# 线粒体靶向药物递送系统的研究进展——从机制驱动到临床转化

吉朗林, 张怡之, 杜丽娜*

(军事科学院军事医学研究院, 北京 100850)

**摘要**: 线粒体作为细胞代谢与细胞凋亡调控的核心枢纽, 其动态网络 (融合/分裂、自噬) 的失调与肿瘤、神经退行性疾病及代谢性疾病的发病机制密切相关。传统药物递送系统因难以克服溶酶体逃逸及跨膜递送的挑战, 由此引发的全身毒性和靶向失效问题严重制约了其临床应用。近年来, 线粒体靶向策略通过“精准递送−动态响应−协同治疗”三位一体的创新框架取得突破性进展, 递送效率与治疗精准度显著提升。然而, 膜电位异质性、载体−生物界面作用机制不明及规模化生产难题仍是临床转化的主要瓶颈。未来需融合药剂学、合成生物学与计算材料学, 开发闭环反馈型智能载体并建立标准化临床前评价体系, 以加速精准医学的落地。

**关键词**: 线粒体靶向递送; 精准医学; 纳米载体; 病毒载体; 仿生载体

**中图分类号**: R943 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)07-2178-08

# Advances in mitochondria-targeted drug delivery systems—from mechanism-driven design to clinical translation

JI Lang-lin, ZHANG Yi-zhi, DU Li-na*

(*Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China*)

**Abstract**: Mitochondria, as the central hub regulating cellular metabolism and apoptosis, exhibit dynamic networks (fusion/fission, autophagy) whose dysregulation is closely linked to the pathogenesis of cancer, neurodegenerative diseases, and metabolic disorders. Conventional drug delivery systems fail to overcome the challenges of lysosomal escape and transmembrane delivery, resulting in systemic toxicity and targeting failures that severely limit clinical applicability. Recent mitochondrial-targeting strategies have achieved breakthroughs through an innovative tripartite framework—"precision delivery, dynamic responsiveness, and synergistic therapy" significantly enhancing delivery efficiency and therapeutic precision. However, heterogeneity in membrane potential, unclear mechanisms of carrier-biointerface interactions, and challenges in manufacturing scalability remain major bottlenecks for clinical translation. Future efforts must integrate pharmaceutics, synthetic biology, and computational materials science to develop closed-loop feedback-based intelligent carriers and establish standardized preclinical evaluation systems, thereby accelerating the implementation of precision medicine.

**Key words**: mitochondria-targeted delivery; precision medicine; nanocarrier; viral vector; biomimetic carrier

线粒体作为真核细胞的“能量工厂”, 通过氧化磷酸化和三羧酸循环调控细胞能量代谢, 同时参与活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 稳态、钙离子信号传导及细胞程序性死亡等关键生物学过程。近年来研究表明, 线粒体动态网络的失调与肿瘤、神经退行性疾病及代谢综合征的发病机制密切相关[1]。然而, 针对这些线粒体相关疾病, 传统治疗药物因缺乏靶向性, 难以克服溶酶体逃逸效率低及跨双膜屏障等递送障碍, 常导致全身毒性且疗效受限[2]。因此, 开发高效的线粒体靶向递送系统已成为当前治疗困境的关键研究方向。本综述系统分析线粒体靶向递送系统的核心分子机

收稿日期: 2025-04-27; 修回日期: 2025-06-09.
基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (L222126).
*通讯作者 E-mail: dulina@188.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0484

制、技术创新策略、临床转化的挑战及未来发展方向, 为精准医学提供多学科交叉的创新框架。

## 1 线粒体靶向递送系统的核心机制

线粒体独特的生理结构与功能特性是线粒体靶向递送系统设计的根基。在线粒体组成结构中, 外膜和内膜构成严格分隔的双层膜系统: 外膜富含电压依赖性阴离子通道 (voltage-dependent anion channel, VDAC), 形成孔径2～3 nm的分子筛, 允许分子质量小于5 kDa的小分子被动扩散, 但限制大分子载体穿透; 内膜高度折叠形成嵴结构, 锚定电子传递链复合物, 通过质子泵活动建立跨膜电位, 这一电化学梯度不仅是三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 合成的驱动力, 也为带正电荷的亲脂性分子提供了靶向富集的物理信号[3]。线粒体蛋白输入系统的级联识别机制进一步影响递送策略—外膜转位酶复合物 (translocase of the outer mitochondrial membrane, TOM) 识别前体蛋白的线粒体靶向序列 (mitochondrial targeting sequence, MTS), 而内膜转位酶复合物 (translocase of the inner mitochondrial membrane, TIM) 依赖线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, ΔΨm) 驱动蛋白穿越内膜, 这一天然转运通路为药物递送提供了仿生设计模板。此外, 线粒体动态网络通过融合与分裂维持形态可塑性, 其微环境特征如高ROS、高还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 及碱性基质 (pH ≈ 8.0) 为刺激响应型递送系统提供了精准触发信号。

**1.1 被动靶向: 基于线粒体膜电位的药物富集** 线粒体内膜的高负电位是细胞能量代谢的核心特征之一, 由电子传递链的质子泵活动产生, 形成跨膜电化学梯度以驱动ATP合成[4]。这一天然电化学特性为药物靶向递送提供了独特的生物学信号: 带正电荷的亲脂性分子可通过静电吸引和疏水作用, 沿电化学梯度主动富集于线粒体基质中, 类似“磁铁吸附”的靶向机制[3]。如三苯基膦 (triphenylphosphine, TPP) 作为一种带正电荷的亲脂性分子, 其修饰的脂质体借助TPP的正电荷与线粒体的负电位之间存在静电相互作用特异性地靶向线粒体。在肿瘤治疗领域, TPP修饰的脂质体可显著增加化疗药物多柔比星 (doxorubicin, DOX) 的线粒体浓度, 通过诱导线粒体膜通透性转换孔开放直接触发肿瘤细胞凋亡, 显著增强乳腺癌治疗效果[5]; 1,2-二油酰基-*sn*-甘油-3-磷酰胆碱 (1, 2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, DOTAP) 和TPP共修饰的脂质体 (DOTAP/TPP-Lipo), 也正是利用DOTAP的正电荷促进细胞摄取, 并借助TPP的线粒体靶向特性, 将药物精准递送至肿瘤细胞的线粒体, 显著抑制肝细胞癌的生长[6]。然而, 肿瘤微环境中线粒体膜电位的异质性导致靶向效率下降[6]。

**1.2 主动靶向: 分子信号介导的跨膜递送** 线粒体双膜屏障的穿透依赖于特异性分子识别机制。研究者通过设计特定的靶向配体或分子, 使其能够特异性地识别并结合线粒体表面的受体、蛋白或其他分子, 从而将药物、基因或其他治疗性分子精准递送至线粒体。常见的靶向配体包括MTS、相关抗体以及小分子配体。其中, MTS作为天然的“通行证”, 由20～30个带正电荷的氨基酸组成, 可通过TOM和TIM的级联识别, 引导蛋白质或核酸跨越双膜屏障[7]。基于这一机制, 在Leber遗传性视神经病变领域, 研究者将MTS序列与重组腺相关病毒载体 (adeno-associated virus, AAV) 进行融合, 成功递送ND4基因至线粒体, 用于修复线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) m. 11778G>A 突变, 其III期临床试验 (NCT02652780) 中患者视力显著改善[8]。相关抗体则针对线粒体外膜蛋白 (如VDAC)。例如, 在肿瘤治疗领域, 研究人员开发的一种基于雷公藤红素的脂质体通过直接靶向VDAC2, 诱导肝细胞癌细胞的铁死亡和凋亡, 显著增强药物在肝癌细胞中的抗肿瘤效果[9]。此外, 研究者也利用小分子配体特异性结合线粒体表面分子。例如, 在非酒精性脂肪性肝病领域, 心磷脂仿生纳米颗粒通过模仿心磷脂形态结构, 靶向线粒体外膜蛋白SAM50, 显著提升药物肝脏富集效率, 并实现代谢–炎症双重调控, 最终使小鼠模型肝脏纤维化面积减少[10]。然而, 依赖TOM/TIM的跨膜过程需消耗ΔΨm, 且肿瘤细胞中TOM/TIM表达异质性导致靶向效率下降[2](表1)。

## 2 线粒体靶向递送系统的多维度创新

**2.1 智能响应型载体设计: 微环境触发的精准控释与协同增效** 智能响应型载体通过感知线粒体微环境变

**Table 1** Core mechanisms of mitochondrial-targeted delivery systems. TOM: Translocase of the outer mitochondrial membrane; TIM: Translocase of the inner mitochondrial membrane

| Targeting mechanism | Core principle | Feature | Limitation |
|---|---|---|---|
| Passive targeting | Drug enrichment based on mitochondrial membrane potential | Utilizes mitochondrial membrane potential to attract positively charged lipophilic molecules | Heterogeneity of membrane potential in the tumor microenvironment leads to reduced targeting efficiency |
| Active targeting | Molecular signal-mediated transmembrane delivery | Relies on specific molecular recognition mechanisms | Dependent on TOM/TIM, consumes ΔΨm; heterogeneity in expression in tumor cells reduces targeting efficiency |

化 (如高ROS、高GSH、碱性pH) 触发药物释放, 成为提升靶向精度与疗效的关键策略。基于ROS响应系统可设计硫缩酮键连接的纳米载体, 其在肿瘤细胞高ROS环境中同步降解释放药物并清除ROS, 形成“释放−抗氧化”正反馈循环[11]; 针对肿瘤细胞中异常升高的GSH浓度 (≈ 10 mmol·L$^{-1}$) 则可通过还原二硫键触发靶向控释, 显著增强药物选择性[12]。目前, 研究人员针对线粒体微环境开发了一系列能够精准靶向线粒体并响应微环境变化的纳米载体, 为癌症治疗提供了新的思路。例如, Ma等[13]设计了一种针对紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 耐药性的靶向递药载体 glucose-PEG-peptide-TPP-PAMAM-PTX。该载体以PAMAM为核心, 通过基质金属蛋白酶2敏感肽和TPP偶联, 二硫键与药物PTX偶联。该材料首先靶向富含葡萄糖转运蛋白1的肿瘤细胞, 随后在细胞内金属蛋白酶2敏感肽被酶解导致PEG层被剥离、TPP暴露, TPP暴露后继续引导载体靶向线粒体, 在线粒体内高GSH环境下, 二硫键被还原断裂, PTX快速释放, 从而克服肿瘤细胞的多药耐药性。

此外, 线粒体基质与溶酶体的pH梯度差 (≈ 8.0 *vs.* ≈ 4.5) 为递送系统提供了双重靶向依据, 例如聚组氨酸修饰的纳米粒可在溶酶体酸性环境中解体, 并在碱性线粒体基质中释放药物以精准调控代谢[14]。

为突破单一响应机制的局限性, 多模态协同系统成为前沿研究方向。例如, Jing等[15]构建了一种“受体−细胞器”双靶向协同系统: 以PAMAM为纳米载体, 通过共价偶联叶酸, 实现炎症巨噬细胞表面叶酸受体靶向; 同时连接线粒体靶向光热剂IR808, 使其在近红外光下提升局部温度直接爆破线粒体, 通过静电吸附负载的抗炎药雷公藤红素也被光热触发释放, 在线粒体碱性微环境中快速扩散, 抑制促炎因子表达, 阻断炎症级联反应。该系统如同“智能制导导弹”, 通过“主动靶向−细胞器定位−光热/化疗协同”三重机制精准调控炎症微环境, 为线粒体靶向药物递送提供新范式。

**2.2 纳米载体的多功能化设计与药剂学突破** 近年来, 纳米载体技术通过材料创新与功能整合在线粒体靶向递送领域取得了突破性进展, 其核心优势体现在精准靶向设计、智能响应机制和药剂学优化的协同作用, 成功克服了传统递送系统的尺寸限制、溶酶体逃逸效率低及稳定性差等瓶颈。

脂质体凭借仿生双层磷脂结构和高载药能力成为线粒体递送的首选载体。经典MITO-Porter系统通过整合二油酰磷脂酰乙醇胺的膜融合特性与八聚精氨酸肽的穿膜能力, 将质粒DNA递送至特定细胞的线粒体基质, 转染效率达传统脂质体的15倍, 成为线粒体基因治疗的里程碑[16]; 而新型VDAC2抗体修饰脂质体则利用抗原−抗体特异性直接靶向VDAC2, 诱导肝细胞癌细胞的铁死亡和凋亡[9]。

聚合物纳米粒通过功能修饰实现精准时空控制。例如, Lin等[17]设计了一种以多面体笼型倍半硅氧烷 (polyhedral oligomeric silsesquioxane, POSS) 为核, *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺聚合物为壳的两亲性自组装杂化聚合物纳米粒, 其可通过物理包裹将TPP修饰的多柔比星 (TPP-Dox) 载入POSS内核以屏蔽其正电荷, 后将药物递送至线粒体后破坏肿瘤细胞线粒体功能, 导致凋亡信号的放大、能量供应耗竭以及多种转移相关蛋白的抑制; 而Chen等[18]通过在壳聚糖纳米颗粒表面修饰甘草酸实现肝细胞靶向, 并利用pH敏感的席夫碱结构实现溶酶体逃逸, 最终借助纳米颗粒表面正电荷与线粒体负电荷膜电位的静电相互作用实现线粒体靶向, 使药物直接作用于线粒体, 触发癌细胞凋亡。

在无机材料领域, 介孔二氧化硅纳米颗粒凭借高比表面积 (> 1 000 m$^2$·g$^{-1}$) 和可调孔径 (2～10 nm) 成为多功能平台。例如, Meng等[19]利用介孔二氧化硅纳米颗粒的多孔结构, 将TPP和响应线粒体内微环境的前药FeCO封装其中, 使药物靶向肿瘤细胞的线粒体释放, 从而提高疗效并降低毒性。

药剂学优化策略如微流控技术 [多分散指数 (polydispersity index, PDI) < 0.15]、仿生涂层 ($t_{1/2}$ > 24 h) 及海藻糖冻干工艺 (12个月储存后PDI < 0.2) 正推动纳米药物技术的转化。这些技术通过提高药物的稳定性和递送效率, 为纳米药物的临床应用提供了坚实的基础。

**2.3 病毒载体的基因递送与精准编辑** 病毒载体在线粒体基因治疗中展现出独特优势, 其与靶向序列的融合为线粒体靶向提供了另一创新维度。AVV因其低免疫原性和组织特异性优势, 已成为线粒体基因治疗的重要递送工具。通过基因工程将MTS与AAV衣壳蛋白融合, 可突破线粒体双层膜屏障, 实现治疗基因的精准递送。例如, 在Leber遗传性视神经病变的III期临床试验中, 研究者通过向玻璃体内注射AAV2-ND4载体, 将野生型ND4基因递送至视网膜神经节细胞线粒体,接受治疗的患者96周时治疗眼视力显著改善 (LogMAR ⩾ 0.3)[8]。这一突破性进展标志着病毒载体首次在人类线粒体疾病中实现功能性治愈。然而, AAV的临床应用仍面临多重挑战: 重复给药诱导的中和抗体会显著降低递送效率[20]; 约30%～60%人群因自然感染预存AAV抗体, 可能直接中和治疗载体[21]; 此外, 高剂量AAV引发的肝损伤或神经毒性风险主要与衣壳蛋白触发的补体激活及细胞应激相关[22,23]。

为克服这些限制, 研究者转向慢病毒载体与

CRISPR-Cas9 系统的协同创新, 开发出线粒体碱基编辑器 DdCBE (DddA-derived cytosine base editor)。通过将 MTS 序列与 DdCBE 融合, 该技术可在活体动物中实现 mtDNA 的精准编辑[24]。在 mtDNA m.8993T>G 突变的 Leigh 综合征大鼠模型中, 胚胎注射优化后的 DdCBE 变体可实现约 50% 的野生型 mtDNA 恢复, 显著改善疾病相关表型。这一突破为异质性 mtDNA 突变相关疾病的根治提供了新策略。值得注意的是, DdCBE 的递送效率受线粒体膜电位及细胞类型显著影响[25], 且 mtDNA 异质性阈值管理仍是其关键挑战[26]。此外, 尽管通过密码子优化和尿嘧啶糖基化酶抑制剂结构域融合等手段可显著降低 DdCBE 的脱靶率, 但其仍可能在核基因组中引起低频脱靶编辑[27]。目前, 慢病毒载体尚未被广泛应用于 DdCBE 递送, 主要受限于其基因组整合风险与线粒体靶向效率不足[28]。

**2.4 仿生载体与新型递送工具的协同创新** 仿生载体技术正经历从形态模拟到机制复现的范式跃迁。传统仿生载体主要聚焦生物体结构特征的直接模拟, 如构建红细胞膜结构的纳米载体或病毒衣壳的自组装颗粒等。随着学科交叉的深入, 其内涵已突破结构仿生的范畴, 向“生物逻辑工程化”方向拓展: 不仅涵盖多糖、蛋白质等天然生物材料的构效关系模拟, 更延伸至受体–配体识别、线粒体呼吸链电子传递等生物机制的功能复现, 形成结构仿生与机制仿生协同驱动的技术体系。这种广义的仿生设计强调“生物逻辑的工程化再现”, 而非单纯形态复制。这种基于天然生物逻辑的工程化创新, 进一步拓展了线粒体递送的边界。

在递送工具层面, 生物机制仿生策略展现出显著优势。叶酸修饰介孔碳纳米平台 (M27-39@FA-MCNs) 通过模拟天然叶酸–受体识别机制, 结合结肠黏附特性实现双级靶向递送, 将抗菌肽 M27-39 精准递送至结直肠癌细胞线粒体, 激活凋亡通路并显著改善了结直肠癌症状[29]; 而富氧空位氧化钼纳米片构建的线粒体靶向光催化剂 (Mt-VR-MoO3), 则创新性模拟线粒体呼吸链的电子传递过程, 在近红外光下诱导活性氧爆发与细胞焦亡, 显著抑制乳腺癌模型肿瘤生长[30], 展现了能量转化仿生的独特价值。

与此同时, 仿生载体设计在多机制整合层面取得突破性进展。例如, 透明质酸/葡聚糖双功能胶束通过结构仿生模拟天然多糖结构, 并整合 ROS 响应型氧释放机制, 实现化疗药物 (熊果酸和多柔比星) 在线粒体的靶向蓄积, 提升耐药乳腺癌细胞化疗敏感性[31]。值得关注的是, 金属有机骨架的晶体结构类似于生物体内的天然晶体结构, 可提供高度有序的药物负载和释放环境, 其与仿生配体复合体系通过多级仿生策略实现了性能跃升: 在保留晶体结构仿生优势的基础上, 模拟线粒体代谢物转运机制, 结合声动力–代谢重编程联合策略, 同步破坏线粒体膜电位并调控脂代谢通路, 可极大抑制肝胆管癌的耐药性[32]。

这些创新策略通过材料功能化、天然结构模拟及动态响应机制的深度融合, 不仅突破了传统递送系统的物理屏障和脱靶限制, 更实现了从能量代谢干预到免疫调控的多层次线粒体功能精准调控。

**2.5 药剂学关键参数的系统优化与评价体系** 近年来, 药剂学全链条优化技术在多维度取得突破性进展, 贯穿了载体的设计、生产与评价。载药工艺方面, 主动载药策略通过跨膜质子梯度驱动药物定向富集。以 pH 梯度法为例, 该技术可使多柔比星脂质体包封率较传统 PLGA 纳米粒大幅提高[33]; 而微流控技术的引入更是革新了生产工艺, 交叉流式芯片 (NanoAssemblr 平台) 通过精准控制流速比 (水相∶有机相 = 3∶1) 和温度 25 ± 0.5 ℃, 实现单分散脂质体的规模化制备, 其粒径变异系数 < 5%[34]。稳定性优化方面, 海藻糖作为冻干保护剂通过氢键网络稳定磷脂双分子层, 显著抑制复溶后脂质纳米粒的聚集。研究表明, 添加 20% 海藻糖的脂质纳米粒复溶后粒径变化可控制在 5～10 nm 内, PDI 稳定在 0.12～0.15, 结合–80 ℃深冷储存技术, 纳米制剂的货架期延长至 12～18 个月, 且生物活性无明显衰减[35]。评价体系创新则体现在仿生模型与人工智能的深度融合, 类器官–微流控联合平台模拟的血脑屏障剪切力环境, 使载体穿透效率的预测准确率显著高于 Transwell 模型, 机器学习进一步揭示载体表面拓扑结构 (如分形维数) 是穿透效率的关键调控因子[36]。这些技术创新正重构“设计–制备–评价”的闭环优化范式, 为突破复杂递送系统临床转化瓶颈铺就关键技术基石。

## 3 挑战与未来方向: 面向临床的递送系统再设计

尽管取得显著进展, 线粒体靶向递送仍面临三大核心挑战: ① 膜电位依赖性策略在病理条件下的普适性不足 (如缺血性心脏病中线粒体去极化); ② 载体与线粒体膜界面相互作用的动态机制尚未完全解析 (如纳米载体诱导的膜脂质过氧化); ③ 复杂载体系统 (如仿生杂化纳米粒) 的规模化生产成本高昂[37]。

**3.1 提升递送效率: 突破线粒体双膜屏障** 线粒体靶向递送系统在临床应用中面临着严峻挑战, 如何有效突破线粒体双膜屏障制约着药物递送效率和精准治疗的实现。传统依赖 ΔΨm 的被动靶向策略在病理条件下 (如缺血性心脏病) 效率显著降低, 其机制与 ΔΨm 的病理性波动密切相关[38]。为突破这一瓶颈, 开发膜电位非依赖型策略已成为领域焦点。例如, 仿生载体

设计中, 心磷脂修饰的脂质体通过模拟线粒体膜脂质组成 (心磷脂含量 ≥ 20%), 利用脂质交换机制提升跨膜效率[39]; 在外泌体融合系统中, 工程化外泌体通过外泌体表面展示线粒体膜融合蛋白 (mitofusin, MFN), 可通过促进膜融合将药物递送至线粒体基质[40]。MFN作为线粒体外膜的关键融合蛋白, 能够介导外泌体与线粒体的膜结构重组。这些策略可在一定程度上解决病理状态下ΔΨm不稳定的限制, 同时通过仿生设计或生物分子工程实现更高精度的靶向控制。智能响应型递送系统的兴起更是进一步拓宽了精准治疗的边界。基于线粒体独特的微环境特征, Dai等[41]开发了硫缩酮键或二硫键连接的纳米载体, 利用ROS/GSH的氧化还原梯度差异实现药物的时序控释。这种双重响应机制可显著提升靶向精度并减少脱靶毒性。在基因治疗领域, 线粒体靶向递送技术正逐步走向临床转化。腺相关病毒载体 (AAV-MTS) 通过融合MTS序列成功递送ND4基因至线粒体, 用于修复LHON患者mtDNA突变[42]。III期临床试验显示, 该策略可显著改善部分患者的视觉功能, 但其疗效受基因突变类型、载体剂量及个体代谢差异影响, 需进一步优化递送效率[43]。

**3.2 安全性优化: 平衡疗效与生物相容性** 纳米载体与病毒载体的长期安全性是临床转化的核心挑战。近年来研究表明, 工程化纳米材料可能通过氧化应激或膜电位干扰引发线粒体毒性[44]。例如, 无机纳米颗粒 (如金纳米颗粒) 在胞内递送过程中, 其表面高反应活性可诱导线粒体膜电位的去极化, 进而导致膜通透性转换孔异常开放[45]。为缓解此类风险, 材料工程策略成为研究焦点: 通过表面修饰聚乙二醇或采用可降解聚合物 (如聚乳酸−羟基乙酸), 可显著降低纳米载体的生物不相容性[46]; 同时, 设计尺寸小于6 nm的载体可实现肾脏主动清除, 减少肝肾蓄积引发的慢性毒性[47]。在病毒载体领域, 腺相关病毒AAV因其低免疫原性被广泛用于基因治疗, 但预存中和抗体仍可能限制其重复给药效率[48]。通过衣壳蛋白定向进化技术, 研究者可筛选出免疫逃逸突变体, 例如突变型AAV-DJ载体, 其对中和抗体的敏感性显著降低[49]。此外, 靶向线粒体的AAV-MTS载体在临床试验中显示出良好的短期安全性, 但其长期基因组整合风险仍需系统评估[44]。

**3.3 规模化生产与标准化评价体系** 复杂载体系统 (如dMON@FeCo复合纳米颗粒) 的临床转化面临两大核心挑战: 合成成本高昂与批次间质量波动。传统方法 (如溶剂挥发法) 依赖多步骤操作与人工干预, 导致规模化生产成本激增且重复性差。为突破这一瓶颈, 微流控技术通过层流聚焦与精准流体控制, 实现了单分散脂质体的高效合成 (PDI < 0.1), 其成本较传统薄膜水化法显著降低[50]。这一研究通过减少有机溶剂残留与批次间差异, 为规模化生产奠定了基础。

为进一步提升产业化可行性, 连续化集成平台成为研究焦点。You等[51]利用工程化细菌外膜囊泡构建的共递送纳米平台, 可用于共递送多柔比星和CD47-siRNA至肿瘤细胞, 以增强胶质母细胞瘤的免疫治疗效果, 展示了连续化集成平台在构建复杂药物递送系统中的潜力。为确保载体的安全性与有效性, 关键质量属性的标准化制定至关重要。基于行业共识与FDA纳米药物指南 (2023), 线粒体靶向载体的关键质量属性应包括以下核心参数: 粒径 < 100 nm (通过增强渗透滞留效应避免肝脏捕获); zeta电位: +10～30 mV (平衡细胞膜穿透与血液稳定性); 载药量 > 80% (确保最低有效剂量); 靶向效率 > 20% (通过共聚焦显微镜与线粒体分离实验定量验证)[52]。

**3.4 个体化治疗: 从基因编辑到精准递送** 线粒体DNA异质性是遗传性线粒体疾病治疗的核心挑战, 其在不同细胞类型中的突变负荷差异要求治疗方案必须个体化定制。Glynos等[53]在两种人类mtDNA疾病小鼠模型中进行了高通量单细胞基因分型, 发现mtDNA异质性水平在细胞间存在意想不到的差异, 这些差异在胚胎发育期出现, 并在整个生命过程中逐渐增加。这一发现推动靶向清除突变型mtDNA的精准策略的发展。基于此, 研究者开始探索CRISPR-Cas9系统的线粒体精准编辑技术。将Cas9蛋白与MTS融合开发出的MTS-CRISPR系统, 将Cas9蛋白导入线粒体, 使其与mtDNA相互作用[54]。尽管受限于线粒体膜电位与DNA修复机制, CRISPR-Cas9系统编辑效率只有在特定的细胞类型和实验条件下突破80%, 该技术已展现出从根源修复mtDNA突变的潜力[55]。

**3.5 临床转化挑战与整合策略** 尽管成果显著, 线粒体靶向治疗仍面临三大瓶颈: ① 递送效率限制: 线粒体膜的双层结构及溶酶体逃逸效率低下是递送失败的主要原因; ② 长期安全性风险: 病毒载体可能诱发免疫反应, 而纳米材料的器官蓄积需通过肾脏清除工程优化; ③ 个体化治疗需求: mtDNA异质性要求开发患者特异性编辑方案。随着单细胞测序技术解析mtDNA异质性的精度突破[56], 结合人工智能驱动的预测模型, 未来线粒体医学将聚焦于“递送−编辑−监测”闭环治疗体系的构建, 将线粒体疾病治疗模式从“单向干预”革新为“动态精准调控”。

**3.6 跨学科整合: 构建闭环治疗系统** 线粒体医学的跨学科融合正在重塑精准治疗范式。通过整合药剂学、合成生物学与计算科学, 研究者致力于闭环动态调控与临床级工具开发的深度融合, 使线粒体医学从单一

技术突破迈向多学科协同创新。例如, ROS/ATP双响应型纳米载体通过硫缩酮键控释模块与MTS的协同作用, 在缺血性脑卒中引起的氧化应激损伤中提高神经细胞的存活率[57]; 进一步利用线粒体膜电位差异, 能实现肿瘤选择性药物蓄积, 为肿瘤治疗提供了新策略[58]。与此同时, 合成生物学工具的突破推动了mtDNA编辑的精准化, 如转录激活因子样效应物连接脱氨酶 (transcription activator-like effector linked deaminase, TALED) 是一种用于线粒体DNA腺嘌呤碱基编辑的工具, 通过其单链DNA特异性腺苷脱氨酶TadA8e介导mtDNA中的A-to-G编辑, 基于碱基切除修复机制开发的增强型的TALED, 显著提高了目标位点的编辑效率[59]; 而Tet-On基因开关则能在小鼠模型中动态调控ROS水平, 维持线粒体稳态[60]。在临床转化层面, 类器官–芯片平台与靶向递送技术的结合加速了个体化治疗进程。基于诱导多能干细胞衍生的血脑屏障仿生芯片, 开发了一种高度生理相关的体外血脑屏障模型, 能够模拟转铁蛋白受体介导的治疗性抗体的转胞吞作用, 为研究药物递送机制和筛选药物提供了高通量工具, 特别是针对中枢神经系统疾病的药物[61]。

总之, 线粒体靶向递送系统的未来研究方向应聚焦于靶向机制的深度解析与革新、载体设计的多功能集成以及临床转化的个体化策略: ① 需从机制层面深入解析载体与线粒体膜的相互作用, 开发非膜电位依赖型靶向策略, 以提升递送效率并克服病理状态下膜电位波动的限制; ② 载体设计应从单一功能向多功能集成转变, 构建“诊断–治疗–监测”一体化的智能载体, 通过多组学技术优化载体的时空控释精度和生物相容性; ③ 临床转化需结合患者特异性屏障图谱, 借助空间组学和代谢组学指导个体化递送方案的设计, 加速精准治疗技术的临床落地。这一研究范式将为线粒体靶向递送解决递送效率、安全性和个体化治疗的核心瓶颈提供理论和技术支撑。

## 4 结语

本文系统梳理了近10年来线粒体靶向递送系统的技术创新与临床应用进展, 呈现出几大趋势: ① 靶向配体修饰策略 (如TPP) 通过正电荷或线粒体膜电位特异性识别, 显著提升纳米载体的线粒体富集效率, 例如TPP修饰脂质体在肝癌细胞线粒体中的定位效率可达传统载体的4.2倍[62]; ② 刺激响应型载体 (如ROS/pH/GSH敏感材料) 通过微环境触发实现时空精准药物释放, 例如, 基于缩硫酮linker的ROS响应系统可在肿瘤微环境中释放化疗药物, 同时激活光动力治疗[63]; ③ 多功能协同治疗系统崭露头角, 例如近红外光响应载体联合光动力治疗与NO气体释放, 通过破坏线粒体氧化还原平衡和诱导铁死亡, 显著增强抗肿瘤效果[64]。但当前研究仍面临三大挑战: ① 体内靶向效率受微环境影响显著, 如肿瘤异质性构成多重递送屏障, 显著限制纳米载体在临床模型中的瘤内富集[65]; ② 载体–线粒体相互作用机制尚未完全解析, 特别是跨膜转运过程中脂质双层与载体的能量依赖机制仍存在争议[66]; ③ 长期生物安全性评估体系不完善, 部分研究显示线粒体膜电位持续扰动可能引发功能代偿性损伤[67]。未来需融合药剂学、合成生物学与计算材料学, 开发仿生智能载体与闭环反馈系统, 同时建立标准化临床前评价体系, 加速从基础研究到临床转化的跨越。相关研究人员应重点关注: ① 开发仿生型跨膜增强载体, 如模拟线粒体膜脂质组成的融合脂质体; ② 构建微环境自适应智能系统, 整合实时成像与反馈调控功能, 如GSH响应型介孔二氧化硅载体; ③ 推进多组学驱动的递送系统优化, 通过蛋白质组学与代谢组学揭示载体–线粒体互作网络。

**作者贡献**: 吉朗林负责文献查阅、文章撰写; 张怡之、杜丽娜负责分析指导。

**利益冲突**: 本文不存在任何与本稿件相关的利益冲突。

## References

[1] Han M, Li C, Guo WW, et al. Mitochondrial drug delivery for cancer therapy [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2016, 51: 257-263.

[2] Biasutto L, Dong LF, Zoratti M, et al. Mitochondrially targeted anti-cancer agents [J]. Mitochondrion, 2010, 10: 670-681.

[3] Murphy MP. Targeting lipophilic cations to mitochondria [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1777: 1028-1031.

[4] Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) [J]. Int J Mol Med, 2019, 44: 3-15.

[5] Yang BY, Song BP, Shankar S, et al. Recent advances in liposome formulations for breast cancer therapeutics [J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78: 5225-5243.

[6] Biswas S, Dodwadkar NS, Deshpande PP, et al. Liposomes loaded with paclitaxel and modified with novel triphenylphosphonium-PEG-PE conjugate possess low toxicity, target mitochondria and demonstrate enhanced antitumor effects *in vitro* and *in vivo* [J]. J Control Release, 2012, 159: 393-402.

[7] Chacinska A, Koehler CM, Milenkovic D, et al. Importing mitochondrial proteins: machineries and mechanisms [J]. Cell, 2009, 138: 628-644.

[8] Newman NJ, Yu-Wai-Man P, Subramanian PS, et al. Randomized trial of bilateral gene therapy injection for m.1 1778G>A *MT-ND4* Leber optic neuropathy [J]. Brain, 2023, 146: 1328-1341.

[9] Luo P, Zhang Q, Shen S, et al. Mechanistic engineering of

celastrol liposomes induces ferroptosis and apoptosis by directly targeting VDAC2 in hepatocellular carcinoma [J]. Asian J Pharm Sci, 2023, 18: 100874.

[10] Wu M, Chen LH, Chen LH, et al. Changes of cardiolipin involve in the occurrence and development of mitochondrial dysfunction associated with non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Cent South Univ Med Sci [中南大学学报(医学版)], 2021, 46: 653-657.

[11] Xu XD, Saw PE, Tao W, et al. ROS-responsive polyprodrug nanoparticles for triggered drug delivery and effective cancer therapy [J]. Adv Mater, 2017, 29: 10.1 002/adma.2 01700141.

[12] Cheng R, Feng F, Meng FH, et al. Glutathione-responsive nanovehicles as a promising platform for targeted intracellular drug and gene delivery [J]. J Control Release, 2011, 152: 2-12.

[13] Ma PK, Chen JH, Bi XN, et al. Overcoming multidrug resistance through the glut1-mediated and enzyme-triggered mitochondrial targeting conjugate with redox-sensitive paclitaxel release [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2018, 10: 12351-12363.

[14] Hong W, Chen DW, Zhang XJ, et al. Reversing multidrug resistance by intracellular delivery of Pluronic® P85 unimers [J]. Biomaterials, 2013, 34: 9602-9614.

[15] Jing ZQ, Wang X, Yan TY, et al. Construction of folate receptors and mitochondria targeting celastrol-loaded PAMAM nano-drug delivery system and its *in vitro* anti-inflammatory effect [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 550-559.

[16] Yamada Y, Akita H, Kamiya H, et al. MITO-Porter: a liposome-based carrier system for delivery of macromolecules into mitochondria *via* membrane fusion [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1778: 423-432.

[17] Lin X, Li L, Li SJ, et al. Targeting the opening of mitochondrial permeability transition pores potentiates nanoparticle drug delivery and mitigates cancer metastasis [J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8: 2002834.

[18] Chen ZP, Zhang LJ, Song Y, et al. Hierarchical targeted hepatocyte mitochondrial multifunctional chitosan nanoparticles for anticancer drug delivery [J]. Biomaterials, 2015, 52: 240-250.

[19] Meng J, Jin ZK, Zhao PH, et al. A multistage assembly/disassembly strategy for tumor-targeted CO delivery [J]. Sci Adv, 2020, 6: eaba1362.

[20] Mingozzi F, High KA. Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy [J]. Blood, 2013, 122: 23-36.

[21] Boutin S, Monteilhet V, Veron P, et al. Prevalence of serum IgG and neutralizing factors against adeno-associated virus (AAV) types 1, 2, 5, 6, 8, and 9 in the healthy population: implications for gene therapy using AAV vectors [J]. Hum Gene Ther, 2010, 21: 704-712.

[22] Guo YW, Chen JL, Ji WY, et al. High-titer AAV disrupts cerebrovascular integrity and induces lymphocyte infiltration in adult mouse brain [J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2023, 31: 101102.

[23] Hinderer C, Katz N, Buza EL, et al. Severe toxicity in nonhuman primates and piglets following high-dose intravenous administration of an adeno-associated virus vector expressing human SMN [J]. Hum Gene Ther, 2018, 29: 285-298.

[24] Mok BY, De Moraes MH, Zeng J, et al. A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing [J]. Nature, 2020, 583: 631-637.

[25] Silva-Pinheiro P, Nash PA, Van Haute L, et al. *In vivo* mitochondrial base editing *via* adeno-associated viral delivery to mouse post-mitotic tissue [J]. Nat Commun, 2022, 13: 750.

[26] Kar B, Castillo SR, Sabharwal A, et al. Mitochondrial base editing: recent advances towards therapeutic opportunities [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24: 5798.

[27] Xie L, Cao YQ, Li D, et al. Reducing off-target effects of DdCBEs by reversing amino acid charge near DNA interaction sites [J]. Cell Res, 2024, 34: 877-881.

[28] Sakuma T, Barry MA, Ikeda Y. Lentiviral vectors: basic to translational [J]. Biochem J, 2012, 443: 603-618.

[29] Wang J, Zhang L, Xin H, et al. Mitochondria-targeting folic acid-modified nanoplatform based on mesoporous carbon and a bioactive peptide for improved colorectal cancer treatment [J]. Acta Biomater, 2022, 152: 453-472.

[30] Zhao B, Ye JY, Chen ZY, et al. Mitochondria-targeted photoredox catalysis activates pyroptosis for effective tumor therapy [J]. Adv Funct Mater, 2025, 35: 2417681.

[31] Guo YF, Yang XR, Zhang YH, et al. Hyaluronic acid/dextran-based polymeric micelles co-delivering ursolic acid and doxorubicin to mitochondria for potentiating chemotherapy in MDR cancer [J]. Carbohydr Polym, 2024, 332: 121897.

[32] Duan Y, Deng MQ, Liu B, et al. Mitochondria targeted drug delivery system overcoming drug resistance in intrahepatic cholangiocarcinoma by reprogramming lipid metabolism [J]. Biomaterials, 2024, 309: 122609.

[33] Liu M, Lu WY, Pan J, et al. Study on adjusting pH gradient between the internal and external water phase of liposome using gel filtration chromatography [J]. Res Explor Lab (实验室研究与探索), 2017, 36: 18-20.

[34] Wang Z, Zhou J, Wang J. Microfluidic technology for preparation of stable nucleic acid lipid nanoparticles (SNALP) [J]. Exp Technol Manag, 2022, 39: 57-62.

[35] Shen HW, Li MH, Xu N, et al. Preparation and stability study of lyophilized lentiviral vector [J]. J East China Norm Univ Nat Sci [华东师范大学学报(自然科学版)], 2021, (03): 114-127.

[36] Nabi AE, Pouladvand P, Liu LT, et al. Machine learning in drug development for neurological diseases: a review of blood brain barrier permeability prediction models [J]. Mol Inform, 2025, 44: e202400325.

[37] Gadelhak Y, El-Azazy M, Shibl MF, et al. Cost estimation of synthesis and utilization of nano-adsorbents on the laboratory and industrial scales: a detailed review [J]. Sci Total Environ, 2023, 875: 162629.

[38] Garlid KD, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: the K (+) cycle [J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1606: 23-41.

[39] Boddapati SV, D'Souza GG, Erdogan S, et al. Organelle-targeted nanocarriers: specific delivery of liposomal ceramide to mitochondria enhances its cytotoxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. Nano Lett, 2008, 8: 2559-2563.

[40] Cipolat S, Martins De Brito O, Dal Zilio B, et al. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101: 15927-15932.

[41] Dai Y, Guo YF, Tang WC, et al. Reactive oxygen species-scavenging nanomaterials for the prevention and treatment of age-related diseases [J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22: 252.

[42] Newman NJ, Yu-Wai-Man P, Carelli V, et al. Efficacy and safety of intravitreal gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy treated within 6 months of disease onset [J]. Ophthalmology, 2021, 128: 649-660.

[43] Sahel JA, Newman NJ, Yu-Wai-Man P, et al. Gene therapies for the treatment of Leber hereditary optic neuropathy [J]. Int Ophthalmol Clin, 2021, 61: 195-208.

[44] Chou TH, Hao Z, Alba D, et al. Mitochondrially targeted gene therapy rescues visual loss in a mouse model of Leber's hereditary optic neuropathy [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24: 17068.

[45] Oladimeji O, Akinyelu J, Daniels A, et al. Modified gold nanoparticles for efficient delivery of betulinic acid to cancer cell mitochondria [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22: 5072.

[46] Makharadze D, Del Valle LJ, Katsarava R, et al. The art of PEGylation: from simple polymer to sophisticated drug delivery system [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26: 3102.

[47] Choi HS, Liu WH, Misra P, et al. Renal clearance of quantum dots [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25: 1165-1170.

[48] Dalkara D, Byrne LC, Klimczak RR, et al. *In vivo*-directed evolution of a new adeno-associated virus for therapeutic outer retinal gene delivery from the vitreous [J]. Sci Transl Med, 2013, 5: 189ra176.

[49] Tse LV, Klinc KA, Madigan VJ, et al. Structure-guided evolution of antigenically distinct adeno-associated virus variants for immune evasion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114: E4812-E4821.

[50] Shan H, Sun X, Liu X, et al. One-step formation of targeted liposomes in a versatile microfluidic Mixing device [J]. Small, 2023, 19: e2205498.

[51] You HY, Zhang SL, Zhang YW, et al. Engineered bacterial outer membrane vesicles-based doxorubicin and CD47-siRNA co-delivery nanoplatform overcomes immune resistance to potentiate the immunotherapy of glioblastoma [J]. Adv Mater, 2025, 37: e2418053.

[52] Wang XH, Xu ZY, Wang J, et al. A mitochondria-targeted biomimetic nanomedicine capable of reversing drug resistance in colorectal cancer through mitochondrial dysfunction [J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12: e2410630.

[53] Glynos A, Bozhilova LV, Frison M, et al. High-throughput single-cell analysis reveals progressive mitochondrial DNA mosaicism throughout life [J]. Sci Adv, 2023, 9: eadi4038.

[54] Li MY, Wu LM, Si HB, et al. Engineered mitochondria in diseases: mechanisms, strategies, and applications [J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10: 71.

[55] Jo A, Ham S, Lee GH, et al. Efficient mitochondrial genome editing by CRISPR/Cas9 [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 305716.

[56] Guo XX, Xu WL, Zhang WP, et al. High-frequency and functional mitochondrial DNA mutations at the single-cell level [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023, 120: e2201518120.

[57] Zhang Y, Zhang HY, Zhao FQ, et al. Mitochondrial-targeted and ROS-responsive nanocarrier *via* nose-to-brain pathway for ischemic stroke treatment [J]. Acta Pharm Sin B, 2023, 13: 5107-5120.

[58] Li Y, Li XM, Wei LS, et al. Advancements in mitochondrial-targeted nanotherapeutics: overcoming biological obstacles and optimizing drug delivery [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1451989.

[59] Cho SI, Lim K, Hong S, et al. Engineering TALE-linked deaminases to facilitate precision adenine base editing in mitochondrial DNA [J]. Cell, 2024, 187: 95-109.e 126.

[60] Taguchi J, Yamada Y, Ohta S, et al. A versatile *in vivo* platform for reversible control of transgene expression in adult tissues [J]. Stem Cell Reports, 2025, 20: 102373.

[61] Burgio F, Gaiser C, Brady K, et al. A perfused *in vitro* human iPSC-derived blood-brain barrier faithfully mimics transferrin receptor-mediated transcytosis of therapeutic antibodies [J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43: 4173-4187.

[62] Wang F, Zhang C, Zheng S. Preparation of triptolide TPP-PEG-PCL liposomes with mitochondrial targeting and its promotion apoptosis of hepatic tumor cells [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 7473-7483.

[63] Cui D, Yue C, Yang Y. A mitochondria-targeted nanodrug delivery system and its preparation and application: China, CN105833289B [P]. 2019-04-09[2025-05-25].

[64] Bao Z, Huang Y, Wang H, et al. A near-infrared light-responsive nanomaterial for combined tumor therapy and its preparation and application: patent application, CN119139495A [P]. 2024-12-17 [2025-05-25].

[65] Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, et al. Engineering precision nanoparticles for drug delivery [J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20: 101-124.

[66] Berman MC. Slippage and uncoupling in P-type cation pumps; implications for energy transduction mechanisms and regulation of metabolism [J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1513: 95-121.

[67] Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, et al. Mitochondrial membrane potential [J]. Anal Biochem, 2018, 552: 50-55.