·新药述评与论坛·

mRNA 药物的研发及挑战

于玲莉[1],李香玉[1],陈桂良[1],何　伍[2]
(1 上海药品审评核查中心,上海 201203;2 国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] mRNA 是一种极具潜力的新型治疗产品,随着技术的发展,mRNA 已被越来越广泛应用于免疫学、肿瘤学、疫苗和先天性代谢疾病等领域的临床研究。近期,由于新型冠状病毒肺炎疫情暴发,mRNA 疫苗的研发及上市化进程被大大提速,预示在不久的将来可能有更多的 mRNA 产品进入市场。为了适应 mRNA 药物产业未来发展的需求,本文对该种产品的特点及产业化现状进行了研究,对其生产的关注点进行了思考,期望能为在我国开展 mRNA 药物的开发提供一定参考。

[关键词] mRNA 药物;体外转录 mRNA;mRNA 药品生产
[中图分类号] R95　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2021)22 - 2029 - 05

Development and challenges of mRNA-based therapeutics

YU Ling-li[1], LI Xiang-yu[1], CHEN Gui-liang[1], HE Wu[2]
(1 *Shanghai Center for Drug Evaluation and Inspection*, *Shanghai* 201203, *China*; 2 *Center for Drug Evaluation*, *National Medical Products Administration*, *Beijing* 100022, *China*)

[**Abstract**] mRNA-based drug has already become a focus as a potential new type of drug in recent years. With the rapidly evolving technologies, mRNA has been widely applied in various areas of clinical research, such as immune disease, oncological disease, infectious disease, and congenital metabolic disorder. Since the outbreak of COVID-19, there has been a great leap in mRNA vaccine development, forecasting that much more mRNA medicines will enter the market in the near future. In order to meet industrial requirements, this article provides an overview of the product profiles of mRNA-based drugs and their industrial landscape, and further discusses the key considerations in the manufacturing of such medicines.

[**Key words**] mRNA therapeutics;IVT mRNA;mRNA manufacturing

1　mRNA 药物介绍

利用 mRNA 作为核酸药物的概念早在 20 年前就已出现。1990 年,Wolff 等[1]通过在小鼠肌肉组织中注射体外转录 mRNA(IVT mRNA)及质粒 DNA 的方式实现了目标蛋白在小鼠体内的表达。

mRNA 于 1961 年被首次发现[2],在随后 10 年间,科学家们对其开展了大量结构、功能以及代谢方面的研究。20 世纪 90 年代,科学家们开展了一系列关于 IVT mRNA 的临床前研究[3-6],以进一步探索其在疾病治疗领域的应用。但由于当时科学技术水平的限制,有关 mRNA 稳定性及递送方面的问题一直没有获得突破,人们转而将目光投向了对质粒及病毒 DNA 载体的研究。

与其他核酸类治疗产品相比,IVT mRNA 具有诸多不同之处。质粒 DNA 必须先进入细胞核,经转录成 mRNA,离开细胞核后在细胞质内被翻译成蛋白后,发挥其后续功能。而 IVT mRNA 进入到细胞质内便能被即刻表达成蛋白,无需进入细胞核内就能发挥作用。此外,与质粒 DNA 及病毒 DNA 不同的是,IVT mRNA 只是瞬时表达,可以通过体内生理代谢被完全降解,IVT mRNA 不会整合到细胞基因组,即不会带来插入突变的风险。

与其他生物制品相比,IVT mRNA 在生产上具有成本低、流程简单、灵活及通用性的特点,近年来吸引了很多投资者的目光。2015 年以来,Moderna

[作者简介] 于玲莉,女,工程师,主要从事生物制品审评及检查工作。联系电话:(021)50121379,E-mail: yulingli@ smda. sh. cn。

therapeutics 公司、BioNtech 公司和 CureVac 公司等 3 家具有代表性的 mRNA 治疗药物研发公司吸引了 28 亿美元的私人投资。其中,Moderna 公司在 2018 年的估值约为 76 亿美元,创下了生物科技 IPO 规模最大的纪录[7]。目前,一些制药企业巨头如诺华公司、赛诺菲巴斯德公司及阿斯利康公司等都已竞相投入到了 mRNA 产品的投资及开发中[8-9]。在某些病毒疫苗及肿瘤疫苗领域,IVT mRNA 已经进入或完成了Ⅲ期临床研究,但在心血管、内分泌及其他疾病治疗领域尚处于临床前阶段[10]。

近年来,随着核酸合成、修饰和递送技术的发展,mRNA 再次成为基础研究及临床应用领域的热点[11-12]。2017 年,基于肿瘤新生抗原的 mRNA 肿瘤疫苗在临床上展现出非常好的疗效而获得广泛关注[13]。2020 年,由于在临床上展现出优异的有效性,COVID-19 mRNA 疫苗在众多候选药物中脱颖而出,使行业再一次感受到了这种新技术路径的强大潜力。由此可预期,伴随着技术发展以及资本的涌入,mRNA 药物将在未来迎来新一轮研发热潮和产业发展。

1.1 mRNA 药物的结构及设计

IVT mRNA 的结构与内源性 mRNA 非常相似,主要包括 5′端帽子(cap,简称帽子)、5′端非翻译区(untranslated region,UTR)、开放阅读框(open reading frame,ORF)、3′端非翻译区和多聚腺苷酸尾巴[Poly(A)]等结构。

1.1.1 帽子 成熟的真核生物 mRNA 的 5′端都有 1 个甲基鸟苷帽(m7G)结构。加帽能够帮助 mRNA 被顺利转运出细胞核,增加 mRNA 稳定性,防止其被核糖核酸酶降解,对蛋白的表达至关重要。目前主要有 2 种加帽方式[14]:一种采用两步法,即在 mRNA 转录反应后,使用加帽酶加帽,采用这种方式合成后的产物与内源性 mRNA 一致;另一种为一步法,即在转录反应中加入合成的帽类似物,但是这种方法的局限性在于帽类似物会与三磷酸鸟苷(GTP)发生竞争反应,导致部分 mRNA 加帽失败从而无法被有效翻译。此外,帽类似物对于蛋白翻译及稳定性的影响还与细胞类型及细胞所处分化状态相关。研究发现包含 1 个或多个硫代磷酸基团的帽类似物具有抗脱帽酶(DCP2)的作用,从而可以大大延长 mRNA 在体内的半衰期[15],但小鼠体内试验发现,经硫代磷酸基团修饰的 mRNA 所翻译出来的蛋白具有较强的免疫原性[16]。使用帽类似物还可能产生反向加帽的情况,使其产物无法被核糖体识别。为此,科学家们开发出一种抗反向加帽的类似物(anti-reverse cap analog,ARCAs),大大提高了蛋白翻译效率[17]。2018 年,斯坦福大学研究团队与 Trilink BioTechnologies 公司联合开发了称为“CleanCap”的共转录加帽法,通过利用腺苷酸鸟苷酸(AG)三聚体模拟天然 5′的 Cap1 即 m7G 结构,将加帽效率提高到接近 90% ~99%[18]。

1.1.2 多聚腺苷酸尾 poly(A) poly(A)结合蛋白(PABP)可通过翻译起始因子(如 elF4G 和 elF4E)与 5′帽连接形成闭环结构,协同参与对 mRNA 的稳定性及翻译活性的调节。不同长度的 poly(A)序列可以不同程度地影响 mRNA 的翻译效率。一般来说,poly(A)尾的长度在 120 ~150 个核苷酸范围内。poly(A)尾可以通过模板直接转录法(一步法)或是在转录后增加重组多聚腺苷酸聚合酶法(二步法)获得。使用二步法可以使用能避免会被特异性腺苷酸核酸酶降解的经特殊修饰的核苷酸,但该方法的局限性在于其所导致的产物 poly(A)尾的长度各异,无法很好满足临床应用的需求。

1.1.3 5′及 3′端非翻译区(5′ and 3′ UTRs) 在 mRNA 分子上添加 5′及 3′端非翻译调控区是优化 IVT mRNA 的表达效率及稳定性的另一种策略。比如,Kozak 等[19]在 5′UTR 区域插入序列 GCC-(A/G)-CCAUGG 可以提高翻译的准确性。在 3′端加入 α 及 β 球蛋白的 UTR 能提高 mRNA 的稳定性[20]。在 3′端采用真核翻译延伸因子 1A1(eEF1A1)的 UTR 及在 5′端采用正痘病毒 mRNA 的 UTR 能抑制 3′-5′外切酶的降解及 5′端脱帽作用。对于那些需要尽快在体内被代谢的蛋白,还可以通过在 3′UTR 引入富含腺苷酸尿嘧啶(AU)的序列,从而确保蛋白被快速降解和短时间表达[21]。

1.1.4 编码区域 密码子及其前后序列能够直接影响翻译的效率。使用常用密码子代替稀有密码子可大大提高蛋白翻译效率。然而,以常用密码子替代稀有密码子导致的快速翻译可能引起某些蛋白被错误折叠。对于某些 IVT mRNA 疫苗来说,使用常用密码子代替稀有密码子可能导致核糖体将 CUG 识别为翻译起始点或发生核糖体移码翻译[22],要避免密码子优化造成的上述影响。

1.2 mRNA 药物的递送系统及相关设计

药物递送一直是 mRNA 药物发展所面临的较大的技术障碍。大多数真核细胞能够通过胞吞作用

主动将裸露的 mRNA 摄入胞体内,但其效率极低,10 000 个分子中通常仅有 1 个能够通过细胞膜。mRNA 进入体内后,首先面临周围组织液或血液中核酸酶的降解,此外还需要通过负电性的磷脂双分子生物膜。因此,其制剂系统需要保护 mRNA 不被核酸酶降解,同时还需要促进其被细胞摄取。

截至目前,对于 mRNA 药物的递送系统已经经历了 3 代技术演变。从 20 世纪 90 年代出现的以鱼精蛋白、阳离子高分子 PEI、阳离子脂质体为代表的第 1 代递送系统,到 90 年代末出现的以可降解、可离子化高分子为代表的第 2 代递送系统,再到近些年出现的以可离子化脂质纳米粒为代表的第 3 代递送系统。递送技术的进步极大地促进了 mRNA 制药产业的发展和临床应用。

作为目前全球 mRNA 制药领域的三大巨头,Moderna 公司、BioNTech 公司及 CureVac 公司分别采取了不同的递送策略。其中,Moderna 公司采用的是可以较好维持 RNA 稳定性的纳米颗粒脂质体(lipid nanoparticles, LNPs)递送技术[23];BioNTech 公司采用的是阳离子脂质体递送技术 Lipoplexes(LPX)及 LNP 递送技术[24];CureVac 公司最初使用的是鱼精蛋白制剂技术,但由于鱼精蛋白和 mRNA 的结合太紧密,使得蛋白表达效率受限,因此在后来转而投向了 LNP 技术。

LNPs 目前代表着最先进的 RNA 输送技术,开发该技术的先驱有 Acuitas 公司、Arbutus 公司及 Arcturus 公司等为代表的企业及以麻省理工学院(MIT)为代表的研究机构[25]。LNPs 制剂通常是将叔胺或季胺盐型可电离阳离子脂质体与助类脂[如二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、胆固醇及聚乙二醇(PEG)]等按照一定比例混合而成,具有安全性高、合成工艺简单、无免疫原性、体内易降解等优点[26]。其中,阳离子脂质体用以包裹电负性 mRNA,胆固醇用以稳定脂质双分子层,PEG 为纳米颗粒提供水合层,以提高胶态稳定性,减少蛋白吸附。LNP 递送 RNA 的原理目前还不完全清楚,但通常认为,LNP 通过非共价亲和力和细胞膜结合并通过由网格蛋白 clatherin 介导的机制内吞入细胞,mRNA 逃离内吞小泡,被释放到细胞质中表达目标蛋白,然而 LNP 还可以通过相反的胞吐作用被排出细胞外,可能降低药物的递送效率。

2 mRNA 药物全球管理情况

目前,除了将用作预防及治疗用的 mRNA 药物明确定义为疫苗类生物制品外,美国及欧盟等药品管理机构并未就 mRNA 属于哪类药物做明确定义,也未发布任何相关的指南或指导文件。不过,普遍还是倾向于将其纳入生物制品、细胞治疗产品或体细胞治疗产品的范畴进行管理。由于大多数 IVT mRNA 的临床试验是在欧洲发起的,因此即使是全球药品管理最先进的美国 FDA,目前对其的管理经验也非常有限。

在美国,根据 1998 年 FDA 发布的《人体细胞及基因疗法指导原则》所提供的定义,基因疗法是指改变细胞遗传物质为基础的医学治疗,鉴于 mRNA 并不会引发细胞基因层面的改变,因此在美国不太可能将其纳入基因疗法的范畴中进行管理。

欧洲 EMA 将基因治疗产品、细胞治疗产品和组织工程产品统一定义为前沿医疗产品(advanced therapy medicinal products, ATMPs)。根据欧盟 2009 年颁布的关于《前沿医疗产品修订指令》(Directive 2009/120/EC)中的定义,基因治疗产品属于生物制品,是指可以用以调节、修复、替换、增加或删除基因序列的包含或者是由重组核苷酸组成的活性物质,其作用与其组成序列及所表达的产物直接相关。因此,mRNA 在欧盟很有可能被纳入前沿医疗产品下的基因治疗产品的范畴中进行管理。但根据此项指令,如果 mRNA 是用于预防传染疾病的疫苗或是由化学合成方式进行生产则都不属于基因治疗产品的类别[27]。

在我国,按照《中华人民共和国药典》2020 版《人用基因治疗制品总论》中的定义,“人用基因治疗制品通常由含有工程化基因构建体的载体或递送系统组成,其活性成分可为 DNA、RNA、基因改造的病毒、细菌或细胞,通过将外源基因导入靶细胞或组织,替代、补偿、阻断、修正特定基因,以达到治疗疾病的目的”,因此 mRNA 类药物在我国应属于基因治疗产品的范畴。

2020 年,国家药品监督管理局药品审评中心以生物制品为分类受理并审评了多个新型冠状病毒肺炎(COVID-19,简称新冠肺炎) mRNA 疫苗品种的临床试验申请,根据新冠肺炎疫情防控应急工作需要,基于对该类产品的科学认知,提出了对于此类品种临床前药学及非临床评价的考虑[28-29]。同时起草了《新型冠状病毒预防用 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则(试行)》[30],用于指导应急状态下 mRNA 疫苗的研制。可以说,这是全球范围内第一份专门针

对 mRNA 疫苗的指导原则,体现出我国在前沿技术产品领域对标国际先进水平所做的不懈努力。

目前,在大多数国家及我国都已形成了关于基因治疗产品的指南和指导文件,这可以为未来 mRNA 的开发提供非常有价值的参考,但与 DNA 以及病毒载体不同的是,mRNA 的表达呈剂量依赖性和瞬时性,mRNA 并不会整合入宿主细胞基因组内,除非编码蛋白为 DNA 修饰酶,否则不会导致宿主细胞的基因改变。因此,在基因治疗产品指南中明确提出的针对基因修饰、种系遗传、遗传毒性或致癌性等方面的检测项目可能并不适用于 mRNA 产品。未来各国机构应基于该产品的特性,结合其特定的风险,才能制定出更为有效、更为适用的技术指南和管理方式。

2.1 全球已上市 mRNA 药物

2020 年,随着新冠肺炎疫情在全球范围内暴发,各国竞相开展了对于 COVID-19 疫苗的研发及生产工作。mRNA 疫苗由于在初期临床试验中就已展现出较好的安全性及有效性,因而在众多候选药物中脱颖而出。与传统疫苗直接引入抗原蛋白刺激宿主免疫应答不同,mRNA 疫苗引入编码疾病特异性抗原的 mRNA,利用宿主细胞产生抗原,从而触发免疫应答[31]。2020 年 12 月,经美国疫苗和相关生物产品咨询委员会(Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee,VRBPAC)线上会议讨论决定,批准授予由辉瑞公司与德国生物新技术公司(BioNTech)联合开发的 BNT162b2 及由美国生物科技公司(Moderna)研发的 mRNA-1273 共 2 款 mRNA 疫苗产品在国内的紧急使用权,将其安全性及有效性在更广泛人群中进行验证。

FDA 发布的相关报告显示,2 项产品的有效率均达到 90% 以上,不过注射 mRNA 疫苗可能出现恶心、呕吐、面部肿胀、疲劳、头痛和肌肉疼痛等不良反应,有学者推测其组成结构可能与其不良反应有一定的关联,许多不良反应可能是源自用于 mRNA 递送的脂质物质。由于目前所描述的不良反应与许多其他疫苗的不良反应非常相似,严重的不良反应还是相当罕见,因此 mRNA 疫苗仍是安全有效的[32]。

2.2 mRNA 药物的生产及主要关注点

目前为止,由于使用化学合成法仅能合成开放阅读框在 150 个核苷酸左右的 mRNA(相当于 50 个氨基酸),无法很好满足临床使用需求,因而现在普遍使用体外转录法进行生产,即以线性化质粒或 PCR 产物为模板,通过 T7/SP6 RNA 聚合酶转录而成。体外转录工艺已能在每批生产中获得克级以上的 mRNA 治疗药物。质粒 DNA 载体是常使用的起始材料,也是一项非常关键的原材料,载体上包含可被 RNA 聚合酶识别的启动子、编码目标蛋白的开放阅读框、用以转录成非编码区域及多聚腺苷酸尾等的 DNA 序列。环状的质粒 DNA 需被限制性内切酶(多聚腺苷酸尾的下游处)进行线性化处理,将线性化后的质粒进行纯化后,再在其中加入 RNA 聚合酶、4 种核糖核苷酸以及化学合成的帽类似物进行体外转录反应。反应完成后,先使用 DNA 酶(DNase)去除残留的质粒 DNA,之后采用磁珠法、沉淀法或层析法对 mRNA 进行纯化。纯化后的产品在完成配制及无菌过滤后即可进行灌装。在生产质量管理方面可参考欧盟颁布的《前沿药物生产质量管理指南》、《药品生产质量管理规范》及无菌制剂附录中的相关要求。由于 mRNA 对 RNA 酶非常敏感,所以应在生产过程中严格防止与产品直接发生接触的环境、设备容器具及原辅料中可能引入 RNA 酶的污染。

mRNA 治疗药物的质量控制及其标准制定方面应以临床前研究批次、临床研究批次和验证批次中检测获得的数据,以及其他相关数据(如经验、文献报道和稳定性研究等)确定,检测项目一般应包括鉴别、效价、纯度、杂质(如无菌、内毒素、外观、pH、渗透压、不溶性微粒控制)等。对于 mRNA 产品,其质量控制参数的评估应当建立在对其生物学功能以及对生产工艺和生产过程充分理解的基础之上,并兼顾产品的特性和当下的科学认知与共识。

对于在健康人群中使用的 mRNA 疫苗产品,根据临床试验观察结果显示,许多不良反应可能是源于其递送系统,建议企业应按照药品而非赋形剂或辅料的要求对脂质体进行生产及管理。

一般来说,在无 RNA 酶的情况下,mRNA 可在室温条件下稳定保存至少 2 年以上而不发生明显降解,但不同产品的稳定性保存条件不同,如辉瑞公司的 BNT162b2 产品需在 -70 ℃下保存及运输,而 Moderna 公司的 mRNA-1273 产品仅需在 -20 ℃下保存及运输。因此,研究者仍需要结合产品的特点、临床用药的需求以及保存、包装和运输的情况,科学、合理地开展稳定性方面的研究并制定相应的保存条件。

3 结语

mRNA 是一种极具潜力的新型治疗产品，随着技术的发展，mRNA 已被越来越广泛应用于免疫学、肿瘤学、疫苗和先天性代谢疾病等领域的临床研究。然而，安全高效的递送系统、优化的 mRNA 设计及符合商业化生产标准的工艺仍是长期以来限制其临床应用及产业化发展的主要因素。2020 年由于新型冠状病毒肺炎疫情暴发，mRNA 疫苗的研发及产业化进程被大大提速，预示在不久的将来可能有更多的 mRNA 产品进入市场。

在未来，我们会看到随着世界各国对 mRNA 类产品科学认知的进一步深入，将基于该产品的特性，结合其作用机制及特定的风险，陆续制定并出台更多、更为适用的技术指南以促进技术创新以及适应产业发展需求。

[参 考 文 献]

[1] WOLFF JA, MALONE RW, WILLIAMS P, *et al*. Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo*[J]. *Science*, 1990,247(4949 Pt 1):1465 - 1468.

[2] COBB M. Who discovered messenger RNA? [J]. *Curr Biol*, 2015,25(13):R526 - R532.

[3] SCHIRMACHER V, FORG P, DALEMANS W, *et al*. Intra-pinna anti-tumor vaccination with self-replicating infectious RNA or with DNA encoding a model tumor antigen and a cytokine[J]. *Gene Ther*, 2000,7(13):1137 - 1147.

[4] MANDL CW, ABERLE JH, ABERLE SW, *et al*. *In vitro*-synthesized infectious RNA as an attenuated live vaccine in a flavivirus model[J]. *Nat Med*, 1998,4(12):1438 - 1440.

[5] BOCZKOWSKI D, NAIR SK, SNYDER D, *et al*. Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Exp Med*, 1996,184(2):465 - 472.

[6] QIU P, ZIEGELHOFFER P, SUN J, *et al*. Gene gun delivery of mRNA in situ results in efficient transgene expression and genetic immunization[J]. *Gene Ther*, 1996,3(3):262 - 268.

[7] WANG F, ZUROSKE T, WATTS JK. RNA therapeutics on the rise[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020,19(7):441 - 442.

[8] DOLGIN E. Unlocking the potential of vaccines built on messenger RNA[J]. *Nature*, 2019,574(7778):S10 - S12.

[9] MODERNA. Moderna announces new collaboration with AstraZeneca to co-develop and co-commercialize relaxin mRNA therapeutic for heart failure[EB/OL]. (2017 - 11 - 01). https://investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-announces-new-collaboration-astrazeneca-co-develop-and/.

[10] KREITER S, DIKEN M, PASCOLO S, *et al*. RNA vaccination therapy: advances in an emerging field[J]. *J Immunol Res*, 2016,2016:9703914.

[11] 柯尊阳，王宇，李忠明，等. mRNA 技术及其在传染病疫苗研发中的应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2020,40(9):661 - 667.

[12] 胡瞬，易有金，胡涛，等. mRNA 疫苗的开发及临床研究进展[J]. 中国生物工程杂志，2019,39(11):105 - 112.

[13] SAHIN U, DERHOVANESSIAN E, MILLER M, *et al*. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer[J]. *Nature*, 2017,547(7662):222 - 226.

[14] XU S, YANG K, LI R, *et al*. mRNA vaccine era-mechanisms, drug platform and clinical prospection[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(18):6582.

[15] KOWALSKA J, LEWDOROWICZ M, ZUBEREK J, *et al*. Synthesis and characterization of mRNA cap analogs containing phosphorothioate substitutions that bind tightly to eIF4E and are resistant to the decapping pyrophosphatase DcpS[J]. *RNA*, 2008,14(6):1119 - 1131.

[16] KUHN AN, DIKEN M, KREITER S, *et al*. Phosphorothioate cap analogs increase stability and translational efficiency of RNA vaccines in immature dendritic cells and induce superior immune responses *in vivo*[J]. *Gene Ther*, 2010,17(8):961 - 971.

[17] GRUDZIEN-NOGALSKA E, STEPINSKI J, JEMIELITY J, *et al*. Synthesis of anti-reverse cap analogs (ARCAs) and their applications in mRNA translation and stability[J]. *Methods Enzymol*, 2007,431:203 - 227.

[18] VAIDYANATHAN S, AZIZIAN KT, HAQUE A, *et al*. Uridine depletion and chemical modification increase Cas9 mRNA activity and reduce immunogenicity without HPLC purification[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018,12:530 - 542.

[19] KOZAK M. At least six nucleotides preceding the AUG initiator codon enhance translation in mammalian cells[J]. *J Mol Biol*, 1987,196(4):947 - 950.

[20] WEISSMAN D. mRNA transcript therapy[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015,14(2):265 - 281.

[21] CHEN CY, SHYU AB. AU-rich elements: characterization and importance in mRNA degradation[J]. *Trends Biochem Sci*, 1995,20(11):465 - 470.

[22] SCHWAB SR, LI KC, KANG C, *et al*. Constitutive display of cryptic translation products by MHC class I molecules[J]. *Science*, 2003,301(5638):1367 - 1371.

[23] HASSETT KJ, BENENATO KE, JACQUINET E, *et al*. Optimization of lipid nanoparticles for intramuscular administration of mRNA vaccines[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019,15:1 - 11.

[24] KRANZ LM, DIKEN M, HAAS H, *et al*. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy[J]. *Nature*, 2016,534(7607):396 - 401.

[25] HOERR I. The Race Is On: What mRNA product will reach the market first? [EB/OL]. (2019 - 02 - 07). https://www.genengnews.com/insights/the-race-is-on-what-mrna-product-will-reach-the-market-first/.

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

[27] HINZ T, KALLEN K, BRITTEN CM, *et al*. The european regulatory environment of RNA-based vaccines[J]. *Methods Mol Biol*, 2017,1499:203 - 222.

[28] 赵欣，杨丹，金苏，等. 关于新型冠状病毒 mRNA 疫苗临床前药学研发和评价的思考[J]. 中国生物制品学杂志，2021,34(1):116 - 120.

[29] 吴爽，王寅，尹华静，等. 基于平台技术的 mRNA 疫苗非临床评价的考虑[J]. 中国生物制品学杂志，2020,33(10):1214 - 1216.

[30] 国家药品监督管理局药品审评中心. 新型冠状病毒预防用 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则(试行)[S]. 2020.

[31] 易应磊，徐聪聪，姚卫国，等. mRNA 技术产品最新临床研究进展[J]. 中国新药杂志，2021,30(19):1768 - 1774.

[32] POLACK FP, THOMAS SJ, KITCHIN N, *et al*. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine[J]. *N Engl J Med*, 2020,383(27):2603 - 2615.

编辑：王宇梅/接受日期：2021 - 06 - 24