dioleoylglycerophosphate-diethylenediamine，DOP-DEDA），并发现 DOP-DEDA-LNP 对 Polo 样激酶 1mRNA 及其蛋白的表达具有强抑制作用。提示 DOP-DEDA-LNP 是一种高度稳定、有效的 siRNA 递送载体。Hashimoto 等 [30] 评估二棕榈酰磷脂酰胆碱（dipalmitoyl phosphatidyl choline，DPPC）和二氢鞘磷脂（dihydrosphingomyelin，DHSM）2 种不同辅助磷脂合成的 DOP-DEDA-LNP 对 siRNA 敲低效率的影响，结果发现，以 DHSM 为辅助磷脂的 DOP-DEDA-LNP siRNA 基因沉默效率为 60%，而 DPPC 较 DHSM 低 20%；此外 DHSM 和 DPPC 的解离常数亦不同，分别为 6.43 和 5.42。该研究提示对 LNP 进行修饰也可优化其传递效率。Kim 等 [31] 研发一种新型多聚组氨酸脂质纳米粒用于递送治疗性酰基鞘氨醇三己糖合成酶 siRNA，并发现其基因沉默程度较 LNP-siRNA 提高 6 倍，且具有优异的生物相容性。

Patisiran 是首个上市的 siRNA 药物，也是目前唯一以 LNP 为载体的的 siRNA 药物，主要用于治疗转甲状腺素相关淀粉样变性（polyneuropathy of hereditary transthyretinmediated amyloidosis，hATTR）。Patisiran 主要分布在肝脏，血浆蛋白结合率低（≤ 2.1%），大多被核酸酶代谢，仅不到 1% 的原形药物随尿液排出，其终末消除半衰期为（3.2±1.8）d [32]。Patisiran 的有效性和安全性已在临床研究中得到证实，其中较有代表性的是一项为期 18 个月的安慰剂对照研究 [33]，该研究证实 patisiran 可显著降低 hATTR 患者血清 TTR 水平，且安全性好。

2.3 外泌体

外泌体是由多种细胞分泌的天然纳米泡，亦是细

胞外囊泡家族中最小的成员，直径在 30 ～ 120 nm，通过核内体与质膜融合释放，不同细胞来源的外泌体携带的内容物不同，具备的生理功能亦不同 [34]。与其他纳米递送系统相比，外泌体具有更好的细胞穿透性、较低的毒性及免疫原性，同时相较于脂质体有更长的体循环时间 [35]。此外，外泌体能通过血脑屏障到达脑组织。近年来，研究人员利用这一特性来解决药物血脑屏障通透性低的问题。

Shan 等 [36] 制备一种基于功能化巨噬细胞外泌体的纳米给药系统，该系统能辅助帕比司他 (panobinostat) 通过血脑屏障以提升疗效。同样的，在一项治疗胶质母细胞瘤 (glioblastoma) 的研究中，Zhan 等 [37] 用外泌体介导的胞质磷脂酶 A2 siRNA-二甲双胍联合策略来调节胶质母细胞瘤能量代谢，并通过患者来源的异种移植物模型证实其可抑制肿瘤生长、延长生存期。外泌体载药系统为肿瘤及脑部疾病等多种疾病的治疗提供新思路 [38]。

外泌体对肿瘤具有定位能力，故而在抗肿瘤方面具有突出优势 [35]。外泌体介导的 siRNA 药物递送可有效抑制肿瘤细胞的增殖、迁移。Kaban 等 [39] 将 B 细胞淋巴瘤 (B-cell lymphoma，Bcl)-2 siRNA 加载至自然杀伤细胞来源的外泌体中，以治疗雌激素受体阳性乳腺癌 (breast cancer)，结果发现，其可促进乳腺癌细胞凋亡，并能有效降低肿瘤细胞的耐药性。Lin 等 [40] 利用 iRGD 修饰的外泌体将肉毒碱棕榈酰基转移酶 1A siRNA 特异性传递至结肠癌 (colon cancer) 细胞中抑制脂肪酸氧化，逆转奥沙利铂 (oxaliplatin) 的耐药性。

系统给药的外泌体可被免疫系统有效清除，在体循环中时间相对较短 [41]。为提高给药效率及准确性，达到良好疗效，外泌体的选择、治疗分子的加载方式以及外泌体的修饰是需要综合考虑的主要因素。目前，主要通过电穿孔法、化学转染法及超声法等途径将 siRNA 药物包载于其中，以获得一种安全、稳定以及具有高生物相容性的外泌体载药系统 [38]。不同的载药方法其装载效率有所不同。Warren 等 [42] 设计一种具有模块化表面可调性的高纯度牛奶来源外泌体 (milk exosomes，mExo)，并证实阳离子化学转染将 siRNA 加载至 mExo 中的效率高于电穿孔。对外泌体的修饰可解决其稳定性和靶向性问题。与未修饰的 mExo 相比，在 mExo 表面引入亲水性 PEG 涂层能减少 mExo 降解，且黏蛋白渗透性提高 3 倍以上 [42]。Liu 等 [43] 选择未成熟的树突状细胞来产生外泌体，通过将树突状细胞表达外泌体膜蛋白与 αV 整合素特异性 iRGD 肽融合，从转染的树突状细胞中分离 iRGD 靶向外泌体，然后通过电穿孔加载 Bcl-6 siRNA。结果表明，iRGD- 外泌体对 αVβ3 整合素阳性 OCI-Ly8 细胞表现出高靶向性。目前，已有以外泌体作为递送系统的 siRNA 药物进入临床研究阶段。

2.4 细胞穿透肽 (cell-penetrating peptides，CPP)

CPP 也被称为蛋白质转导结构域，是一种两性或阳离子多肽片段，通常有 5 ～ 30 个残基，由精氨酸和赖氨酸残基组成，可穿透细胞膜 [44]。未经修饰的肽常具有较高的肾清除率以及较短的半衰期，通过肝脏和脾脏中的网状内皮系统迅速从循环中清除，经肾小球过滤排出 [45]。故许多肽类药物在静脉注射后的半衰期仅几分钟。末端修饰是提高肽类药物稳定性的常用策略。CPP 的 *N* 端乙酰化和 *C* 端酰胺化常被用来提高稳定性，以对抗外肽酶的降解 [46]。*N* 端进行组氨酸修饰可增加核内体逃逸，提高递送效率。

Porosk 等 [47] 采用替换多肽 *C* 端氨基酸的策略设计一种 CPP-siRNA 复合物，以便将疏水性和亲水性氨基酸沿着 α- 螺旋投影分布到不同区域，结果发现，该递送载体可有效保护 siRNA 不被降解，并在哺乳动物细胞培养和小鼠模型中有效介导靶基因敲除。Liu 等 [48] 研究发现，当组氨酸在 *C* 端时，转染效果更好，且 2 个组氨酸优于 3 个组氨酸，为 CPP 递送载体的发展带来新的见解。

目前，尚无 CPP-siRNA 药物上市，但关于 CPP 递送的研究已在抑制肿瘤细胞增殖、迁移方面取得一定进展。Yang 等 [49] 成功合成一种 CPP 修饰的石墨烯纳米颗粒与 siRNA 偶联系统，通过抑制磷脂酰肌醇 3 激酶（phosphoinositide 3-kinase，PI3K）/ 蛋白激酶 B（protein kinase B，PKB）/ 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号，显著抑制三阴性乳腺癌细胞的体内生长。同样，一项关于三阴性乳腺癌的临床前研究显示，CPP 修饰的复合物还可保护 siRNA 免受核酸酶降解；同时，这些复合物通过协同抑制表皮生长因子受体 /PI3K/PKB 和溴结构域蛋白 4/c-Myc 途径，能显著抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、侵袭和迁移 [50]。

2.5 壳聚糖（chitosan，CS）

CS 是一种天然多糖，携带正电荷，可与带负电荷 siRNA 结合；此外，CS 纳米颗粒具有良好的生物相容性、生物降解性及持续给药等特性 [51]。小鼠静脉注射未改性 CS 纳米颗粒不会引起明显血流动力学改变，表明未改性 CS 悬液具有良好的耐受性 [52]。但 CS 纳米颗粒的水溶性及细胞渗透性较差，这限制了其在 siRNA 药物中的应用。

近年来，研究人员主要通过对 CS 纳米颗粒进行修饰来解决其水溶性和细胞渗透性差的问题。为提高 CS 纳米颗粒的稳定性，采用 PEG 对其进行修饰，所获的 PEG-CS-siRNA 药物能有效抑制乳腺癌细胞的生长、转移 [53]。此外，交联剂也被用于制备稳定的纳米颗粒，其中三聚磷酸盐、葡聚糖硫酸盐及聚 -*D*- 谷氨酸常被用于促进 CS 纳米颗粒的稳定性，以提高 CS 纳米颗粒在 siRNA 传递中的效率 [54]。对 CS 纳米颗粒进行表面修饰还可促进其细胞摄取和选择性。有研究表明，经透明质酸修饰的 CS 纳米颗粒作为 siRNA 递送和靶向载体，能有效地将 siRNA 传递到非小细胞肺癌（non-small cell lung carcinoma）病灶，从而通过下调 Bcl-2 抑制肿瘤生长 [55]。Luo 等 [56] 首次使用精氨酸对低分子量 CS 进行修饰，并将 siRNA 有效传递到白血病（leukemia）细胞。Khan 等 [57] 研发一种叶酸修饰的脂质 CS 混合纳米粒子，用于结肠癌中 5- 氟尿嘧啶（fluorouracil）的靶向输送，结果表明，叶酸修饰的脂质 CS 混合纳米粒子具有良好的稳定性及安全性，可作为一种潜在的递送系统用于肿瘤靶向治疗，并减少不良反应。此外，还可通过改变组装方法来提高 siRNA 的转染率，如 Shaabani 等 [58] 用一种逐层自组装的方法来制造 CS 包被的金纳米粒子作为 siRNA 递送系统。结果表明，其能为 siRNA 提供良好保护，防止酶降解，通过内吞作用确保细胞中的良好吸收，促进 siRNA 的核内体逃逸，并提高整体沉默效果。目前，尚无 CS-siRNA 药物上市，其 CS 载体尚处临床前研究阶段。

3 总结与展望

siRNA 可下调基因及其蛋白表达，从而治疗疾病。为更好地符合人体药代动力学特点，还需解决给药途径限制、核酸酶降解、肾脏清除及核内体逃逸等问题。此外，免疫激活和潜在的脱靶效应也会导致安全问题。通过对 siRNA 进行合理的结构设计或能有效克服上述困难。其中设计合适的递送系统，将 siRNA 传递到靶部位是 siRNA 疗法成功应用的先决条件。生物偶联物 GalNAc 已被证实是一种成功的递送策略，但其在用于非肝脏靶点和穿透特殊靶点的 siRNA 疗法方面仍然存在挑战。不过，其他递送系统正在对这些障碍进行探索研究。外泌体、CPP 和 CS 均在肝外传递表现出独特优势 [59—60]。研究人员利用 siRNA 药物与传统药物的显著差异可有针对性地选择治疗目标，并为一些罕见且尚无治疗药物的疾病研发治疗药物。虽然，直到目前 siRNA 药物仍未得到广泛应用，但处于研发阶段的 siRNA 药物为 RNAi 治疗提供更广泛的应用场景。例如，对于恶性肿瘤，siRNA 药物的关注度逐渐增加，尤其是已被证实传统化疗及小分子抑制剂难以治疗的恶性肿瘤。在临床实践中，部分 siRNA 药物已被证

实有效。虽然单一的 siRNA 药物可能不足以在实际的临床环境中治疗多种恶性肿瘤，但利用 siRNA 药物来抑制单个异常基因可能会大大减少肿瘤产生耐药性的风险。此外，随着研究的深入，有望实现 siRNA 药物向肝外递送。相信在不久的将来，随着技术地不断进步，siRNA 药物能为更多难治性疾病的治疗带来新的希望。

参考文献：

[1] Fire A, Xu S, Montgomery MK, *et al*. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 1998, 391(6669): 806-811.

[2] Raja MAG, Katas H, Amjad MW. Design, mechanism, delivery and therapeutics of canonical and Dicer-substrate siRNA[J]. Asian J Pharm Sci, 2019, 14(5): 497-510.

[3] Iwakawa HO, Tomari Y. Life of RISC: formation, action, and degradation of RNA-induced silencing complex[J]. Mol Cell, 2022, 82(1): 30-43.

[4] Sheu-Gruttadauria J, Macrae IJ. Structural foundations of RNA silencing by Argonaute[J]. J Mol Biol, 2017, 429(17): 2619-2639.

[5] Ryther RCC, Flynt AS, Phillips JA, *et al*. SiRNA therapeutics: big potential from small RNAs[J]. Gene Ther, 2005, 12(1): 5-11.

[6] Shegokar R, Shaal LA, Mishra PR. SiRNA delivery: challenges and role of carrier systems[J]. Pharmazie, 2011, 66(5): 313-318.

[7] Judge AD, Sood V, Shaw JR, *et al*. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA[J]. Nat Biotechnol, 2005, 23(4): 457-462.

[8] Hu B, Zhong LP, Weng YH, *et al*. Therapeutic siRNA: state of the art[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 101.

[9] Zhang MM, Bahal R, Rasmussen TP, *et al*. The growth of siRNA-based therapeutics: updated clinical studies[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 189: 114432.

[10] Biscans A, Caiazzi J, Davis S, *et al*. The chemical structure and phosphorothioate content of hydrophobically modified siRNAs impact extrahepatic distribution and efficacy[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(14): 7665-7680.

[11] Berk C, Civenni G, Wang YL, *et al*. Pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of full phosphorothioate small interfering RNAs for gene silencing *in vivo*[J]. Nucleic Acid Ther, 2021, 31(3): 237-244.

[12] 李倩, 陈锐, 胡蓓. 小干扰 RNA(siRNA) 药物药代动力学特征及生理药代动力学建模现状 [J]. 药学学报, 2022, 57(10): 3146-3156.

[13] Gangopadhyay S, Gore KR. Advances in siRNA therapeutics and synergistic effect on siRNA activity using emerging dual ribose modifications[J]. RNA Biol, 2022, 19(1): 452-467.

[14] Zhou C, Chattopadhyaya J. Challenges in the chemistry of small interfering RNA as potential therapeutics to inhibit cellular mRNA expression[J]. Reference Module Chem Mol Sci Chem Eng, 2013, doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.05337-3.

[15] Chernikov IV, Vlassov VV, Chernolovskaya EL. Current development of siRNA bioconjugates: from research to the clinic[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 444.

[16] Imaeda A, Tomoike F, Hayakawa M, *et al*. N_6-methyl adenosine in siRNA evades immune response without reducing RNAi activity[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2019, 38(12): 972-979.

[17] 王菲菲, 符合, 任进, 等. siRNA 药物研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31(5): 427-434.

[18] McDougall R, Ramsden D, Agarwal S, *et al*. The nonclinical disposition and pharmacokinetic/pharmacodynamic properties of *N*-acetylgalactosamine-conjugated small interfering RNA are highly predictable and build confidence in translation to human[J]. Drug Metab Dispos, 2022, 50(6): 781-797.

[19] Boianelli A, Aoki Y, Ivanov M, *et al*. Cross-species translation of biophase half-life and potency of GalNAc-conjugated siRNAs[J]. Nucleic Acid Ther, 2022, 32(6): 507-512.

[20] Janas MM, Harbison CE, Perry VK, *et al*. The nonclinical safety profile of GalNAc-conjugated RNAi therapeutics in subacute studies[J]. Toxicol Pathol, 2018, 46(7): 735-745.

[21] Sutherland JE, Hettinger JL, Chan A, *et al*. Nonclinical safety profile of revusiran, a 1st-generation GalNAc-siRNA conjugate for treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis[J]. Nucleic Acid Ther, 2020, 30(1): 33-49.

[22] Scott LJ. Givosiran: first approval[J]. Drugs, 2020, 80(3): 335-339.

[23] Scott LJ, Keam SJ. Lumasiran: first approval[J]. Drugs, 2021, 81(2): 277-282.

[24] Lamb YN. Inclisiran: first approval[J]. Drugs, 2021, 81(3): 389-395.

[25] Keam SJ. Vutrisiran: first approval[J]. Drugs, 2022, 82(13): 1419-1425.

[26] Yonezawa S, Koide H, Asai T. Recent advances in siRNA delivery mediated by lipid-based nanoparticles[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2020, (154-155): 64-78.

[27] Albertsen CH, Kulkarni JA, 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.

[28] 赵雅楠, 何伟, 邵泉林, 等. 可电离脂质纳米粒用于siRNA递送的研究进展[J]. 药学学报, 2023, 58(8): 2292-2299.

[29] Hirai Y, Saeki R, Song F, *et al*. Charge-reversible lipid derivative: a novel type of pH-responsive lipid for nanoparticle-mediated siRNA delivery[J]. Int J Pharm, 2020, 585: 119479.

[30] Hashimoto M, Yonezawa S, Furan S, *et al*. Increasing the siRNA knockdown efficiency of lipid nanoparticles by morphological transformation with the use of dihydrosphingomyelin as a helper lipid[J]. Biomater Sci, 2023, 11(9): 3269-3277.

[31] Kim IG, Jung WH, You G, *et al*. Efficient delivery of globotriaosylceramide synthase siRNA using polyhistidine-incorporated lipid nanoparticles[J]. Macromol Biosci, 2023, 23(4): e2200423.

[32] Food and Drug Administration. FDA drug approvals and databases[EB/OL]. [2023-06-03]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/210922s000lbl.pdf.

[33] Adams D, Gonzalez-Duarte A, O'riordan WD, *et al*. Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis[J]. N Engl J Med, 2018, 379(1): 11-21.

[34] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(2): 193-208.

[35] Kim H, Jang H, Cho H, *et al*. Recent advances in exosome-based drug delivery for cancer therapy[J]. Cancers(Basel), 2021, 13(17): 4435.

[36] Shan S, Chen J, Sun Y, *et al*. Functionalized macrophage exosomes with panobinostat and PPM1D-siRNA for diffuse intrinsic pontine gliomas therapy[J]. Adv Sci(Weinh), 2022, 9(21): e2200353.

[37] Zhan Q, Yi KK, Cui XT, *et al*. Blood exosomes-based targeted delivery of cPLA2 siRNA and metformin to modulate glioblastoma energy metabolism for tailoring personalized therapy[J]. Neuro Oncol, 2022, 24(11): 1871-1883.

[38] 文武龙, 张炜烨, 张筠昊, 等. 外泌体载药系统的研究进展[J]. 中国药房, 2023, 34(10): 1271-1275.

[39] Kaban K, Hinterleitner C, Zhou Y, *et al*. Therapeutic silencing of Bcl-2 using NK cell-derived exosomes as a novel therapeutic approach in breast cancer[J]. Cancers(Basel), 2021, 13(10): 2397.

[40] Lin D, Zhang H, Liu R, *et al*. IRGD-modified exosomes effectively deliver CPT1A siRNA to colon cancer cells, reversing oxaliplatin resistance by regulating fatty acid oxidation[J]. Mol Oncol, 2021, 15(12): 3430-3446.

[41] Roy A, As SG, Ganesh PS, *et al*. Exosome mediated cancer therapeutic approach:present status and future prospectives[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2023, 24(2): 363-373.

[42] Warren MR, Zhang CZ, Vedadghavami A, *et al*. Milk exosomes with enhanced mucus penetrability for oral delivery of siRNA[J]. Biomater Sci, 2021, 9(12): 4260-4277.

[43] Liu QH, Dai GR, Wu Y, *et al*. IRGD-modified exosomes-delivered Bcl6 siRNA inhibit the progression of diffuse large B-cell lymphoma[J]. Front Oncol, 2022, 12: 822805.

[44] Zorko M, Langel Ü. Cell-penetrating peptides[J]. Methods Mol Biol, 2022, 2383: 3-32.

[45] Di L. Strategic approaches to optimizing peptide ADME properties[J]. AAPS J, 2015, 17(1): 134-143.

[46] Kim GC, Cheon DH, Lee Y. Challenge to overcome current limitations of cell-penetrating peptides[J]. Biochim Biophys Acta Proteins Proteom, 2021, 1869(4): 140604.

[47] Porosk L, Arukuusk P, Põhako K, *et al*. Enhancement of siRNA transfection by the optimization of fatty acid length and histidine content in the CPP[J]. Biomater Sci, 2019, 7(10): 4363-4374.

[48] Liu Y, Wan HH, Tian DM, *et al*. Development and characterization of high efficacy cell-penetrating peptide via modulation of the histidine and arginine ratio for gene therapy[J]. Materials (Basel), 2021, 14(16): 4674.

[49] Yang YY, Zhang W, Liu H, *et al*. Cell-penetrating peptide-

modified graphene oxide nanoparticles loaded with rictor sirna for the treatment of triple-negative breast cancer[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 4961-4972.

[50] Zhang C, Yuan W, Wu Y, *et al*. Co-delivery of EGFR and BRD4 siRNA by cell-penetrating peptides-modified redox-responsive complex in triple negative breast cancer cells[J]. Life Sci, 2021, 266: 118886.

[51] Bashir SM, Rather GA, Patrício A, *et al*. Chitosan nanoparticles: a versatile platform for biomedical applications[J]. Materials (Basel), 2022, 15(19): 6521.

[52] Sonin D, Pochkaeva E, Zhuravskii S, *et al*. Biological safety and biodistribution of chitosan nanoparticles[J]. Nanomaterials (Basel), 2020, 10(4): 810.

[53] Sun P, Huang W, Jin MJ, *et al*. Chitosan-based nanoparticles for survivin targeted siRNA delivery in breast tumor therapy and preventing its metastasis[J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 4931-4945.

[54] 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.

[55] Zhang WH, Xu WH, Lan Y, *et al*. Antitumor effect of hyaluronic-acid-modified chitosan nanoparticles loaded with siRNA for targeted therapy for non-small cell lung cancer[J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 5287-5301.

[56] Luo JX, Chen JF, Liu Y, *et al*. A novel form of arginine-chitosan as nanoparticles efficient for siRNA delivery into mouse leukemia cells[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2): 1040.

[57] Khan S, Madni A, Shah H, *et al*. Folate decorated lipid chitosan hybrid nanoparticles of 5-fluorouracil for enhanced anticancer efficacy against colon cancer[J]. Int J Biol Macromol, 2022, 222(Pt A): 497-508.

[58] Shaabani E, Sharifiaghdam M, de Keersmaecker H, *et al*. Layer by layer assembled chitosan-coated gold nanoparticles for enhanced siRNA delivery and silencing[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 831.

[59] Zhou X, Smith QR, Liu XL. Brain penetrating peptides and peptide-drug conjugates to overcome the blood-brain barrier and target CNS diseases[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2021, 13(4): e1695.

[60] Sava V, Fihurka O, Khvorova A, *et al*. Kinetics of HTT lowering in brain of YAC 128 mice following single and repetitive intranasal dosing of siRNA packaged in chitosan-based nanoparticle[J]. J Drug Deliv Sci Technol, 2021, 63: 102517.

（编辑：王　佳）