·新药注册与审评技术·

# mRNA 疫苗非临床安全性评价的关注点

郑明岚,李小芬,李紫薇,张梦然,尹慧芳,范　乙*
(国家药品监督管理局药品审评检查长三角分中心,上海 201210)

[摘要] mRNA 疫苗已经成为治疗多种疾病的最有前景的平台,包括传染病、癌症、遗传性疾病和自身免疫性疾病。本文重点综述了 mRNA 疫苗发展现状、存在的挑战、非临床评价相关指导原则、非临床安全性评价的关注点,重点探讨非临床研究需关注概念验证、给药途径、种属选择和毒性特点(如炎症反应、肝脾毒性和免疫反应),以期为未来研究提供重要参考。

[关键词] mRNA 疫苗;非临床安全性评价;脂质纳米颗粒;免疫毒性;炎症反应;肝脾毒性
[中图分类号] R95　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003-3734(2026)18-1932-07

# Key points for nonclinical safety evaluation of mRNA vaccines

ZHENG Ming-lan, LI Xiao-fen, LI Zi-wei, ZHANG Meng-ran, YIN Hui-fang, FAN Yi*
(*Yangtze River Delta Center for Drug Evaluation and Inspection of National Medical Products Administration*, *Shanghai* 201210, *China*)

[**Abstract**] mRNA therapeutics have emerged as a promising platform in treating a wide range of diseases, including cancers, infections, genetic disorders, and autoimmune diseases. This article reviews the current development status of mRNA vaccines, existing challenges, relevant guidelines for nonclinical evaluation, and key focuses of nonclinical safety evaluation. Nonclinical research should focus on proof of concept, administration routes, species selection, and toxicity characteristics (such as inflammatory responses, hepatosplenic toxicity, and immune responses). This article systematically summarizes the research progress and safety evaluation strategies of mRNA vaccines, providing important references for future studies.

[**Key words**] mRNA vaccine;non-clinical safety evaluation;lipid nanoparticles;immunotoxicity;inflammatory response;liver and spleen toxicity

信使核糖核酸(messenger RNA,mRNA)是由 DNA 的一条链为模板转录而来,携带遗传信息,能够指导蛋白质合成的单链核糖核酸。近年来 mRNA 技术发展迅速,使得能够将编码抗原的 mRNA 分子传递到宿主细胞中,促进机体内的抗原表达,引起机体特异性的免疫反应[1]。2019 年,mRNA 技术在预防新型冠状病毒感染方面取得了显著成功后,引发了 mRNA 疫苗的研发热潮。mRNA 疫苗是将外源基因序列经过转录等工艺制备的 mRNA,通过特定的递送系统导入细胞并表达目的蛋白、刺激机体产生特异性免疫应答的一类产品。与传统技术疫苗相比,mRNA 技术可将编码抗原的 mRNA 分子以脂质体包裹的方式递送到细胞中,该 mRNA 分子可作为模板来指导细胞内的核糖体合成特异性抗原,激活机体的适应性免疫反应,产生中和抗体,识别并中和侵入宿主细胞的病原体[2-3]。其研发速度快,可编码更多的抗原表位,适用范围广。其次,mRNA 技术为无细胞系统制造,可经济、高效、快速生产[4]。再次,mRNA 技术不涉及活病毒或减毒病毒,可以有效

[基金项目] 长三角区域药品领域创新与高质量发展监管科学研究资助项目(24692122700)
[作者简介] 郑明岚,女,副研究员,研究方向:新药药理毒理审评。E-mail: zhengml@ydcdei.org.cn。
[通讯作者] *范乙,男,高级工程师,研究方向:药品审评管理。E-mail: fangy@cde.org.cn。
[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.18.004

避免与病毒相关的免疫毒性或者插入突变的潜在风险。此外,mRNA 不会改变机体的 DNA,且使用的合成 mRNA 易被机体降解,通常在体内可快速降解,限制了其在细胞和组织中的持续时间,提高了安全性[5-6]。上述特点使得 mRNA 技术成为一种安全、有效的疫苗研发手段。本文通过深入探讨 mRNA 技术在疫苗领域的研发、应用及挑战,结合国内外研究进展和上市产品情况,阐述非临床研究的关注点,为探索和建立适用于 mRNA 疫苗的非临床安全性评价科学方法提供参考。

## 1 全球 mRNA 疫苗发展现状

截至 2025 年 10 月,全球已有 16 个 mRNA 疫苗产品获得正式批准上市,涵盖新型冠状病毒、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus,RSV)等传染病预防领域(见表 1)。超过 100 个 mRNA 疫苗项目正在全球范围内进行临床试验,拟定适应证包括传染病预防和肿瘤治疗等多个领域。目前,mRNA 疫苗主要分为预防用 mRNA 疫苗和治疗用 mRNA 疫苗。

**表 1** 全球已获批上市的 mRNA 疫苗

| 产品名称 | 适应证 | 研发公司 | 获批时间 |
|---|---|---|---|
| Comirnaty(BNT162b2) | 预防新型冠状病毒感染 | BioNTech & Pfizer 公司 | 2020 年 12 月 |
| Spikevax(mRNA-1273) | 预防新型冠状病毒感染 | Moderna 公司 | 2020 年 12 月 |
| Spikevax(2024—2025 Formula) | 预防新型冠状病毒感染 | Moderna 公司 | 2024 年 8 月 |
| Comirnaty(2024—2025 Formula) | 预防新型冠状病毒感染 | BioNTech & Pfizer 公司 | 2024 年 8 月 |
| mNEXSPIKE(mRNA-1283) | 预防新型冠状病毒感染 | Moderna 公司 | 2025 年 5 月 31 日 |
| mRESVIA(mRNA-1345) | 预防呼吸道合胞病毒感染 | Moderna 公司 | 2024 年 5 月 31 日 |
| mRESVIA(mRNA-1345) | 预防呼吸道合胞病毒感染 | Moderna 公司 | 2024 年 8 月 |
| SYS6006 | 预防新型冠状病毒感染 | 石药集团 | 2023 年 3 月 |
| SYS6006.32 | 预防新型冠状病毒感染 | 石药集团 | 2024 年 8 月 |
| SW-BIC-213 | 预防新型冠状病毒感染 | StemiRNA Therapeutics 公司 | 2022 年 |
| AWCorna | 预防新型冠状病毒感染 | 玉溪沃森生物技术有限公司 | 2022 年 |
| Duentai(单价和二价) | 预防新型冠状病毒感染 | 石药集团 | 2023 年 |
| Kostaive | 预防新型冠状病毒感染 | Arcturus & CSL 公司 | 2023 年 |
| Daichirona | 预防新型冠状病毒感染 | 第一三共制药公司 | 2023 年 |
| Gemcovac-19 | 预防新型冠状病毒感染 | Gennova Biopharmaceuticals 公司 | 2022 年 |
| Gemcovac-OM | 预防新型冠状病毒感染(Omicron 变异株) | Gennova Biopharmaceuticals 公司 | 2023 年 6 月 19 日 |

数据截止于 2025 年 10 月 24 日,来源于药智网

预防用 mRNA 疫苗为通过特定的递送系统将 mRNA 导入细胞并表达目的蛋白、刺激机体产生特异性免疫应答,从而使机体获得免疫保护的一种核酸疫苗[7]。Moderna 公司的 mNEXSPIKE(mRNA-1283)于 2025 年 5 月 31 日获得美国 FDA 全面批准,是当前最新一代新型冠状病毒 mRNA 疫苗,针对病毒变异株优化抗原序列,用于 65 岁及以上成年人,以及 12~64 岁至少有一种基础疾病的高风险人群预防新型冠状病毒感染。石药集团的 SYS6006(商品名:度恩泰)是中国首个获批的 mRNA 疫苗,针对 Omicron BA.5 变异株,于 2023 年 3 月获得国家药品监督管理局紧急使用授权,2024 年 8 月其迭代产品 SYS6006.32 获批,进一步优化了递送系统。Moderna 公司的 mRESVIA(mRNA-1345)于 2024 年 5 月 31 日首次获批,8 月进一步扩展适用人群至婴幼儿,是全球首个用于 RSV 全人群预防的 mRNA 疫苗。

治疗用 mRNA 疫苗为通过诱导或增强机体针对肿瘤抗原的特异性主动免疫反应,从而达到抑制或杀伤肿瘤细胞、清除微小残留病灶或癌前病变,以及建立持久抗肿瘤记忆等治疗作用的一类疫苗。目前,治疗用 mRNA 疫苗的研发重心集中在肿瘤免疫治疗和慢性感染性疾病领域,且逐渐向“个性化、联合治疗”(如与免疫检查点抑制剂、细胞治疗联合)方向推进。例如,Moderna 与 Merck[8] 合作开展了 mRNA-4157 联合 Keytruda 的临床研究。其中,mRNA-4157 是一种针对黑色素瘤的 mRNA 疫苗,Keytruda 是一种靶向 PD-1 的单克隆抗体。两者联合使用的目的在于增强人体免疫系统检测和清除肿瘤细胞的能力:mRNA-4157 通过激活针对肿瘤特异性抗原的 T 细胞免疫反应,引导免疫系统识别并攻击肿瘤细胞;Keytruda 则通过阻断 PD-1 与其配体 PD-L1 和 PD-L2 之间的相互作用,解除肿瘤对 T 细胞的免疫

抑制,从而进一步增强抗肿瘤免疫应答。BioNTech 的 BNT122 为针对胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma,PDAC)完全切除术后患者的新抗原个体化 mRNA 疫苗。德国 CureVac 公司的 CVHNLC 于 2025 年 4 月获得美国 FDA 批准开展针对鳞状非小细胞肺癌的Ⅰ期临床试验。国内方面,石药集团的 SYS6026 是一款针对人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV) 16 和 18 亚型早期蛋白抗原 E6 和 E7 蛋白的 mRNA 治疗性疫苗,该疫苗通过脂质纳米颗粒(lipid nanoparticles,LNP)递送系统,将编码 E6/E7 蛋白的 mRNA 递送至抗原呈递细胞,激活特异性 T 细胞免疫反应。拟用于治疗 HPV16 和 18 亚型阳性实体瘤,包括子宫颈癌、宫颈上皮内瘤变、肛门癌、头颈癌等。艾博生物公司的 ABO2102 于 2025 年 5 月获美国 FDA 新药临床试验申请批准,拟用于 KRAS 突变实体瘤。ABO2102 通过编码 KRAS 突变蛋白(如 G12C、G12D 突变型)的 mRNA,诱导机体产生针对突变 KRAS 的特异性 T 细胞免疫反应。随着 mRNA 递送技术(如 LNP、聚合物载体)的优化,mRNA 疫苗技术正在从传染病预防领域向多个方向拓展。

## 2 mRNA 疫苗面临的挑战

尽管 mRNA 疫苗在传染病预防与肿瘤治疗中展现出巨大的应用潜力,但当前技术仍存在多方面挑战,这些挑战直接影响其临床应用范围与可及性,主要包括以下 4 个方面。① mRNA 疫苗在抗原表达效率方面不足,抗原表达峰值持续时间短(通常为 7 ~ 14 d),存在无法引起持久免疫反应的可能性,需要多次接种以建立有效的免疫保护。例如,早期新型冠状病毒 mRNA 疫苗(如 BNT162b2、mRNA-1273)的免疫保护期约为 4 ~ 6 个月,需通过加强接种维持保护效果;治疗用 mRNA 疫苗 mRNA-4157,虽能诱导肿瘤特异性免疫反应,但在部分患者中观察到免疫应答随时间衰减,需每 3 个月重复接种以维持抗肿瘤效应;② mRNA 存在固有的热不稳定性,需低温储存( -20 ℃或 -80 ℃),其保存和运输成本也相对较高,如 Pfizer 新型冠状病毒疫苗由于储存条件( -70 ℃,6 个月)较 Moderna 新型冠状病毒疫苗( -20 ℃,6 个月)更为苛刻。因此其封装运输成本的占比远高于后者(Pfizer 31.7%; Moderna 9.2%)。中国企业在冻干 mRNA 疫苗技术方面取得重要突破,如瑞吉生物公司的冻干带状疱疹 mRNA 疫苗(25 ℃储存)成为我国首款申报临床的冻干剂型 mRNA 疫苗。艾博生物公司近期获批临床的 2 款采用自有碱基修饰技术的冻干 mRNA 疫苗,极大降低了封装运输成本,但冻干工艺会增加疫苗生产成本(增加 15% ~20%),且技术成熟度仍需通过大规模生产验证;③ 由于 mRNA 分子量较大且带有负电荷,使其很难通过细胞膜高效递送至靶细胞;同时,mRNA 分子在体内不稳定易被细胞外的核糖核酸酶快速降解。因此,mRNA 疫苗需要依赖高效靶向的递送系统,目前主流的递送载体为 LNP,但其仍存在局限性,如 LNP 靶向性不足、易被肝脏中的库普弗细胞吞噬、导致大量 mRNA 在肝脏蓄积等;④ 免疫耐受和肿瘤细胞逃逸的可能性。Mulroney 等[9]研究发现 N1-甲基假尿苷(m1 ψ)可引起 mRNA 翻译过程的核糖体移码,并且在接种疫苗后,小鼠和人体对来自 BNT162b2 疫苗 mRNA 翻译的 +1 移码产物产生了细胞免疫,其不良反应有待进一步验证。mRNA 疫苗的各项不良反应发生率明显高于灭活疫苗,调查结果显示,新型冠状病毒感染者接种 mRNA 疫苗后,BioNTech & Pfizer 和 Moderna 过敏性休克的发病率分别为每百万剂 4.8 例和 5.1 例[10-11]。

## 3 mRNA 疫苗非临床评价指导原则

mRNA 疫苗作为一种新兴技术,目前尚无一套完整的监管体系可循,其非临床研究需遵循 WHO、国际人用药品注册技术要求协调会(ICH)、美国 FDA、中国国家药品监督管理局(NMPA)等监管机构的指导原则,这些原则为非临床安全性评价提供了框架性要求。2005 年,WHO 发布了首个疫苗非临床评价指导原则。基于新型冠状病毒预防的需要,2020 年起,WHO、美国 FDA、欧洲 EMA、中国 NMPA 发布了多部新型冠状病毒预防用疫苗的指导原则(见表 2)。2021 年,WHO 发布了专门针对 mRNA 疫苗的《mRNA 疫苗研发与评价技术指南》,该指导文件中第 7 部分对 mRNA 非临床研究的评价进行了规定,强调 mRNA 非临床评价应结合预期临床使用产品特点进行考虑,非临床研究以及关于药效学(即免疫原性和攻毒试验)和毒理学研究的设计、实施和分析,应结合现行 WHO 关于疫苗非临床评价、疫苗佐剂和含佐剂疫苗非临床评价等指导原则共同考虑,明确了预防性 mRNA 疫苗非临床研究的“三核心”。ICH 尚无专门针对疫苗非临床研究的指南,但 ICH《生物技术药物的临床前安全性评价 S6(R1)》《人用药物生殖与发育毒性检测 S5(R3)》《基因治疗产品非临床生物分布的考虑 S12》等指导原则中包含对疫苗非临床安全性评价和生物分布的

部分描述。2020 年 8 月,中国 NMPA 药品审评中心集中颁布了一系列关于新型冠状病毒预防用疫苗研发技术指导原则,2025 年发布了《预防用 mRNA 疫苗非临床研究技术指导原则(2025)》[12-16]。

**表 2** 国内外主要的 mRNA 疫苗非临床评价相关指导原则

| 机构 | mRNA 疫苗非临床评价相关指导原则 |
|---|---|
| WHO | Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines(2005) |
| | Evaluation of the Quality, Safety and Efficacy of Messenger RNA Vaccines for the Prevention of Infectious Diseases(2021) |
| 美国 FDA | Guidance for Industry:Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19(2020) |
| | Guidance for Industry:Emergency Use Authorization for Vaccines to Revent COVID-19(2021) |
| 欧洲 EMA | EMA:Reflection Paper on the Regulatory Requirements for Vaccines Intended to Provide Protection Against Variant Strain(s) of SARS-CoV-2(2021) |
| 日本 MHLW | Guideline for Nonclinical Studies of Vaccines for Preventing Infectious Diseases(2024) |
| ICH | S5:Detection of Toxicity to Reproduction for Human Pharmaceuticals is Currently being Revised(R3,2020) |
| | S6(R1):Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals |
| | S12:Nonclinical Biodistribution Considerations for Gene Therapy Products(R5,2023) |
| 中国 NMPA | 《预防用生物制品临床前安全性评价技术审评一般原则》(2005) |
| | 《预防用疫苗临床前研究技术指导原则》(2010) |
| | 《新型冠状病毒预防用疫苗研发技术指导原则(试行)》(2020) |
| | 《新型冠状病毒预防用疫苗非临床有效性研究与评价技术要点(试行)》(2020) |
| | 《预防用 mRNA 疫苗非临床研究技术指导原则》(2025) |

## 4 非临床研究的关注点

mRNA 疫苗的非临床研究需结合其技术特性与应用场景,围绕“安全性、有效性、稳定性”三大核心目标展开,重点关注概念验证、给药途径、种属选择/替代分子、毒性特点等方面。

### 4.1 概念验证

体内概念验证(proof of concept,POC)研究有助于确定具有药理学作用的免疫剂量范围和最佳免疫程序。动物模型的选择至关重要,理想的动物模型应对病原体或抗原产生相似的疾病特征和免疫应答。如野生型动物种属对病原体不敏感或对肿瘤抗原不产生特异性免疫应答,可使用替代病原体/抗原或人源化动物模型。

对于预防用 mRNA 疫苗,一般应在合适的感染疾病动物模型中进行保护力试验,以研究疫苗体内药效学作用。新型冠状病毒 mRNA 疫苗 mNEX-SPIKE,采用 hACE2 转基因小鼠模型(该模型能模拟人类新型冠状病毒感染过程),设置低、中、高 3 个剂量组(1、5、10 μg·只$^{-1}$),分别于 0 d、14 d 接种疫苗,接种后 28 d 用新型冠状病毒 Omicron XBB.1.5 株滴鼻感染,观察小鼠体质量变化、肺部病毒载量及肺组织病理损伤。RSV mRNA 疫苗 mRESVIA 的 POC 研究采用棉鼠模型(棉鼠对 RSV 易感,感染后出现类似人类的呼吸道症状),接种疫苗后检测血清中 RSV 中和抗体滴度,并用 RSV-A 型毒株感染,验证疫苗的预防效果。

对于治疗用 mRNA 疫苗,通常在小鼠癌症模型中评估抗肿瘤效应、生存率、免疫反应或细胞因子诱导。在肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen,TSA)或肿瘤相关抗原(tumor associated antigen,TAA)mRNA 疫苗的动物种属选择时,需重点考虑 mRNA 疫苗的药理学作用和抗原特异性免疫反应。可采用与人类具有相同或相似免疫反应的动物模型来模拟机体给予受试物后的免疫反应。针对靶向 TAA 的 mRNA 研究,可通过在同源动物模型中接种表达该抗原的肿瘤细胞来评估抗肿瘤疗效,或采用人源化小鼠进行研究[17-18]。针对靶向 TSA 的 mRNA 研究,由于其个性化特性,通常难以通过体内研究评估其特异性抗肿瘤活性。因此,抗肿瘤研究可借助小鼠特异性肿瘤模型来探索 mRNA 疫苗平台的抗原特异性 T 细胞免疫应答和抗肿瘤活性,评估接种后机体内抗原呈递的研究和特异性的 T 细胞反应有助于表征疫苗的药理学活性和特异性[19]。个性化黑色素瘤 mRNA 疫苗(mRNA-4157)的 POC 研究,构建表达人类黑色素瘤新抗原的 B16-F10 转基因小鼠模型,HPV 相关肿瘤 mRNA 疫苗(SYS6026)则采用 HPV16 E6/E7 转基因小鼠模型,构建宫颈癌细胞移植瘤模型。

### 4.2 给药途径

给药途径的选择会影响 mRNA 疫苗的生物分布、持久性、活性持续时间及剂量反应关系。给药途径的确定通常基于能否将治疗成分递送至靶细胞、诱导预期免疫反应、符合安全性要求以及给药的便捷性。为实现 mRNA 对免疫细胞的靶向递送,通常采用局部给药途径(如皮下、肌内、皮内或瘤内注射)。最常用的给药途径为肌内注射,该途径可使 mRNA 被肌肉组织中的树突状细胞(DC 细胞)摄取,激活全身免疫应答,且操作简便,适合大规模接种,适用于多数预防用 mRNA 疫苗,如 BNT162b2、mRNA-1273、SYS6006 等均采用肌内注射(上臂三角肌)。皮肤中富含朗格汉斯细胞(DC 细胞的一种),皮内注射可增强局部免疫应答,适用于需要快速激发免疫反应的场景,例如,RSV mRNA 疫苗(mRESVIA)在婴幼儿中采用皮内注射,以减少全身暴露,降低发热等不良反应发生率。而瘤内注射主要适用于治疗用 mRNA 疫苗,将 mRNA 直接注射至肿瘤组织,使肿瘤细胞自身表达抗原,激发局部抗肿瘤免疫反应,例如,BioNTech 的 BNT122 在胰腺癌术后辅助治疗中采用瘤内局部注射,可减少远处转移风险。此外,静脉给药也可用于体内系统性递送,适用于需要靶向肝脏、脾脏等器官的治疗用 mRNA 疫苗。

无论选择何种给药途径,均需开展生物分布研究。通过研究 mRNA 及其递送成分在给药后的生物分布,可了解 mRNA 及其递送成分在靶组织(如肌肉、肿瘤)和/或非靶组织(如肝脏、脾脏、心脏、肾脏、生殖器官)中的分布、蓄积及清除情况,这有助于解释安全性数据。例如,mRNA-1647 的组织分布在雄性 SD 大鼠上开展。大鼠经肌内注射 100 μg 的 mRNA-1647,给药 2 h 后大部分组织均检测到了 mRNA,包括脑、心脏、肺、眼球和睾丸。组织达峰时间在给药后 2 ~ 24 h,且组织暴露量均高于血浆暴露量。与 BNT162b2 类似,mRNA-1647 显著的肝脏分布证实了 LNP 递送系统的肝靶向特征。另外,mRNA-1647 在给药部位、淋巴结、脾脏和眼部的浓度也均超过血浆浓度[20-21]。

虽然主要靶组织通常为注射部位,但在更广泛的组织中评估其生物分布,可提供关于 mRNA 疫苗体内分布的额外信息,特别是当非临床研究中发现安全性问题时,该分布研究尤为重要。对于含新型脂质成分或聚合物的 mRNA 疫苗,根据给药途径的不同,可能需要开展额外的非临床评估。例如,若某 mRNA 疫苗的配方中使用了新型脂质成分并通过静脉途径给药,则需进一步表征其体内稳定性、组织趋向性、吸收代谢及产生特定类型代谢产物的潜力。

### 4.3 种属选择/替代分子

mRNA 疫苗的非临床安全性评价需在相关动物种属中开展,优先选用健康、免疫功能正常的动物,常见种属包括小鼠、大鼠、食蟹猴。预防性 mRNA 疫苗非临床安全性评价的理想动物种属应对疫苗所预防的病原体或毒素敏感,且接种疫苗后能产生与人体相似的免疫应答。实际情况中,选择易受病原体感染或完全反映人体感染过程的动物种属可能较为困难,可根据 mRNA 疫苗的特性,选择对疫苗具有免疫应答的动物种属开展试验。例如,mRNA-1273 和 BNT162b2 分别选择在 SD 大鼠和 Wistar Han 大鼠中开展重复给药研究[21]。

有些针对 TSA 或 TAA 的 mRNA 疫苗在常规动物种属中无特异性免疫原性,可采用经验证的具有肿瘤抗原特异性免疫反应和/或具有免疫系统人源化动物模型进行。例如,SYS6026 采用人源化 NSG 小鼠(重度免疫缺陷小鼠)评估肿瘤 mRNA 疫苗的免疫原性,因为人源化 NSG 小鼠移植人类 $CD34^+$ 造血干细胞或外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC),可重建人类免疫系统。hACE2 转基因小鼠可被新型冠状病毒感染,用于评估新型冠状病毒 mRNA 疫苗的保护力,是新型冠状病毒疫苗非临床研究的核心模型。

如采用动物模型进行非临床研究不可行时,可考虑采用替代产品在相关动物种属中开展试验,替代产品通常应与临床产品在编码抗原(调控元件、结构域、信号元件)、制剂配方和生产工艺方面需保持一致,以确保替代产品在非临床安全性评价中的异常发现具有临床相关性。

### 4.4 毒性特点

mRNA 疫苗的毒性主要来源于 mRNA 分子本身和递送载体(如 LNP)。

**4.4.1 炎症反应** 炎症反应是 mRNA 疫苗最常见的毒性反应,主要由递送载体(尤其是 LNP)与 mRNA 分子共同引发,表现为局部炎症(注射部位红肿、疼痛)与全身炎症(发热、炎症因子升高)。局部炎症的可能机制为:LNP 中的阳离子或可电离脂质(如 SM-102、ALC-0315)会激活注射部位的巨噬细胞与树突状细胞,释放炎症因子[如白细胞介素(interleukin,IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis

factor-α,TNF-α)],招募白细胞(如中性粒细胞、淋巴细胞)浸润;未修饰的 mRNA 会激活 Toll 样受体(toll-like receptor,TLR)3、TLR7/8,进一步加剧炎症反应。研究发现,使用 LNP 进行小鼠的皮内、肌内或鼻内给药会触发炎症,主要表现为白细胞浸润、多种炎症反应途径的激活、炎症因子和趋化因子的分泌。单次皮内注射含有可电离阳离子脂质的 LNP 包裹的 mRNA 后可导致促炎因子 IL-1β、IL-6 和 C-X-C 基序趋化因子配体(C-X-C motif chemokine ligand,CXCL)和趋化因子(C-C motif chemokine ligand,CCL)蛋白的基因表达上调[22-23]。在类似的试验中,皮内注射可电离阳离子脂质 LNP 包裹的自扩增荧光素酶 mRNA 导致强烈的干扰素-β(interferon-β,IFN-β)产生。另外,还有研究表明促炎反应与 mRNA 本身有关,经修饰的增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein,EGFP) mRNA 的皮内电穿孔可引起小鼠注射部位周围产生 IFN-β,进而引起炎症反应。肌内注射 BNT162b2 后,约 20% 的 Wistar 大鼠出现注射部位肌肉组织水肿,伴随肌纤维轻度坏死,14 d 后可自行修复。

全身炎症可能与 LNP-mRNA 导致的炎症因子风暴有关。此外,mRNA 翻译产生的非预期蛋白(如移码蛋白)也可能引发全身免疫反应。小鼠静脉注射 LNP 空载(不含 mRNA)后,血清中 IL-6、CCL2 浓度在 2 h 内升高 5 ~ 8 倍,证明 LNP 载体本身具有免疫刺激性[23];Mulroney 等[9]研究发现,BNT162b2 疫苗的 mRNA 因 m1ψ 修饰导致核糖体移码,产生的移码蛋白可激活人类 T 细胞,可能引发全身自身免疫反应。

**4.4.2** 肝脾毒性 LNP-mRNA 在肝脏和脾脏中具有较高的生物分布,因此,LNP-mRNA 对肝脏和脾脏的毒性反应也是非临床安全性评价的关注点。在疫苗 mRNA-1273 的非临床综述中可知[24],mRNA-1273 在肝脏和脾脏中具有较高的分布,仅次于给药部位和引流淋巴结。在 SD 大鼠 13 周重复给药毒性试验中,高剂量组(20 μg·只$^{-1}$)大鼠的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)水平较对照组升高 2 ~ 3 倍,病理学可见肝脏的肝细胞空泡化、库普弗细胞肥大以及偶见肝脏中心小叶变性(混合炎症细胞浸润伴肝细胞坏死);脾脏脏器重量增加,脾脏红髓巨噬细胞增生、中性粒细胞浸润以及淋巴细胞减少。在 mRNA 疫苗 BNT162b2 Wistar 大鼠重复给药毒性试验中也观察到类似现象,BNT162b2 可导致肝脏门静脉周围肝细胞轻度空泡化;脾脏重量增加和生发中心细胞增多。

**4.4.3** 免疫反应 免疫原性是 mRNA 疫苗的主要药理作用机制,在药理研究中应对其潜在的细胞免疫和体液免疫反应进行研究。在毒性试验中,需要对其抗药抗体进行检测以助于毒性试验结果的综合评价。mRNA 疫苗引发的不良免疫反应包括疫苗接种后的反应原性、超敏反应、全身性补体免疫反应,以及细胞因子介导的反应等[25]。对于处于临床前研发阶段的 mRNA 疫苗,不良免疫反应可能影响其安全性,同时降低有效性。由于 LNP-mRNA 复合物本身成分复杂,无法准确判断预期的免疫原性反应与不良免疫反应。但仍应根据产品特点对非预期或放大的免疫反应进行关注。LNP-mRNA 对 TLR 的激活是细胞因子产生的上游环节。TLR 激活与促炎细胞因子释放可能引发强烈不良反应,并影响蛋白质翻译。小鼠先给予脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)预处理,后单次静脉注射 LNP-mRNA,可导致小鼠血清中 IL-6、CCL2 以及其他促炎细胞因子升高[26]。小鼠注射给予 LNP 空载后也导致类似的免疫反应,提示阳离子脂质是免疫刺激成分[27-28]。

补体激活是一系列蛋白水解反应,可协助吞噬细胞清除被识别为病原体的物质或颗粒。研究表明,LNP-mRNA 制剂可激活补体通路,一项体内研究发现,食蟹猴静脉注射可表达人促红细胞生成素(human erythropoietin,hEPO)的 LNP-mRNA,其血浆中 C3a 和 C5b-9 水平出现轻度且可逆的升高[29]。补体激活也可能导致罕见的过敏反应,有报道指出,在接种第一剂 BNT162b2 或 SM-102 的新型冠状病毒疫苗后,报告了几例过敏反应病例,受影响患者的 C5a 水平很高,但 IgE 水平不高,这说明存在补体激活相关的伪过敏反应[30]。从理论上讲,LNP-mRNA 的任何成分都可能引发超敏反应,但既往数据显示,聚乙二醇化脂质是潜在反应原性最强的成分。静脉注射可表达 hEPO 的 LNP-mRNA 后,其血浆中 C3a 与 C5b-9 的水平出现轻度且可逆的升高[31-32]。

## 5 小结

mRNA 疫苗技术在过去几年中实现了从实验室到大规模应用的历史性跨越,不仅在新型冠状病毒感染防控中发挥了关键作用,更为整个疫苗和治疗领域开辟了全新的技术路径。mRNA 疫苗作为新一代生物技术产品,其非临床研究需围绕安全性、有效性、稳定性、可生产性四大核心目标展开,同时结合 mRNA

分子易降解、需递送系统辅助等技术特性[33-35]。相较于预防性 mRNA 疫苗,肿瘤治疗性 mRNA 疫苗在给药方案、免疫机制上呈现显著不同。非临床安全性评价需重点关注概念验证、给药途径优化、动物模型选择以及潜在的毒性反应(如炎症、肝脾毒性和免疫激活),采用具体问题具体分析的策略。尽管 mRNA 疫苗具有快速生产和安全性高的优势,但仍需解决抗原表达效率、储存稳定性等问题。未来的研究应进一步优化 mRNA 设计和递送技术,以提升其安全性和有效性,推动其在预防性和治疗性疫苗领域的广泛应用。

## [ 参 考 文 献 ]


[1] PARDI N, HOGAN MJ, PORTER FW, *et al*. mRNA vaccines: a new era in vaccinology[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4): 261-279.

[2] BADEN LR, EL SAHLY HM, ESSINK B, *et al*. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(5): 403-416.

[3] ARUNACHALAM PS, SCOTT MKD, HAGAN T, *et al*. Systems vaccinology of the BNT162b2 mRNA vaccine in humans[J]. *Nature*, 2021, 596(7872): 410-416.

[4] VISHWESHWARAIAH YL, DOKHOLYAN NV. mRNA vaccines for cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1029069.

[5] PASCOLO S. Vaccination with messenger RNA (mRNA)[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2008(183): 221-235.

[6] REICHMUTH AM, OBERLI MA, JAKLENEC A, *et al*. mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles[J]. *Ther Deliv*, 2016, 7(5): 319-334.

[7] MILANE L, AMIJI M. Clinical approval of nanotechnology-based SARS-CoV-2 mRNA vaccines: impact on translational nanomedicine[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2021, 11(4): 1309-1315.

[8] WEBER JS, CARLITO MS, KHATTAK A, *et al*. Individualised neoantigen therapy mRNA-4157 (V940) plus pembrolizumab versus pembrolizumab monotherapy in resected melanoma (KEYNOTE-942): a randomised, phase 2b study[J]. *Lancet*, 2024, 403(10427): 632-644.

[9] MULRONEY TE, PÖYRY T, YAM-PUC JC, *et al*. N1-methylpseudouridylation of mRNA causes +1 ribosomal frameshifting[J]. *Nature*, 2024, 625(7993): 189-194.

[10] SHIMABUKURO TT, COLE M, SU JR. Reports of anaphylaxis after receipt of mRNA COVID-19 vaccines in the US-December 14, 2020-January 18, 2021[J]. *JAMA*, 2021, 325(11): 1101-1102.

[11] IGYÁRTÓ BZ, QIN Z. The mRNA-LNP vaccines-the good, the bad and the ugly?[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1336906.

[12] World Health Organization. Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines[EB/OL]. (2005-01-01)[2025-11-04]. https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccines-annex-1-trs-no-927.

[13] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Prelinical Safety Evaluation of Biotechnology derived Pharmaceuticals S6 (R1)[S]. 2011-06-11.

[14] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals S5(R3)[S]. 2020-02-18.

[15] 国家药品监督管理局药品审评中心.《预防用疫苗临床前研究技术指导原则》[EB/OL]. (2010-04-22)[2025-11-04]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=46fd86e0b9cf56da7a61fa3068894fca.

[16] FDA. Guidance for industry: Development and licensure of vaccines to prevent COVID-19[EB/OL]. (2023-10)[2025-11-04]. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/development-and-licensure-vaccines-prevent-covid-19.

[17] WANG YH, ZHANG L, XU ZH, *et al*. mRNA vaccine with antigen-specific checkpoint blockade induces an enhanced immune response against established melanoma[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 420-434.

[18] CHOI Y, LEE S, KIM K, *et al*. Studying cancer immunotherapy using patient-derived xenografts (PDXs) in humanized mice[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(8): 1-9.

[19] DO ASS, AMANO T, EDWARDS LA, *et al*. CD133 mRNA-loaded dendritic cell vaccination abrogates glioma stem cell propagation in humanized glioblastoma mouse model[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 18: 295-303.

[20] EMA. EMA Public Assessment-Report of COVID-19 Vaccine Moderna[EB/OL]. (2021-02)[2025-11-04]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf.

[21] FDA. Public Assessment Report Authorisation for Temporary Supply COVID-19 mRNA vaccine BNT162[EB/OL]. (2023-10)[2025-11-04]. https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/comirnaty.

[22] NDEUPEN S, QIN Z, JACOBSEN S, *et al*. The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory[J]. *iScience*, 2021, 24(12): 103479.

[23] BITOUNIS D, JACQUINET E, ROGERS MA, *et al*. Strategies to reduce the risks of mRNA drug and vaccine toxicity[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(4): 281-300.

[24] TEO SP. Review of COVID-19 mRNA vaccines: BNT162b2 and mRNA-1273[J]. *J Pharm Pract*, 2022, 35(6): 947-951.

[25] 梁春苏, 左玮, 都丽萍, 等. mRNA-LNP 新冠疫苗过敏反应及其体内药代动力学[J]. 药学学报, 2023, 58(4): 867-874.

[26] PARHIZ H, BRENNER JS, PATEL PN, *et al*. Added to pre-existing inflammation, mRNA-lipid nanoparticles induce inflammation exacerbation (IE)[J]. *J Control Release*, 2022, 344: 50-61.

[27] HAMMEL M, FAN YC, SARODE A, *et al*. Correlating the structure and gene silencing activity of oligonucleotide-loaded lipid nanoparticles using small-angle X-ray scattering[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(12): 11454-11465.

[28] CÁRDENAS M, CAMPBELL RA, YANEZ ARTETA M, *et al*. Review of structural design guiding the development of lipid nanoparticles for nucleic acid delivery[J]. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2023, 66: 101705.

[29] SEDIC M, SENN JJ, LYNN A, *et al*. Safety evaluation of lipid nanoparticle-formulated modified mRNA in the sprague-dawley rat and Cynomolgus monkey[J]. *Vet Pathol*, 2018, 55(2): 341-354.

[30] NOVAKOWSKI S, JIANG K, PRAKASH G, *et al*. Delivery of mRNA to platelets using lipid nanoparticles[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 552.

[31] TENCHOV R, SASSO JM, ZHOU QA. PEGylated lipid nanoparticle formulations: immunological safety and efficiency perspective[J]. *Bioconjug Chem*, 2023, 34(6): 941-960.

[32] DOBROVOLSKAIA MA. Lessons learned from immunological characterization of nanomaterials at the Nanotechnology Characterization Laboratory[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 984252.

[33] 孙婷, 吴琦, 朱嘉亮, 等. mRNA-LNP 递送系统免疫激活机制的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2026, 43(3): 508-521.

[34] 赵欣, 马岩松, 杨丹, 等. 人用狂犬病疫苗研发药学研究思考[J]. 中国新药杂志, 2025, 34(6): 650-655.

[35] 娄经虎, 吴智能, 程艺, 等. 流感血凝素 mRNA 脂质纳米颗粒疫苗诱导呼吸道黏膜免疫[J]. 中国医药导刊, 2026, 28(5): 536-547.


编辑:祁媛/接受日期:2025-10-30