

纳米递送系统在 mRNA 肿瘤疫苗中的研究进展

顾盼盼, 高彤, 刘永军*, 张娜*

(山东大学药学院, 天然产物化学生物学教育部重点实验室, 山东 济南 250012)

摘要: 肿瘤疫苗是肿瘤免疫治疗中极具发展前景的治疗策略之一, 其通过递送肿瘤抗原促进抗原递呈过程, 进而激活抗肿瘤免疫反应。信使RNA (messenger RNA, mRNA) 疫苗是一种新型疫苗, 通过向体内递送特定抗原的 mRNA 序列并表达相应抗原蛋白, 从而激活机体免疫系统达到免疫治疗的目的。mRNA 疫苗与传统疫苗相比具有生产周期短、有效性高和免疫原性强等优势, 近年来 mRNA 疫苗在肿瘤免疫治疗中的应用引起广泛关注, 但 mRNA 的不稳定性和低递送效率限制了其应用。纳米递送系统能有效解决 mRNA 疫苗递送的难题, 极大地促进 mRNA 肿瘤疫苗的研究进程和临床应用, 已成为 mRNA 疫苗研究的热点。本文对 mRNA 肿瘤疫苗进行介绍, 重点对纳米递送系统在 mRNA 肿瘤疫苗中的应用进行综述, 以期对 mRNA 肿瘤疫苗高效递送及肿瘤免疫治疗提供新思路和新方法。

关键词: mRNA 疫苗; 肿瘤疫苗; 纳米递送系统; 肿瘤治疗; 免疫治疗

中图分类号: R945 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)08-2327-07

Research progress of nano delivery system in mRNA tumor vaccines

GU Pan-pan, GAO Tong, LIU Yong-jun*, ZHANG Na*

(Key Laboratory of Chemical Biology (Ministry of Education), School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: Tumor vaccine is one of the most promising therapeutic strategies in tumor immunotherapy. It promotes the antigen presentation process by delivering tumor antigen and then activates the anti-tumor immune response. As a new class of vaccines, messenger RNA (mRNA) vaccines can activate the immune system to achieve the purpose of immunotherapy by delivering the mRNA sequence of a specific antigen into the body and expressing the corresponding antigen protein. Compared with traditional vaccines, mRNA vaccines have the advantages of a short production cycle, high effectiveness, and strong immunogenicity. In recent years, the application of mRNA vaccines in tumor immunotherapy has attracted widespread attention, but the instability and low delivery efficiency of mRNA limit its application. Nano delivery system can effectively solve the problem of mRNA vaccine delivery, greatly promote the research process and clinical application of mRNA tumor vaccines, and has become a hot spot in the research of mRNA vaccines. In this review, we introduced the mRNA tumor vaccines, focusing on the application of nano delivery system in mRNA tumor vaccines, in order to provide new ideas and new methods for the efficient delivery of mRNA tumor vaccines and tumor immunotherapy.

Key words: mRNA vaccine; tumor vaccine; nano delivery system; tumor treatment; immunotherapy

收稿日期: 2022-03-28; 修回日期: 2022-04-28.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82173757, 82173756); 山东大学青年学者未来计划 (2017WLJH40).

*通讯作者 Tel: 86-531-88382589, Fax: 86-531-88382548,

E-mail: zhangnancy9@sdu.edu.cn; liuyongjun@sdu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0363

信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 疫苗是指在体外合成编码特定抗原的 mRNA 序列, 通过特定的递送系统递送至体内并表达相应抗原蛋白, 从而刺激机体产生特异性免疫反应以达到免疫治疗目的的免疫制剂。1990年, Wolff等^[1]将 mRNA 通过肌肉注射到小鼠骨骼

肌后,发现在小鼠体内表达出相应的蛋白,首次揭示 mRNA 技术在疫苗研究领域应用的可能性。1995年,Conry 等^[2]构建了编码荧光素酶和人癌胚抗原的 mRNA 剪切体,通过注射以脂质体为载体的 mRNA 后小鼠获得抗肿瘤免疫反应,首次探讨并提出将接种 mRNA 疫苗作为肿瘤治疗的手段。在肿瘤治疗领域, mRNA 疫苗也从多种类型疫苗中脱颖而出,研究发展较为迅速。与 DNA 相比, mRNA 具有如下优势:安全性更高,无需入细胞核即可表达,没有感染或癌变风险^[3];效率更高,可通过序列优化和各种载体修饰途径提高 mRNA 的翻译效率和稳定性;制备更快,针对任意序列已知的目标蛋白,可在短时间内合成其 mRNA,节省药物研发时间^[4]。mRNA 肿瘤疫苗逐渐受到研究者青睐,也拓宽了个性化疫苗开发的道路。

尽管 mRNA 疫苗具有非常广阔的应用前景,但仍存在如下障碍:① mRNA 不稳定,易被核酸酶降解而难以有效内化;② 尺寸大,携带的负电荷多,递送效率低^[5]。纳米递送系统能有效压缩 mRNA,避免其在递送过程中被酶降解^[6];通过在载体表面修饰甘露糖或抗 CD40 抗体等,能将 mRNA 高效靶向递送到淋巴器官如淋巴结 (lymph node, LN)^[7] 或抗原递呈细胞 (antigen-presenting cell, APC),从而增加抗原摄取和呈递,提高疫苗效率;被内吞后可诱导溶酶体逃逸,提高 mRNA 的抗原蛋白转染效率。纳米递送系统已成为 mRNA 肿瘤疫苗的研究热点。

1 mRNA 肿瘤疫苗

mRNA 分为非复制型 mRNA (nonreplicating mRNA, NRM) 和自扩增型 mRNA (self-amplifying mRNA, SAM) 两类。NRM 是用线性的质粒 DNA 或聚合酶链式反应模板通过体外转录合成,其结构简单、RNA 序列较短且没有额外编码蛋白。SAM 是将编码抗原的序列直接插入单链 RNA 病毒中,其中目的基因替换编码结构

蛋白的基因,而编码 mRNA 复制的基因是完整的^[8]。SAM 能产生更高的抗原表达水平并可持续表达,然而 SAM 的分子质量远大于 NRM,导致其生产过程比 NRM 复杂。此外, SAM 中额外编码蛋白如复制酶的免疫原性难以控制,可能会诱导非预期的免疫反应,其安全性尚待考证^[9]。

mRNA 肿瘤疫苗一般是使用编码肿瘤源性抗原的 mRNA,通过人体蛋白质合成系统翻译出特异性肿瘤抗原蛋白作为“靶标”,诱导机体产生针对“靶标”的免疫应答,进而识别并清除肿瘤细胞。目前疫苗编码的肿瘤源性抗原主要有肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA) 和新生抗原 (neoantigen, Neo-Ag)。此外,一些 mRNA 疫苗也可编码免疫刺激物如细胞因子、趋化因子等用于肿瘤治疗^[10]。与其他类型肿瘤疫苗相比, mRNA 肿瘤疫苗生产工艺简单,制备速度更快,易于批量生产;有效性高,具有双重免疫机制,免疫原性强;研发周期短,能快速开发新型候选疫苗用于肿瘤精准和个性化的治疗。

此外, mRNA 不仅能编码抗原,还能在某些情况下提供佐剂活性,通过激活 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR),如 TLR3、TLR7 和 TLR8 等,提供共刺激信号促进树突状细胞 (dendritic cell, DC) 成熟,增强免疫反应强度^[11]。

2 mRNA 肿瘤疫苗的纳米递送系统

由于 mRNA 自身稳定性和递送效率的限制,开发高效靶向递送系统是 mRNA 疫苗亟待解决的问题。在 mRNA 疫苗研究中,已提出许多递送策略,其中非病毒载体中的纳米递送系统制备简单、免疫原性较低,并可促进抗原和佐剂共递送,已成为 mRNA 递送的首选载体 (图 1、表 1^[12-22])。

2.1 基于脂质的纳米载体 脂质纳米粒 (lipid nanoparticle, LNP) 是一种生物相容性载体,核心空腔可实现

Table 1 Nano delivery system of mRNA tumor vaccines. LPX: Lipoplex; E7: The human papillomavirus 16 oncoprotein E7; CK19: Cytokeratin 19; OVA: Ovalbumin; DC: Dendritic cells; HPV: Human papilloma virus; TRP2: Tyrosinase related protein-2; LNP: Lipid nanoparticle; CLPP: A protamine/liposome system; CPP: Cell-penetrating peptide; CD-PEI: Cyclodextrin-polyethyleneimine; GO-PEI: Graphene oxide-polyethyleneimine; MSN: Mesoporous silica; LN: Lymph node

Type of nanocarrier	mRNA encoding sequence	Target tissue/cell	Type of cancer	Ref.
LPX	OVA and gp70	DC	Tumor	[12]
LPX	E7	DC	HPV16-positive malignancies	[13]
LNP	gp100, TRP2 and OVA	DC, macrophage and neutrophil	Melanoma	[14]
CLPP	CK19	Tumor	Lung cancer	[15]
CPP	OVA	DC	-	[16]
CD-PEI	OVA	DC	Tumor	[17]
LPP	OVA, E7	DC	Cervical carcinoma	[18]
LPP	TRP2	DC	Melanoma	[19]
Cationic lipid-assisted nanoparticles	OVA	DC	Lymphoma	[20]
MSN	OVA	DC	Lymphoma	[21]
GO-PEI	OVA	LN	Melanoma	[22]

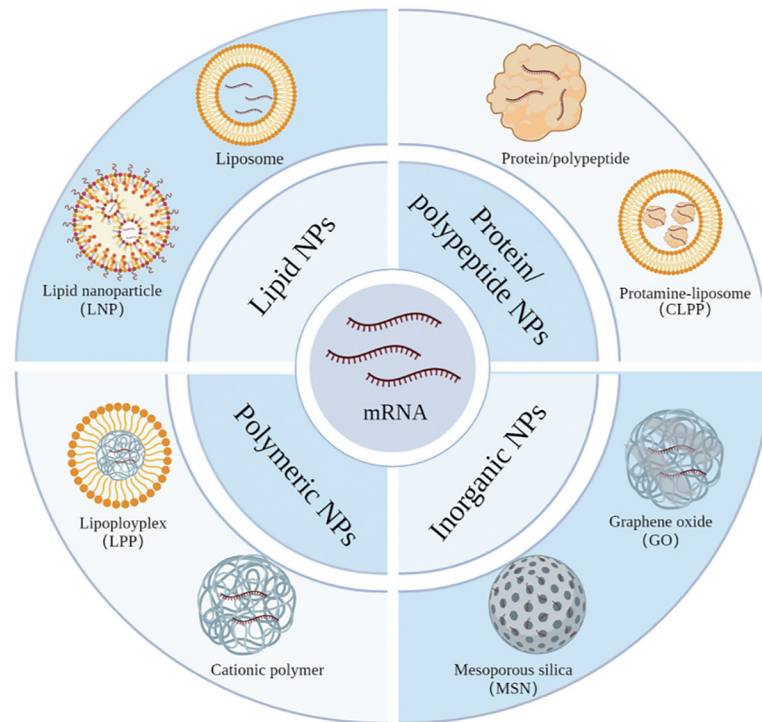


Figure 1 Nano delivery system of messenger RNA (mRNA) tumor vaccines. Nano delivery system of mRNA tumor vaccines are mainly divided into lipid nanoparticles (NPs), protein/polypeptide NPs, polymeric NPs and inorganic NPs

对 mRNA 的负载,其制备方式有挤压法、超声法、均质法等,最近微流控技术已成功用于 LNP 的制备和尺寸控制^[23]。LNP 的制备和 mRNA 的装载过程相对简单,已作为非病毒递送载体被广泛研究^[24],目前 Pfizer-BioNTech 和 Moderna 公司开发的两款广泛使用的 mRNA 新冠疫苗即以 LNP 为载体^[25]。LNP 脂质壳结构主要由胆固醇、中性磷脂、聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)-脂质和可电离脂质组成^[26],都发挥各自作用以保证载体的递送功能。其中,胆固醇稳定 LNP;中性磷脂支持脂质双层结构并有助于溶酶体逃逸^[27];PEG-脂质能延长疫苗的半衰期,防止颗粒聚集;可电离脂质在酸性条件下带正电,能通过静电作用吸附负电性的 mRNA 形成复合物,是 mRNA 递送和转染效率的决定性因素^[28]。

可电离脂质是 LNP 中的关键成分,根据结构特性可分为不饱和型、多尾型、聚合物型、可生物降解型和支化型脂质。可电离脂质的结构改变可引起 mRNA 递送效率的改变^[29]。如 Miao 等^[30]将炔烃和酯基引入脂质尾部以修饰 4-(*N,N*-二甲基氨基)丁酸(二亚油基)甲酯 (Dlin-MC3-DMA) 的主链结构,通过优化筛选,表明炔烃可电离脂质能显著提高 mRNA 递送效率。Liu 等^[31]设计出包括 1 个两性离子头和 3 个尾部的多尾型可电离脂质,优化的脂质易于插入膜磷脂中,能诱导相变促进 mRNA 的释放,提高其递送效率。

此外,还可通过改善 LNP 配方得到最优的 mRNA 递送效果。Oberli 等^[14]通过比较几种不同脂质的组合,得到了最佳配方 B11,然后用编码肿瘤抗原酪氨酸酶相关蛋白 2 (tyrosinase related protein-2, TRP2) 和 100 kDa 糖蛋白 (gp100) 的 mRNA 制备 B11 LNP,对携带 B16F10 黑色素瘤的小鼠进行治疗性疫苗接种,结果显示肿瘤萎缩并有效延长小鼠的总体生存率。LNP 凭借其各方面的独特优势,已成为目前研究较多、应用前景最广的纳米载体系统。

2.2 基于蛋白/多肽的纳米载体 蛋白/多肽具有相对稳定性、低免疫原性和低毒性,也可作为 mRNA 递送系统。其中阳离子鱼精蛋白可压缩并保护 mRNA,但鱼精蛋白和 mRNA 之间相互作用过于紧密,单独使用鱼精蛋白-mRNA 复合物会降低疫苗有效性。CureVac 公司的研究者开发了利用鱼精蛋白复合物和裸 mRNA 的混合物来提高疫苗免疫刺激效果的 RNActive[®] 技术,将裸露的 mRNA 和鱼精蛋白-mRNA 复合物以 1:1 比例制备并用于肿瘤治疗,其中鱼精蛋白-mRNA 复合物仅作为佐剂,裸露的 mRNA 用于抗原生产^[32]。此外,阳离子细胞穿透肽 (cell-penetrating peptide, CPP) 具有较低的电荷密度和优异的膜破坏能力,也能负载 mRNA。如 Udhayakumar 等^[16]采用含有两亲性 RALA 基序的 CPP 将 mRNA 压缩成纳米复合物,该复合物显示出 pH 依赖性膜破坏特性,能有效刺激 DC 摄取

mRNA 并促进 CD8⁺ T 细胞增殖。

目前针对基因药物使用较多的是阳离子脂质体,但单独使用脂质体时其体内递送效率有限,而阳离子蛋白多肽能高效浓缩 mRNA^[33]形成纳米递送系统并防止溶酶体或核酸酶降解,因此常将二者联合应用于递送。Lei 等^[34]设计了鱼精蛋白/脂质体系统 (CLPP),通过鱼精蛋白将 mRNA 浓缩成纳米级,实现纳米药物递送系统的有效构建。CLPP 递送 mRNA 能保护其不被核酸酶降解,转染效率高且稳定性较好。

2.3 基于聚合物的纳米载体 阳离子聚合物在结构改性和开发方面具有良好的灵活性,可通过静电吸附作用压缩负电性的 mRNA,避免其被核酸酶降解,提高递送效率。目前应用较多的阳离子聚合物有聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI)、聚 (β -氨基酯)[poly(β -amino esters), PBAE]、壳聚糖等,大多用于 mRNA 递送的聚合物材料需修饰以提高其转染效率和稳定性^[35]。Tan 等^[17]开发了一种由 β -环糊精 (β -cyclodextrin, β -CD) 修饰支化聚乙烯亚胺 (bPEI) 组成的 PEI 衍生物 (CP),实验结果显示 CP-mRNA 复合物的体外转染效率远高于 bPEI-mRNA 复合物。此外,可生物降解的 PBAE 在 mRNA 递送方面表现出色。Capasso Palmiero 等^[36]通过连接己内酯单元配制各种 PBAE 三元共聚物,其中最稳定的三元共聚物表现出比 PEI 更高的转染效率,为 PBAE 载体静脉递送 mRNA 以进行疫苗接种和癌症免疫治疗提供可能。

其次,聚合物和脂质也常联合用于 mRNA 递送。脂质多聚复合物 (lipopolyplex, LPP) 是将 mRNA 分子包载到聚合物核心中,然后将核心加载到磷脂双分子层壳中得到多聚复合物。以卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 为代表的模型抗原是目前应用最为广泛的模型抗原之一, Persano 等^[37]开发了以 PBAE/mOVA (编码 OVA 的 mRNA) 为核心,包裹在脂质壳中组成的 LPP/mRNA 疫苗,该疫苗能刺激 DC 成熟并呈递抗原,具有强大的抗肿瘤活性。此外,除了单独递送 mRNA 外,佐剂与 mRNA 共递送能达到更强的肿瘤治疗效果。Guevara 等^[19]设计了基于佐剂 α -半乳糖基神经酰胺和 TRP2-mRNA 共递送的 LPP 载体,得到的 mRNA 疫苗显著增强了抗原特异性 CD8⁺ T 细胞的增殖,同时增加 Th1 细胞介导的免疫应答。

2.4 基于无机材料的纳米载体 无机纳米粒 (inorganic nanoparticles, INP) 是一种多功能纳米平台,具有优越的固有理化性质和性能,作为核酸载体也展示了良好的递送效率。最常见的 INP 是介孔硅纳米粒 (mesoporous silica, MSN),其具有有序的介孔结构,生物相容性好,能有效携带并递送 mRNA。Zhang 等^[21]

开发了由裸 mRNA 和双链 RNA 依赖的蛋白质激酶 (PKR) 抑制剂 C16 组成的 MSN-mRNA 皮下递送系统 (C6@MSN),并在 E.G7-OVA 肿瘤模型上应用该疫苗制剂,结果显示,该疫苗产生了有效的肿瘤抑制,表明 MSN-mRNA 递送系统在肿瘤治疗中具有巨大的转化潜力。

无机材料和聚合物联合用于 mRNA 的递送,可实现高效递送和压缩核酸的功能。Yin 等^[22]用氧化石墨烯 (graphene oxide, GO) 和 PEI 构建了可注射水凝胶,通过 π - π 堆积和静电作用封装 mOVA 和佐剂 R848。该水凝胶经皮下注射后,可转化为含有 mOVA 和 R848 的纳米疫苗,保护 mRNA 不被降解并靶向 LN,从而显著增加抗原特异性 CD8⁺ T 细胞的数量并产生持久的抗肿瘤免疫。

此外,无机材料和脂质体也可联合使用作为 mRNA 疫苗递送的载体。Liu 等^[38]开发了具有不对称脂质双层涂层的磷酸钙纳米粒 (LCP),其内部包载编码 mucin 1 黏蛋白的 mRNA (MUC1-mRNA),表面修饰甘露糖。甘露糖能靶向 LN 中 DC 上的甘露糖受体,使 LCP 成功地将 MUC1-mRNA 高效递送到 LN 中的 DC 处。LCP 通过与抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 抗体联用,能诱导强烈的抗原特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 反应,实现三阴性乳腺癌免疫治疗。

3 纳米递送系统在 mRNA 肿瘤疫苗的应用

mRNA 肿瘤疫苗需将相关转录本 (即在体外合成的编码特定抗原的 mRNA 序列) 递送至 APC (主要为 DC) 中,以表达相应的抗原蛋白,抗原蛋白经主要组织相容性复合体 (MHC) 即 MHC-I 或 MHC-II 递呈给 CD8⁺ 和 CD4⁺ T 细胞,继而启动适应性免疫应答,达到抗肿瘤作用 (图 2)。将 mRNA 导入 DC 是肿瘤疫苗制备的重要步骤,根据 mRNA 转染 DC 的位置 (体内、外),目前临床上主要有两种针对肿瘤治疗的 mRNA 疫苗: ① mRNA 纳米载体疫苗: 通过构建载体包载 mRNA 得到疫苗并直接注射,使其在体内激活 DC^[39]; ② 联合 DC 的 mRNA 纳米载体疫苗: 从患者外周血分离单核细胞,在体外诱导分化成 DC,然后将载有 mRNA 的纳米载体转染至 DC,再回输至患者体内发挥抗肿瘤作用^[40]。通过对新的疫苗纳米递送载体和对机体免疫系统作用机制的不断深入研究,目前已有多项 mRNA 疫苗进入肿瘤治疗的临床试验。

3.1 mRNA 纳米载体疫苗 利用载体 (脂质体、LNP 等) 压缩 mRNA 得到 mRNA 疫苗是目前肿瘤疫苗研发焦点。Miao 等^[41]开发了一系列 LNP 介导 mRNA 递送,并通过刺激干扰素基因途径 (STING) 提供靶向免疫

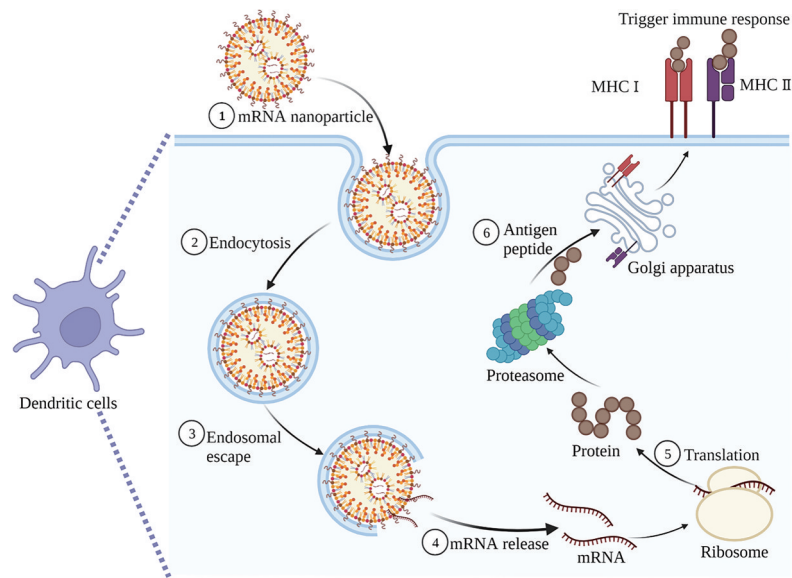


Figure 2 *In vivo* processing of mRNA tumor vaccines. The mRNA tumor vaccines are internalized by antigen-presenting cells. After the endosomal escape, the mRNA is released into the cytoplasm and translated into protein by ribosomes. The translated antigen protein can stimulate the immune system and achieve immunotherapy

刺激,从而提高了对小鼠黑色素瘤的疫苗效力。因具有良好的稳定性、高转染效率和安全性,多种 mRNA 载体疫苗已进入临床研究(表 2)。mRNA-4157 是 Moderna 公司开发的为患者量身定做的个性化癌症疫苗,可编码 34 种 Neo-Ag,其递送载体为 LNP。I 期临床试验结果显示,在所有测试剂量下,患者均具有良好耐受性,并引发了 Neo-Ag 特异性 T 细胞反应^[42]。目前 mRNA-4157 已进入 II 期临床试验阶段,与单独使用

pembrolizumab 相比,使用 mRNA-4157 和 pembrolizumab 联合治疗的疗效(NCT03897881),结果显示黑色素瘤患者的无复发生存期长达 3 年,令人鼓舞。

BNT111 是 BioNTech 公司研发的一款编码 NY-ESO-1、酪氨酸酶(tyrosinase, Tyr)、MAGE-A3 和 TPTE 这 4 种 TAA 的 mRNA 疫苗,通过 RNA-LPX 静脉注射递送至患者体内,I 期临床单药剂量递增试验中期分析结果表明,BNT111 能诱导特异性抗肿瘤免疫应答,且

Table 2 Clinical trial of mRNA vaccines for tumor immunotherapy. NY-ESO-1: New York esophageal squamous cell carcinoma 1; Tyr: Tyrosinase; MAGE: Melanoma-associated antigen; TPTE: Transmembrane phosphatase with tensin homology; RNA-LPX: Liposomal antigen-encoding RNA; OX40L: OX40 ligand; IL: Interleukin; PSA: Prostate specific antigen; PSCA: Prostate stem cell antigen; PSMA: Prostate specific membrane antigen; STEAP1: Six-segment transmembrane epithelial antigen of prostate 1; NSCLC: Non-small cell lung cancer; Neo-Ag: Neoantigen

mRNA encoding sequence	Vehicle	Route of administration	Type of cancer	NCT number/phase
NY-ESO-1, MAGE-A3, Tyr and TPTE	RNA-LPX	Intravenous injection	Melanoma	NCT04526899/phase II
E6 and E7	RNA-LPX	Intravenous injection	Head and neck cancer	NCT04534205/phase II
5 Antigens expressed in <i>de novo</i> and metastatic prostate cancer	Liposome	Intravenous injection	Prostate cancer	NCT04382898/phase I and II
TriMix and 5 tumor associated antigens mRNA	LNP	Intranodal injection	Melanoma	NCT03394937/phase I
OX40L, IL-23 and IL-36 γ	LNP	Intratumoral injection	Solid tumor malignancies and lymphoma	NCT03739931/phase I
mRNA-4157: Neo-Ag	LNP	Intramuscular injection	Solid tumors	NCT03313778/phase I
NY-ESO-1, MAGE-C1, MAGE-C2, survivin, 5T4 and MUC-1	Protamine	Intradermal injection	NSCLC	NCT03164772/phase I and II
PSA, PSCA, PSMA, STEAP1	Protamine	Intradermal injection	Prostate cancer	NCT00831467/phase I and II
Neo-Ag	LPP	Subcutaneous injection	Esophageal cancer and NSCLC	NCT03908671/phase I

安全性和耐受性良好^[43]。目前BioNTech公司正在II期临床评估联合使用BNT111和cemiplimab的疗效(NCT04526899),与单独使用BNT111或cemiplimab相比,黑色素瘤患者的客观缓解率达到24个月,显示出良好的临床疗效。

除了以LNP和RNA-LPX为载体,CureVac公司开发的BI1361849(原名CV9202)采用鱼精蛋白递送编码6种非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)相关抗原的mRNA,目前BI1361849处于I/II期临床试验阶段(NCT03164772)。

3.2 联合DC的mRNA纳米载体疫苗 与纳米载体直接递送mRNA相比,DC不仅能装载递送mRNA,还能作为APC呈递肿瘤抗原,诱导免疫应答。从患者外周血中分离单核细胞后在体外培养,然后经粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素-4诱导下刺激分化为未成熟DC^[44],成熟DC可通过内吞作用将mRNA纳米载体内化,最后通过不同的给药途径回输到体内,由此制备的疫苗用于肿瘤治疗即为联合DC的mRNA纳米载体肿瘤疫苗。Tateshita等^[45]开发了一种脂质复合物型mRNA载体用于DC疫苗,该载体使用SS可切割和pH激活的类脂物质(ssPalm-LNP)和KALA肽组合而成(ssPalm-KALA),将载有mOVA的ssPalm-KALA转染至小鼠骨髓来源DC后回输至体内,结果显示该疫苗能在小鼠体内诱导OVA特异性CTL活性,继而产生显著的抗肿瘤作用。DC具有高mRNA转染效率、安全性和有效性,然而疫苗需激活大量DC,制备工艺较为复杂,既耗时又费力,且目前更多采用电穿孔等方法直接将mRNA转染至DC,因此联合DC的mRNA纳米载体疫苗应用很少。

4 总结与展望

随着mRNA疫苗纳米递送系统的发展,越来越多的研究将其应用在肿瘤免疫治疗领域并取得了较好疗效。2021年11月19日,BioNTech公司的mRNA肿瘤疫苗BNT111(NCT04526899)获得快速通道资格,表明mRNA疫苗在临床肿瘤治疗中的良好应用前景。但是,mRNA疫苗在动物模型和人体内递送和肿瘤杀伤能力等方面仍有差异,还需进一步探索和完善;此外,疫苗的最佳给药途径、接种剂量和次数也是临床研究的重要方向。相信随着mRNA疫苗和纳米材料研究的不断深入,mRNA肿瘤疫苗纳米递送系统将会为肿瘤免疫治疗翻开新的篇章。

作者贡献: 顾盼盼负责文献查阅、文章撰写;高彤负责提供思路并编排文章;刘永军和张娜负责确定文章选题及指导写作,并对文章撰写质量进行把关和审校。

利益冲突: 本文不存在任何与本稿件相关的利益冲突。

References

- [1] Wolff JA, Malone RW, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo* [J]. *Science*, 1990, 247: 1465-1468.
- [2] Conry RM, LoBuglio AF, Wright M, et al. Characterization of a messenger RNA polynucleotide vaccine vector [J]. *Cancer Res*, 1995, 55: 1397-1400.
- [3] Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, et al. mRNA vaccines - a new era in vaccinology [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17: 261-279.
- [4] Miao L, Zhang Y, Huang L. mRNA vaccine for cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20: 41.
- [5] Hussain A, Yang H, Zhang M, et al. mRNA vaccines for COVID-19 and diverse diseases [J]. *J Control Release*, 2022, 345: 314-333.
- [6] Li JM, Men K, Gao Y, et al. Single micelle vectors based on lipid/block copolymer compositions as mRNA formulations for efficient cancer immunogene therapy [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18: 4029-4045.
- [7] Qin H, Zhao R, Qin Y, et al. Development of a cancer vaccine using *in vivo* click-chemistry-mediated active lymph node accumulation for improved immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2021, 33: e2006007.
- [8] Minnaert AK, Vanluchene H, Verbeke R, et al. Strategies for controlling the innate immune activity of conventional and self-amplifying mRNA therapeutics: getting the message across [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 176: 113900.
- [9] Bloom K, van den Berg F, Arbuthnot P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases [J]. *Gene Ther*, 2021, 28: 117-129.
- [10] He Q, Gao H, Tan D, et al. mRNA cancer vaccines: advances, trends and challenges [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.03.011>.
- [11] Verbeke R, Lentacker I, Wayteck L, et al. Co-delivery of nucleoside-modified mRNA and TLR agonists for cancer immunotherapy: restoring the immunogenicity of immunosilent mRNA [J]. *J Control Release*, 2017, 266: 287-300.
- [12] Kranz LM, Diken M, Haas H, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2016, 534: 396-401.
- [13] Grunwitz C, Salomon N, Vascotto F, et al. HPV16 RNA-LPX vaccine mediates complete regression of aggressively growing HPV-positive mouse tumors and establishes protective T cell memory [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8: e1629259.
- [14] Oberli MA, Reichmuth AM, Dorkin JR, et al. Lipid nanoparticle assisted mRNA delivery for potent cancer immunotherapy [J]. *Nano Lett*, 2017, 17: 1326-1335.
- [15] Mai YP, Guo JS, Zhao Y, et al. Intranasal delivery of cationic liposome-protamine complex mRNA vaccine elicits effective anti-tumor immunity [J]. *Cell Immunol*, 2020, 354: 104143.
- [16] Udhayakumar VK, De Beuckelaer A, McCaffrey J, et al. Arginine-rich peptide-based mRNA nanocomplexes efficiently insti-

- gate cytotoxic T cell immunity dependent on the amphipathic organization of the peptide [J]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6: 1601412.
- [17] Tan L, Zheng T, Li M, et al. Optimization of an mRNA vaccine assisted with cyclodextrin-polyethyleneimine conjugates [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, 10: 678-689.
- [18] Van der Jeught K, De Koker S, Bialkowski L, et al. Dendritic cell targeting mRNA lipopolyplexes combine strong antitumor T-cell immunity with improved inflammatory safety [J]. *ACS Nano*, 2018, 12: 9815-9829.
- [19] Guevara ML, Jilesen Z, Stojdl D, et al. Codelivery of mRNA with α -galactosylceramide using a new lipopolyplex formulation induces a strong antitumor response upon intravenous administration [J]. *ACS Omega*, 2019, 4: 13015-13026.
- [20] Fan YN, Li M, Luo YL, et al. Cationic lipid-assisted nanoparticles for delivery of mRNA cancer vaccine [J]. *Biomater Sci*, 2018, 6: 3009-3018.
- [21] Zhang W, Liu Y, Min Chin J, et al. Sustained release of PKR inhibitor C16 from mesoporous silica nanoparticles significantly enhances mRNA translation and anti-tumor vaccination [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2021, 163: 179-187.
- [22] Yin Y, Li XY, Ma HX, et al. *In situ* transforming RNA nanovaccines from polyethylenimine functionalized graphene oxide hydrogel for durable cancer immunotherapy [J]. *Nano Lett*, 2021, 21: 2224-2231.
- [23] Cullis PR, Hope MJ. Lipid nanoparticle systems for enabling gene therapies [J]. *Mol Ther*, 2017, 25: 1467-1475.
- [24] Tenchov R, Bird R, Curtze AE, et al. Lipid nanoparticles-from liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement [J]. *ACS Nano*, 2021. DOI: 10.1021/acsnano.1c04996.
- [25] Fang E, Liu X, Li M, et al. Advances in COVID-19 mRNA vaccine development [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 94.
- [26] Feng C, Li Y, Ferdows BE, et al. Emerging vaccine nanotechnology: from defense against infection to sniping cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12: 2206-2223.
- [27] Guimaraes PPG, Zhang R, Spektor R, et al. Ionizable lipid nanoparticles encapsulating barcoded mRNA for accelerated *in vivo* delivery screening [J]. *J Control Release*, 2019, 316: 404-417.
- [28] Li MY, Li Y, Li SQ, et al. The nano delivery systems and applications of mRNA [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 227: 113910.
- [29] Han X, Zhang H, Butowska K, et al. An ionizable lipid toolbox for RNA delivery [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 7233.
- [30] Miao L, Lin J, Huang Y, et al. Synergistic lipid compositions for albumin receptor mediated delivery of mRNA to the liver [J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 2424.
- [31] 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: 701-710.
- [32] Sebastian M, Schröder A, Scheel B, et al. A phase I/IIa study of the mRNA-based cancer immunotherapy CV9201 in patients with stage IIIB/IV non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68: 799-812.
- [33] Mojarad-Jabali S, Farshbaf M, Walker PR, et al. An update on actively targeted liposomes in advanced drug delivery to glioma [J]. *Int J Pharm*, 2021, 602: 120645.
- [34] Lei S, Zhang X, Men K, et al. Efficient colorectal cancer gene therapy with IL-15 mRNA nanoformulation [J]. *Mol Pharm*, 2020, 17: 3378-3391.
- [35] Solomun JI, Cinar G, Mapfumo P, et al. Solely aqueous formulation of hydrophobic cationic polymers for efficient gene delivery [J]. *Int J Pharm*, 2021, 593: 120080.
- [36] Capasso Palmiero U, Kaczmarek JC, Fenton OS, et al. Poly (β -amino ester)-*co*-poly(caprolactone) terpolymers as nonviral vectors for mRNA delivery *in vitro* and *in vivo* [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7: e1800249.
- [37] Persano S, Guevara ML, Li Z, et al. Lipopolyplex potentiates anti-tumor immunity of mRNA-based vaccination [J]. *Biomaterials*, 2017, 125: 81-89.
- [38] Liu L, Wang YH, Miao L, et al. Combination immunotherapy of MUC1 mRNA nano-vaccine and CTLA-4 blockade effectively inhibits growth of triple negative breast cancer [J]. *Mol Ther*, 2018, 26: 45-55.
- [39] Faghfuri E, Pourfarzi F, Faghfouri AH, et al. Recent developments of RNA-based vaccines in cancer immunotherapy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2021, 21: 201-218.
- [40] Zeng JX, Zhang WY, Liu EG, et al. Effect of DC vaccine sensitized with CpG ODN combined with tumor antigen on murine melanoma [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 385-391.
- [41] Miao L, Li LX, Huang YX, et al. Delivery of mRNA vaccines with heterocyclic lipids increases anti-tumor efficacy by STING-mediated immune cell activation [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 1174-1185.
- [42] Burris HA, Patel MR, Cho DC, et al. A phase I multicenter study to assess the safety, tolerability, and immunogenicity of mRNA-4157 alone in patients with resected solid tumors and in combination with pembrolizumab in patients with unresectable solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37: 2523.
- [43] Sahin U, Oehm P, Derhovanessian E, et al. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma [J]. *Nature*, 2020, 585: 107-112.
- [44] Gu YZ, Zhao X, Song XR. *Ex vivo* pulsed dendritic cell vaccination against cancer [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41: 959-969.
- [45] Tateshita N, Miura N, Tanaka H, et al. Development of a lipoplex-type mRNA carrier composed of an ionizable lipid with a vitamin E scaffold and the KALA peptide for use as an *ex vivo* dendritic cell-based cancer vaccine [J]. *J Control Release*, 2019, 310: 36-46.