

## 治疗遗传病的RNA药物研究进展

罗婷<sup>1</sup>, 霍春晓<sup>1</sup>, 周天华<sup>1,2,3</sup>, 谢珊珊<sup>4</sup>

1. 浙江大学医学院细胞生物学系, 浙江 杭州 310058
2. 浙江大学医学院附属第四医院 浙江大学国际健康医学研究院 RNA 医学研究中心, 浙江 金华 322000
3. 浙江大学癌症研究院, 浙江 杭州 310058
4. 浙江大学医学院附属儿童医院 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 浙江 杭州 310052



**[摘要]** RNA 药物能够通过识别互补序列靶向对应基因以抑制特定蛋白或 RNA 的表达, 或通过翻译合成目的基因编码的蛋白来发挥遗传性疾病治疗作用。RNA 药物主要分为寡核苷酸药物(包括反义寡核苷酸、小干扰 RNA 和 RNA 适配体)和信使 RNA 药物等。其中, 反义寡核苷酸和小干扰 RNA 已用于临床治疗遗传病, 而 RNA 适配体和信使 RNA 药物目前还处于临床试验阶段。当前主要通过对 RNA 药物进行化学修饰(如对信使 RNA 进行假尿嘧啶修饰)来降低免疫原性和提升药物疗效, 以及开发纳米粒载体、细胞外囊泡和类病毒载体等递送载体来解决 RNA 药物的稳定性、特异靶向性和安全性等问题。本文概述了目前用于治疗遗传病的 11 种 RNA 药物的具体作用分子机制, 并简单讨论了 RNA 药物的化学修饰及递送载体的研究现状。

**[关键词]** RNA 药物; RNA 医学; 反义寡核苷酸; 小干扰 RNA; RNA 适配体; 信使 RNA 药物; 遗传病; 综述

**[中图分类号]** R965 **[文献标志码]** A

### Progress on RNA-based therapeutics for genetic diseases

LUO Ting<sup>1</sup>, HUO Chunxiao<sup>1</sup>, ZHOU Tianhua<sup>1,2,3</sup>, XIE Shanshan<sup>4</sup> (1. Department of Cell Biology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China; 2. The Fourth Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Center for RNA Medicine, International Institutes of Medicine, Zhejiang University, Jinhua 322000, Zhejiang Province, China; 3. Zhejiang University Cancer Center, Hangzhou 310058,

收稿日期(Received): 2023-04-25 接受日期(Accepted): 2023-05-31 网络预发表日期(Online): 2023-06-16

基金项目(Funding): 国家自然科学基金(32270723)

第一作者(First author): 罗婷, 博士研究生, 主要从事原发性纤毛运动障碍相关疾病的研究; E-mail: tingluo1117@163.com; https://orcid.org/0009-0008-8319-7000

通信作者(Corresponding author): 周天华, 教授, 博士生导师, 主要从事分子细胞生物学相关研究; E-mail: tzhou@zju.edu.cn; https://orcid.org/0000-0002-1791-2124. 谢珊珊, 研究员, 硕士生导师, 主要从事纤毛的功能和机制研究; E-mail: sxie@zju.edu.cn; https://orcid.org/0000-0003-4294-8169

China; 4. Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, National Clinical Research Center for Child Health, Hangzhou 310052, China)

Corresponding authors: ZHOU Tianhua, E-mail: tzhou@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0002-1791-2124>; XIE Shanshan, E-mail: sxie@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0003-4294-8169>

[ **Abstract** ] RNA therapeutics inhibit the expression of specific proteins/RNAs by targeting complementary sequences of corresponding genes or encode proteins for the synthesis desired genes to treat genetic diseases. RNA-based therapeutics are categorized as oligonucleotide drugs (antisense oligonucleotides, small interfering RNA, RNA aptamers), and mRNA drugs. The antisense oligonucleotides and small interfering RNA for treatment of genetic diseases have been approved by the FDA in the United States, while RNA aptamers and mRNA drugs are still in clinical trials. Chemical modifications can be applied to RNA drugs, such as pseudouridine modification of mRNA, to reduce immunogenicity and improve the efficacy. The secure and effective delivery systems such as lipid-based nanoparticles, extracellular vesicles, and virus-like particles are under development to address stability, specificity, and safety issues of RNA drugs. This article provides an overview of the specific molecular mechanisms of eleven RNA drugs currently used for treating genetic diseases, and discusses the research progress of chemical modifications and delivery systems of RNA drugs.

[ **Key words** ] RNA drug; RNA medicine; Antisense oligonucleotides; Small interfering RNA; RNA aptamers; Messenger RNA drugs; Genetic disease; Review

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2023, 52(4): 406-416.]

[ **缩略语** ] 成簇的规律间隔的短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR); 2019 冠状病毒病 (coronavirus disease 2019, COVID-19); 信使 RNA (messenger RNA, mRNA); 反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, ASO); 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA); 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2); 食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA); 进行性假肥大性肌营养不良 (Duchenne muscular dystrophy, DMD); 抗肌萎缩蛋白 (dystrophin, Dys); 载脂蛋白 B (apolipoprotein B, ApoB); 甲状腺素转运蛋白 (transthyretin, TTR); 运动神经元存活蛋白 (survival motor neuron protein, SMN); RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC); 氨基乙酰丙酸  $\delta$  合酶 (aminolevulinic acid synthase, ALAS); *N*-乙酰半乳糖胺 (*N*-acetyl-D-galactosamine, GalNAc); 羟羧酸氧化酶 (hydroxyacid oxidase, HAO); 原纤蛋白 (fibrillin, FBN); 小激活 RNA (small activating RNA, saRNA); 脂质纳米粒 (lipid nanoparticle, LNP); 病毒样颗粒 (virus-like particle, VLP)

遗传病是指 DNA 发生有害突变引起的疾病, 表现为单基因或多基因的突变、染色体数或结构的异常, 以及环境因素与基因突变的共同作用结果<sup>[1]</sup>。尽管随着分子生物学及基因检测技术的发展, 遗传病的临床诊断率已得到显著提高, 但这

些疾病的治疗仍举步维艰, 95% 以上的遗传病只能通过药物干预缓解其临床症状, 尚无特效治疗方法, 更谈不上治愈<sup>[2]</sup>。

基于 DNA 的基因治疗可以通过替换、修复有缺陷的基因, 进而彻底治疗基因缺陷所致的疾

病,是治愈遗传病的希望<sup>[3]</sup>。当前,主流的基因治疗技术包括腺相关病毒等病毒载体介导的基因替换与补偿技术、CRISPR-Cas9 基因编辑技术及其衍生出的碱基编辑器技术(腺嘌呤碱基编辑器和胞嘧啶碱基编辑器等<sup>[4-5]</sup>),这些技术的开发有望为致病基因突变明确的遗传病患者提供个性化的治疗策略。如 CRISPR-Cas9 技术已应用于治疗镰状细胞性贫血、地中海贫血、杜氏肌营养不良、CRYGC 基因突变引发的白内障、 $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶缺乏症等遗传病的研究<sup>[6]</sup>。

虽然基因治疗具有巨大的应用潜力,但其仍面临着一些问题。一方面,CRISPR 可能会在具有相似序列的位置上进行切割,造成脱靶效应。这些脱靶切割可能发生在整个基因组中,导致产生损害细胞功能、直接杀死细胞或致癌的有害突变。另一方面,作为一种直接针对人体基因组进行修整的“精密手术”,自诞生伊始,基因治疗便面临一系列的伦理问题,如病毒递送工具的安全性及整合风险、基因干预的潜在利弊、研究参与者参与机会的公正性、研究参与者知情同意的真实性,以及参与者的隐私和医学信息保密等<sup>[7]</sup>。

随着 COVID-19 mRNA 疫苗的成功研发以及多种基于 RNA 的新型药物获批, RNA 药物已跃居创新药物研究的前沿。RNA 药物是一种基于 RNA 分子来预防或治疗特定疾病的新方法,其核心是在 RNA 水平调节蛋白质的生成和功能。与基因治疗比较, RNA 药物具有遗传毒性风险较低、靶点范围广和设计灵活等特点<sup>[8]</sup>。目前, RNA 药物主要分为三类:①靶向结合天然 RNA 的寡核苷酸药物,如 ASO 和 siRNA;②利用 RNA 自身的空间结构靶向蛋白质的 RNA 药物,如 RNA 适配体;③以编码蛋白质为目的的 mRNA<sup>[9]</sup>。美国 Pfizer 公司开发的 Comirnaty 和美国 Moderna 公司开发的 Elasmomeran 都是基于 mRNA 的 COVID-19 疫苗。这些疫苗通过编码 SARS-CoV-2 刺突蛋白的 mRNA 序列,使受接种者细胞产生特异性抗原进而启动体液和细胞免疫应答来抵御 COVID-19<sup>[10]</sup>。此外,许多研究已证明 RNA 药物用于治疗遗传病的可行性,这为遗传病患者带来曙光。2016 年,美国 FDA 批准了 ASO 药物 Eteplirsen 用于 DMD 的治疗。Eteplirsen 针对特定突变,可用于治疗约 14% 的 DMD 病例<sup>[11]</sup>。截至目前,美国 FDA 共批准了 17 种 RNA 药物或疫

苗,包括 9 种 ASO、5 种 siRNA、1 种 RNA 适配体和 2 种 mRNA,其中 11 种 RNA 药物的适应证为遗传病,见表 1。另外有 23 种正在进行临床试验的 RNA 候选药物,见表 2。可以看出, RNA 类药物在治疗遗传病中具有巨大潜力。

本文总结了近年来用于遗传病治疗的 RNA 药物的作用分子机制,讨论了 RNA 药物的化学修饰及递送载体的研究现状,旨在为相关研究人员提供 RNA 药物治疗遗传病的最新进展,并从 RNA 的新视角为临床疾病预防和治疗提供思路。

## 1 RNA 药物治疗遗传病的作用机制

RNA 药物根据其分子量的大小可以分为两类:一类是分子量较小的寡核苷酸药物,如 ASO、siRNA、RNA 适配体,主要通过化学合成来获得;另一类是分子量较大的 mRNA 药物,其在细胞内可直接翻译成目标基因编码的蛋白产物,主要通过体外转录来获得<sup>[12]</sup>。不同类型的 RNA 药物利用细胞内源性的工具,以不同的作用机制来实现遗传病的治疗。

### 1.1 寡核苷酸药物

寡核苷酸药物的长度一般小于 30 nt,包括 ASO、siRNA 和 RNA 适配体等<sup>[13]</sup>。

**1.1.1 ASO** ASO 一般是指一段由 15~25 个核苷酸组成的、与靶基因配对的单链核苷酸分子,以沃森-克里克(Watson-Crick)碱基配对的方式与特异的 RNA 序列结合,主要通过两种作用方式来调目标 RNA 的功能<sup>[14]</sup>。①降解机制:ASO 与成熟 mRNA 结合形成杂合体,通过细胞内一些降解途径,导致 mRNA 降解,从而抑制基因表达。具体的作用机制可进一步分为核糖核酸酶 H 介导的降解、AGO2 介导的降解、无义介导的降解以及 No-go(翻译停滞)降解。如 Mipomersen 可与载脂蛋白 *ApoB-100* 的 mRNA 结合,切割其 mRNA,进而抑制 ApoB-100 蛋白的表达。而 ApoB-100 是低密度脂蛋白及其前体极低密度脂蛋白的主要成分,因此 Mipomersen 可用作降脂药物治疗家族性高胆固醇血症<sup>[15]</sup>。再如治疗成人遗传性 TTR 淀粉样变性的 Inotersen。Inotersen 通过与 *TTR* mRNA 结合,抑制 TTR 蛋白的生成,降低 TTR 淀粉样变性的积累,从而达到治疗遗传性 TTR 淀粉样变性的效果<sup>[16]</sup>。②空间位阻机制:ASO 与 RNA 结合后,通过空间位阻效应调控 RNA 的转录、剪

表1 美国食品药品监督管理局批准用于治疗遗传性疾病的RNA药物

Table 1 U.S. Food and Drug Administration approved RNA medications for genetic diseases treatment

RNA 药物	商品名	获批年份	作用机制	适应证	修饰类型	给药方式
反义寡核苷酸						
Mipomersen	Kynamro	2013	诱导 <i>ApoB</i> mRNA 降解	家族性高胆固醇血症	硫代磷酸	皮下注射
Nusinersen	Spinraza	2016	诱导 <i>SMN2</i> mRNA 中外显子保留	脊髓性肌萎缩	硫代磷酸、2'-氧-甲氧基乙基	鞘内注射
Eteplirsen	Exondys 51	2016	诱导 <i>DYS</i> mRNA 中外显子跳跃	DMD	磷酸二胺吗啉代寡核苷酸、聚乙二醇化	静脉输注
Inotersen	Tegsedi	2018	诱导 <i>TTR</i> mRNA 降解	遗传性 TTR 淀粉样变性病	硫代磷酸、2'-氧-甲氧基乙基	皮下注射
Golodirsen	Vyondys 53	2019	诱导 <i>DYS</i> mRNA 中外显子跳跃	DMD	磷酸二胺吗啉代寡核苷酸	静脉输注
Viltolarsen	Viltepso	2020	诱导 <i>DYS</i> mRNA 中外显子跳跃	DMD	磷酸二胺吗啉代寡核苷酸	静脉输注
Casimersen	Amondys 45	2021	诱导 <i>DYS</i> mRNA 中外显子跳跃	DMD	磷酸二胺吗啉代寡核苷酸	静脉输注
小干扰 RNA						
Patisiran	Onpattro	2018	RNA 干扰介导的 <i>TTR</i> mRNA 切割	遗传性 TTR 淀粉样变性	2'-甲氧基、2'-氧-甲氧基	静脉输注 (LNP)
Givosiran	Givlaari	2019	RNA 干扰介导的 <i>ALAS1</i> mRNA 切割	急性肝卟啉症	<i>N</i> -乙酰半乳糖胺偶联、2'-甲氧基、2'-氟	皮下注射
Lumasiran	Oxlumo	2020	RNA 干扰介导的 <i>HAO1</i> mRNA 切割	1型原发性高草酸尿症	<i>N</i> -乙酰半乳糖胺偶联、2'-甲氧基、2'-氟	皮下注射
Vutrisiran	Amvuttra	2022	RNA 干扰介导的 <i>TTR</i> mRNA 切割	遗传性 TTR 淀粉样变性	<i>N</i> -乙酰半乳糖胺偶联	皮下注射

APOB:载脂蛋白B;mRNA:信使RNA;SMN:运动神经元存活蛋白;DYS:抗肌萎缩蛋白;DMD:进行性假肥大性肌营养不良;TTR:甲状腺素转运蛋白;LNP:脂质纳米粒;ALAS:氨乙酰丙酮δ合酶;HAO:羧基氧化酶。

切和翻译等过程,从而抑制或促进基因表达。其最常见的作用是调节前体RNA的剪切,主要以外显子跳跃和外显子保留为主。外显子跳跃治疗即通过人工合成的ASO与靶基因结合,抑制某一剪切增强子位点,以阻止特定外显子参与剪接,从而恢复突变的开放阅读框。这一过程虽然会使转录本长度缩短,但不会破坏整体阅读框架,进而产生截短但有功能的蛋白质<sup>[17]</sup>。外显子保留则是通过ASO与目标前体mRNA的靶序列结合后,阻断剪切因子的识别,以恢复特定外显子,从而提高蛋白质翻译效率。如目前四种用于DMD的ASO类药物(Casimersen、Eteplirsen、Golodirsen、Viltolarsen)就是基于ASO调节前体mRNA剪接的原理。DMD是常见的X连锁隐性遗传性神经肌肉病,是由*DYS*基因突变导致*DYS*缺失而引起的肌肉萎缩性疾病,恢复*DYS*功能或增加其表达是一种有前景的治疗手段。这四种ASO类药物均通过外显子跳跃的方法以增加功能性*DYS*的表达,延缓DMD进展。具体来说,Casimersen和Eteplirsen与

突变的*DYS*结合,并通过外显子跳跃分别将45和51号外显子从RNA中排除,以产生一种略微缩短但功能正常且对肌肉至关重要的*DYS*蛋白;Golodirsen和Viltolarsen则靶向*DYS*53号外显子,以诱导*DYS*在53号外显子发生跳跃,增加患者*DYS*水平,从而达到治疗效果<sup>[18-21]</sup>。而于2016年获得美国FDA批准的Nusinersen则通过外显子保留的机制用于治疗脊髓性肌萎缩。脊髓性肌萎缩是一种由*SMN1*纯合缺失或突变导致SMN低表达引起的运动神经元疾病,常表现为运动神经元变性,患者近端肢体和躯干呈现进行性、对称性肌无力和肌萎缩。*SMN2*作为*SMN1*的同源基因,同样能够产生SMN蛋白。然而,由于*SMN2*前体mRNA的剪接沉默位点1上通常存在异构核糖核蛋白,导致7号外显子被剪切,使得SMN蛋白的产生速率大幅降低。基于此原理开发的Nusinersen能够与*SMN2*前体mRNA的靶序列特异性结合,以取代剪接沉默位点1的异构核糖核蛋白,保留7号外显子,从而提高SMN蛋白的翻

表2 正在临床研究用于治疗遗传性疾病的RNA药物

RNA 药物	研发机构	适应症	靶点	临床研究阶段	修饰类型	给药方式
反义寡核苷酸						
R07248824	Roche	快乐木偶综合征	泛素蛋白连接酶E3A	I 期	锁核酸修饰	鞘内注射
WVE-N531	Wave Life Sciences	进行性假肥大型肌营养不良	抗肌萎缩蛋白	II 期	磷酸基瓜修饰	静脉注射
WVE-003	Wave Life Sciences	亨廷顿病	亨廷顿蛋白	I/II 期	磷酸基瓜修饰	鞘内注射
WVE-004	Wave Life Sciences	肌萎缩侧索硬化	C9ORF72 基因	I/II 期	磷酸基瓜修饰	鞘内注射
DYNE-101	Dyne Therapeutics	I 型强直性肌营养不良	肌强直蛋白激酶	II 期	抗体-寡核苷酸偶联	静脉注射
AKCEA-APOCIII-LRx	Ionis Pharmaceuticals	家族性高乳糜脂血症	ApoC-III	III 期	N-乙酰半乳糖胺偶联	皮下注射
Ulteversen	ProQR Therapeutics	Usher 综合征 II 型、非综合征性视网膜色素变性	USH2A 基因 13 号外显子	II/III 期	硫代磷酸、2'-氧-甲基	玻璃体内注射
Sepolarsen	ProQR Therapeutics	莱伯遗传性视神经病变	CEP290 基因的 p.Cys998X 突变	I/II 期	硫代磷酸、2'-氧-甲基	玻璃体内注射
QR-1123	ProQR Therapeutics	常染色体显性视网膜色素变性	视紫红质	II 期	硫代磷酸、2'-氧-甲基	玻璃体内注射
QR-010	ProQR Therapeutics	ΔF508 突变的囊性纤维化	囊性纤维化跨膜调节因子	I/II 期	硫代磷酸、2'-氧-甲基	吸入给药
QR-313	Phoenicis Therapeutics	营养不良性大疱性表皮松懈症	COL7A1 的前体 mRNA	I/II 期	—	透皮给药
Disaparsen	BioMarin Pharmaceutical	进行性假肥大型肌营养不良	抗肌萎缩蛋白	II 期	硫代磷酸、2'-氧-甲基	静脉注射
小干扰 RNA						
ADX-324	ADARx Pharmaceuticals	遗传性血管性水肿	血浆激肽释放酶抑制剂	I 期	—	皮下注射
Nedostiran	Dicerna Pharmaceuticals	I/II/III 型原发性高草酸尿症	乳酸脱氢酶	III 期	N-乙酰半乳糖胺偶联	皮下注射
Inclisiran	Novartis Pharmaceuticals	纯合子型/杂合子型家族性高胆固醇血症	前蛋白转化酶枯草溶菌素/Kexin9 型	III 期	硫代磷酸	皮下注射
TD101	TransDerm	N171K 突变的先天性甲肥厚	N171K 突变的角蛋白	I 期	—	皮下注射
ARC-AAAT	Arrowhead Pharmaceuticals	α1 抗胰蛋白酶缺乏症	α1 抗胰蛋白酶	I 期	—	静脉注射
RNA 适配体						
BT200	Medical University of Vienna	血小板型血管性血友病、血友病 A	血管性血友病因子	II 期	聚乙二醇修饰	皮下注射
mRNA						
mRNA-3705	Moderna	甲基丙二酸血症	甲基丙二酸单酰辅酶 A 变位酶	II 期	—	静脉注射(LNP)
mRNA-3745	ModernaTX	糖原贮积病 1a	葡萄糖-6-磷酸酶	I 期	—	静脉注射(LNP)
VX-522	Vertex Pharmaceuticals Incorporated	囊性纤维化	囊性纤维化跨膜调节因子	I 期	—	吸入给药(LNP)
ARCT-810	Arcturus Therapeutics	鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺乏症	鸟氨酸氨甲酰基转移酶	II 期	—	静脉注射(LNP)
ARCT-032	Arcturus Therapeutics	囊性纤维化	囊性纤维化跨膜调节因子	I 期	—	吸入给药(LNP)

—: 无相关资料; C9ORF72: 9 号染色体开放阅读框 72; ApoC-III: 载脂蛋白 C3; CEP290: 中心体蛋白 290; COL7A1: VII 型胶原蛋白 α1; LNP: 脂质纳米粒。

译效率,产生更稳定的全长SMN蛋白并发挥治疗作用<sup>[17]</sup>。

**1.1.2 siRNA** siRNA通常是由19~25个碱基对组成的双链RNA分子,可下调特定基因的表达。许多遗传病与特定基因的正常表达密切相关,常表现为突变基因或错误折叠蛋白质的过表达<sup>[22]</sup>,而siRNA疗法可通过选择性沉默致病基因实现遗传病的治疗。

siRNA介导的RNA干扰作用机制主要分为三个阶段:①细胞质核糖核酸内切酶Dicer将双链RNA或短发夹RNA切割,得到21~25 bp的siRNA,通常在每条链的3'端有两个悬垂的磷酸化碱基;②成熟的siRNA被组装到RISC中,然后被分离成正义链和反义链,正义链从复合体中释放出来形成成熟的RISC,反义链仍然存在,作为引导复合体的向导,并与靶mRNA序列进行配对;③向导RNA与靶mRNA互补结合触发RISC中的内切酶AGO2切割靶序列,切割mRNA被细胞识别为异常,从而导致mRNA的降解,不能翻译与合成蛋白质<sup>[23]</sup>。

基于siRNA药物的研发已经发展了近20年,目前美国FDA已批准了四种siRNA药物用于遗传病的治疗,其中有两种针对遗传性TTR淀粉样变性。2018年10月,全球第一款siRNA药物Patisiran获得美国FDA批准上市用于治疗遗传性TTR淀粉样变性。Patisiran可靶向结合TTR mRNA变体上的保守序列,从而减少TTR淀粉样蛋白的沉积并促进其在外周组织中的清除,以及组织功能的恢复<sup>[24]</sup>。相比Patisiran需每三周给药一次,于Vutrisiran只需每季度皮下注射一次即可获得更好的疗效,且药物的效力和稳定性都有所提升<sup>[25]</sup>。除此之外,由美国Alnylam公司研发的Givosiran可用于治疗成人急性肝卟啉症。急性肝卟啉症由肝脏血红素合成途径中的突变引起,该突变会导致ALAS1上调,从而诱导具有神经毒性的代谢产物氨基乙酰丙酸和胆色素原的生成和蓄积<sup>[26]</sup>。Givosiran由含21个碱基的正义链和含23个碱基的反义链组成,能特异性地与ALAS1 mRNA上的靶序列结合,使ALAS1合成减少,氨基乙酰丙酸和胆色素原的产生也随之减少,达到治疗效果<sup>[27]</sup>。siRNA药物Lumasiran用于治疗1型原发性高草酸尿症<sup>[28]</sup>。这是一种罕见的遗传性肝脏疾病,会导致患者体内产生过量的草酸

盐并累积于肾脏不能及时排出,最终发展为终末期肾衰竭<sup>[29]</sup>。Lumasiran是一种皮下注射的siRNA药物,通过专有的ESC-GalNAc递送平台(提高RNA干扰疗法的稳定性,靶向递送至肝脏),靶向编码肝脏中乙醇酸氧化酶的HAO1 mRNA。Lumasiran能降低肝脏乙醇酸氧化酶的水平,从而消耗生成草酸所需的基质,减少草酸生成,为1型原发性高草酸尿症患者带来曙光<sup>[28]</sup>。

**1.1.3 RNA适配体** RNA适配体是一种能够与靶分子特异性结合的单链核糖核苷酸,其通过特定的空间构象和碱基序列选择性识别目标分子。这种识别过程通常涉及适配体与靶分子之间的氢键、范德华力、离子相互作用等非共价相互作用<sup>[30]</sup>。RNA适配体的结合解离常数可达到皮摩尔至纳摩尔水平,与单克隆抗体结合能力相当。一旦RNA适配体与靶分子结合,其可以通过多种途径干扰靶分子的功能,如阻止靶分子与其他分子结合、阻碍酶催化反应发生和改变靶分子的构象等。RNA适配体可通过体外筛选方式获得,其突出优势是易于合成、易于修饰、免疫原性低,因而被认为具有治疗多种疾病的潜力。然而,从上世纪90年代RNA适配体药物的概念提出至今,全世界仅有一种RNA适配体药物进入临床使用,即Pegaptanib,由加拿大Valeant公司开发用于治疗湿性年龄相关性黄斑变性<sup>[31]</sup>。在遗传病的治疗方面,BT200是一种聚乙二醇化的能与人血管性血友病因子A1结构域特异性结合的适配体,Ⅱ期临床试验结果表明,低剂量BT200可能对于血管性假血友病因子缺乏引起的遗传性出血性疾病具有显著的治疗效果。

## 1.2 mRNA药物

mRNA是由DNA的一条链作为模板转录而来的、携带遗传信息、能指导蛋白质合成的一类单链RNA。目前将mRNA作为药物用于治疗主要体现在两个方面:①mRNA疫苗:将编码抗原序列的mRNA疫苗通过脂质纳米载体等递送平台引入细胞,然后由人体细胞通过翻译过程产生蛋白质抗原,激活免疫反应;②mRNA药物:将体外合成的目的基因mRNA递送至特定细胞内来补偿细胞内缺少的特定蛋白质以行使功能<sup>[32]</sup>。

在遗传病和罕见病的治疗领域,基于蛋白质替代疗法的定向递送mRNA药物有着巨大的潜力。囊性纤维化是一种单基因常染色体隐性遗

传疾病。mRNA 介导的蛋白质替代疗法可用于产生囊性纤维化跨膜电导调节蛋白质的功能拷贝,为治愈这种单基因疾病带来希望。一项双盲安慰剂对照试验显示,脂质体包裹的 mRNA 经鼻内给药至囊性纤维化患者后,4 周内未检测到免疫反应或功效降低,表现出良好的持续性<sup>[33]</sup>。此外,针对甲基丙二酸血症、鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症、法布里病、糖原贮积病 1a 等代谢性罕见病,临床前实验证实 mRNA 具有良好的疗效,最近的研究还发现其在急性间歇性卟啉病上具有治疗潜力<sup>[34]</sup>。

### 1.3 其他 RNA 药物

核酶是一种具有核酸内切酶活性的 RNA 分子,可特异性切割 RNA 序列,下调基因表达水平<sup>[35]</sup>。因此,若已知显性遗传病的致病基因序列,则可设计特异性核酶抑制其表达,达到治疗效果。马方综合征是由于 *FBN1* 基因突变导致的显性遗传病。研究表明,锤头状核酶可靶向 *FBN1* mRNA 5' 端,减少成纤维细胞中变异 *FBN1* 的细胞外沉积,从而使正常 *FBN1* 含量相对增加,有望为马方综合征患者的治疗提供新思路<sup>[36]</sup>。

saRNA 与 siRNA 类似,也是小分子双链 RNA,且 saRNA 具有基因激活功能,能激活目的基因的表达<sup>[37]</sup>。因此,saRNA 有望通过增加某一重要基因的表达水平弥补由于基因缺陷引起的相关遗传病。然而,目前有关 saRNA 在遗传病中的研究相对较少。

## 2 治疗遗传病 RNA 药物的设计和递送

尽管基于 RNA 药物的新型治疗方法已在癌症、病毒感染、遗传病等治疗中显示出一定的应用前景,但 RNA 药物在成药性方面仍受众多因素制约,面临稳定性差、半衰期短、免疫原性、组织靶向性、细胞摄取和内涵体逃逸等多方面的挑战<sup>[8]</sup>。如何安全、高效地将这些功能性分子递送到靶组织是 RNA 药物研发的关键。目前,可以通过多种途径改善 RNA 药物,包括对 RNA 药物进行化学修饰和提供安全有效的递送载体<sup>[38-39]</sup>。

### 2.1 RNA 药物的化学修饰

迄今,美国 FDA 批准的所有 RNA 靶向药物都是经过化学修饰的 RNA 类似物。RNA 药物的化学修饰对于提高药物疗效和降低毒性有着重要作用。一方面,经化学修饰后的 RNA 药物能降

低免疫原性,大幅提高药物的安全性;另一方面,化学修饰能够增强 RNA 药物抵抗内源性内切酶和外切酶降解的能力,提升药物疗效。针对 siRNA 药物,化学修饰还可以增强其反义链对 RISC 负载的选择性,以降低脱靶毒性<sup>[40-42]</sup>。寡核苷酸药物通常可以依据核糖核苷酸的主体结构进行大量修饰,如硫代磷酸取代磷酸骨架中的非氧桥,以及用惰性基团(2'-氧-甲氧基乙基、2'-甲氧基、2'-氟)取代核糖 2'-羟基位点等<sup>[43]</sup>。然而,化学修饰并不适用于所有 RNA 药物,mRNA 的功能和结构对修饰更敏感,因此常采用天然存在的 RNA 修饰,如对体外合成的 mRNA 进行 5' 端加帽修饰和开放阅读框中的核苷酸修饰(假尿嘧啶修饰和 5-甲基胞嘧啶修饰等),能有效降低 mRNA 的免疫原性,提高 mRNA 稳定性和翻译效率等<sup>[32]</sup>。

除此之外,RNA 分子还能与脂质、半乳糖、蛋白/多肽或适配体等共价偶联,以增加 RNA 药物的半衰期,并提高靶向性。其中寡核苷酸药物与 GalNAc 的偶联实现了肝脏靶向递送,是寡核苷酸药物发展历程中的重大突破<sup>[44-45]</sup>。目前已有多种基于 GalNAc 偶联技术开发的产品获批上市,如 Givosiran、Lumasiran 和 Inclisiran 等,这三者对遗传性代谢疾病和心血管系统疾病的治疗都具有显著的优势。

### 2.2 RNA 药物的递送载体

RNA 药物尽管有巨大的应用潜力,但众多处于临床前的 RNA 药物向临床转化仍十分困难,缺乏安全有效的递送系统是限制该类药物应用的关键。siRNA、ASO 等寡核苷酸药物可通过化学修饰或抗体偶联等方式直接输送至体内。然而,mRNA 分子由于尺寸大、带有负电荷以及易被核酸酶降解等固有缺陷,其递送策略的开发壁垒进一步拔高,严重阻碍了这类药物的临床转化。因此,研发出高效安全的递送系统是 mRNA 药物进入发展新阶段的必由之路。

以慢病毒和腺相关病毒为代表的病毒载体虽递送效率高,但存在可能与基因组整合、脱靶效应以及宿主排斥等固有缺陷,使其在 RNA 药物递送领域的应用受限。目前,基于脂质的纳米载体递送系统 LNP 凭借其相对安全的优势,成为 mRNA 药物的主流递送载体。事实上,LNP 虽易被抗原提呈细胞吸收,但其通过内吞途径进入细胞后,不易从内吞体逃逸出来,因此 LNP 的递送

效率较低且缺乏除肝脏以外的靶向性,仍需进一步开发和探索<sup>[46]</sup>。而介于病毒载体与非病毒载体之间的VLP递送策略给目前的递送现状增添了新鲜血液:一方面其借助了病毒外壳,使得感染细胞的效率较高;另一方面,在基因载荷方面,VLP-mRNA可以递送如整个CRISPR元件大小的载荷,突破了腺相关病毒载体运载能力小的限制<sup>[47]</sup>。除VLP外,细胞外囊泡作为细胞内源性纳米粒,可凭借其相对惰性、低免疫原性、生物降解性和生物相容性等特质,有望开发为下一代纳米递送工具。然而,细胞外囊泡的大规模制造、生产和纯化工艺仍需优化<sup>[48]</sup>。以下简单介绍纳米粒载体、病毒样颗粒和细胞外囊泡的设计原理,及其在RNA领域中的应用情况。

**2.2.1 纳米粒载体** 纳米粒是目前研究最为广泛的一类载体,其基本原理是包裹于纳米粒中的RNA被细胞内吞后形成内体,内体在酸性条件下释放RNA,随后利用细胞内源性元件进行翻译。根据纳米材料的不同,纳米粒载体可分为基于脂质的纳米载体递送系统和基于聚合物的纳米递送系统。LNP由于配方简单、生物相容性好、生物利用度高、有效载荷大,成为目前发展最快的一类药物递送系统,已用于mRNA和siRNA的递送。LNP包含胆固醇、辅助脂质、聚乙二醇修饰脂质和带有氨基的阳离子或可电离脂质这四种基本成分。其中,阳离子脂质可与带负电的RNA吸附结合;胆固醇能够稳定纳米粒的空间结构;辅助脂质则可以加快LNP在细胞中的结构变化,加速RNA的释放;聚乙二醇修饰脂质有利于提高LNP的整体稳定性,延长其在血浆中的半衰期,以使更多的RNA药物富集到靶组织<sup>[49]</sup>。目前,已有三种基于LNP的RNA药物获批上市,包括美国Alnylam公司的Patisiran、美国Pfizer公司的BNT-162和美国Moderna公司的mRNA-1273。其中,Patisiran是siRNA类药物,后两者是COVID-19的mRNA疫苗。

不同于LNP,基于聚合物的纳米递送系统是以高分子聚合物为载体,利用带正电荷的胺基吸附结合带负电荷的RNA,将RNA包载于聚合物内部形成的一种储库型药物递送载体。根据结构的不同,可将聚合物分为线型聚合物、树枝状大分子聚合物和超支化聚合物,按需选择不同种类的聚合物可以实现不同的药物释放行为。同

时,通过对聚合物表面进行靶向因子修饰,可实现药物对特异性病灶部位的靶向递送<sup>[50]</sup>。然而,有关该递送系统对RNA药物的递送尚处于研究阶段。

**2.2.2 病毒样颗粒** 病毒样颗粒来源于病毒支架,是一种可以感染细胞但缺乏病毒遗传物质的病毒蛋白组装体,通过利用病毒特性可实现体内RNA的有效递送。不同VLP的设计原理各不相同,目前报道的用于递送RNA药物的VLP主要有两种:①VLP-mRNA技术,即利用mRNA茎环结构和噬菌体衣壳蛋白特异识别的原理,通过病毒工程技术研发的新型递送技术,目前已经在小鼠模型中证明VLP-mRNA可用于治疗疱疹性基质性角膜炎,并在多种疾病中开展临床前研究,如病毒性角膜炎、地中海贫血和血友病<sup>[51]</sup>;②选择性内源性衣壳化的细胞递送系统(selective endogenous encapsidation for cellular delivery),该系统基于内源父源表达蛋白10会与自身mRNA的5'和3'端非翻译区序列结合的特性,实现对插到5'和3'端非翻译区序列之间的目的序列进行封装并在其周围形成一个球形的保护囊,进而用于包装和递送特定的RNA<sup>[52]</sup>。

**2.2.3 细胞外囊泡** 细胞外囊泡是由细胞释放的各种具有膜结构的囊泡(直径为40~1000 nm)。由于免疫原性低、可生物降解及低毒性,细胞外囊泡已经成为免疫治疗、再生医学等领域非常有前景的药物递送载体<sup>[53]</sup>。2011年就有报道利用外泌体靶向递送siRNA以治疗阿尔茨海默病的相关探索,对外泌体表面膜蛋白进行改造后,通过电穿孔的方法使外源性siRNA进入外泌体中,随后外泌体携带特定的siRNA进入中枢神经系统并将其引入神经元,可显著下调阿尔茨海默病相关蛋白BACE1的表达<sup>[54]</sup>。在此基础上,有研究人员构建了靶向中枢神经系统的携带有环状RNA的细胞外囊泡,其能有效缓解慢性应激引起的抑郁样行为障碍,显示环状RNA也可以作为RNA药物<sup>[55]</sup>。然而到目前为止,还没有基于细胞外囊泡载体的RNA药物进入市场,部分原因在于细胞外囊泡的大规模生产能力不足和纯化工艺不完善。

### 3 展 望

综上所述,RNA药物在治疗遗传病方面正在展现良好的应用前景。受到COVID-19 mRNA疫



苗等新型RNA药物成功上市的启发,越来越多的研究人员正在致力于开发基于RNA的新药。随之而来的是基于RNA的疾病预防、诊断和治疗研究开始迅速兴起,我们将其称为“RNA医学”。RNA医学的应用场景非常广阔,主要包括以下几个领域:一是用于疾病预防的RNA疫苗。RNA疫苗通过携带编码特定抗原的mRNA分子来引导人体细胞产生抗原蛋白,从而诱导免疫系统产生特定的免疫应答。随着技术的不断发展,RNA疫苗有望成为未来预防传染病和恶性肿瘤等重大疾病的重要工具。二是用于疾病诊断的RNA检测技术。将疾病发生发展不同阶段的RNA异常作为诊断分子标志物,可以帮助快速准确地诊断特定疾病。例如在癌症早期患者血液中出现的特定RNA或RNA修饰可用作诊断指标,或者检测病理组织中特定RNA的表达情况来作为诊断或预后的重要指标。三是用于疾病治疗的RNA药物。利用RNA技术来调控基因表达和修复异常基因,从而精准有效地治疗遗传病、肿瘤、心脑血管疾病和神经退行性疾病等。我们有理由相信,包括RNA药物在内的RNA医学将从新的视角为突破目前的一些医学困境,促进疾病预防和诊疗水平提高,从而护佑人类生命健康做出应有的贡献。

志谢 研究得到国家自然科学基金(32270723)支持.感谢浙江大学滨江研究院许张启博士对文稿的修改建议

**Acknowledgements** This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (32270723). We thank Dr. XU Zhangqi from the Binjiang Institute of Zhejiang University for assistance in manuscript revision

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**Conflict of Interests** The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2023. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

## 参考文献(References)

- [1] CLAUSNITZER M, CHO J H, COLLINS R, et al. A brief history of human disease genetics[J]. *Nature*, 2020, 577(7789): 179-189.
- [2] ROTH T L, MARSON A. Genetic disease and therapy [J]. *Annu Rev Pathol*, 2021,16: 145-166.
- [3] KAUFMANN K B, BÜNING H, GALY A, et al. Gene therapy on the move[J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5 (11): 1642-1661.
- [4] KOMOR A C, KIM Y B, PACKER M S, et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage[J]. *Nature*, 2016, 533(7603): 420-424.
- [5] GAUDELLI N M, KOMOR A C, REES H A, et al. Programmable base editing of A\*T to G\*C in genomic DNA without DNA cleavage[J]. *Nature*, 2017, 551 (7681): 464-471.
- [6] KHATIBI S, SAHEBKAR A, AGHAEI-BAKHTIARI S H. CRISPR genome editing technology and its application in genetic diseases: a review[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2021, 22(4): 468-479.
- [7] BASKERVILLE G. Human gene therapy: application, ethics and regulation[J]. *Dickinson Law Rev*, 1992, 96(4): 733-763.
- [8] KACZMAREK J C, KOWALSKI P S, ANDERSON D G. Advances in the delivery of RNA therapeutics: from concept to clinical reality[J]. *Genome Med*, 2017, 9 (1): 60.
- [9] ZHU Y, ZHU L, WANG X, et al. RNA-based therapeutics: an overview and prospectus[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 644.
- [10] VERBEKE R, LENTACKER I, DE SMEDT S C, et al. The dawn of mRNA vaccines: the COVID-19 case[J]. *J Control Release*, 2021, 333: 511-520.
- [11] IRWIN A N, HERINK M C. Eteplirsen for the treatment of duchenne muscular dystrophy: quality of evidence concerns-an alternative viewpoint[J/OL]. *Pharmacotherapy*, 2017, 37(10): e109-e111.
- [12] SULLENGER B A, NAIR S. From the RNA world to the clinic[J]. *Science*, 2016, 352(6292): 1417-1420.
- [13] ROBERTS T C, LANGER R, WOOD M. Advances in oligonucleotide drug delivery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(10): 673-694.
- [14] CROOKE S T, BAKER B F, CROOKE R M, et al. Antisense technology: an overview and prospectus[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(6): 427-453.
- [15] PARHAM J S, GOLDBERG A C. Mipomersen and its use in familial hypercholesterolemia[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2019, 20(2): 127-131.
- [16] ROBINSON C, PHAM C, ZAMARRIPA A M, et al. Inotersen to treat polyneuropathy associated with hereditary transthyretin (hATTR) amyloidosis[J]. *Health Psychol Res*, 2022, 10(5): 67910.
- [17] DUONG T, WOLFORD C, MCDERMOTT M P, et al. Nusinersen treatment in adults with spinal muscular atrophy[J/OL]. *Neurol Clin Pract*, 2021,11(3): e317-e327.
- [18] ZAKERI S E, PRADEEP S P, KASINA V, et al. Casimersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(7): 607-608.

- [19] NELSON S F, MICELI M C. FDA approval of eteplirsen for muscular dystrophy[J]. **JAMA**, 2017, 317(14): 1480.
- [20] ANWAR S, YOKOTA T. Golodirsen for Duchenne muscular dystrophy[J]. **Drugs Today (Barc)**, 2020, 56(8): 491-504.
- [21] ROSHMI R R, YOKOTA T. Viltolarsen: from preclinical studies to FDA approval[J]. **Methods Mol Biol**, 2023, 2587: 31-41.
- [22] LARES M R, ROSSI J J, OUELLET D L. RNAi and small interfering RNAs in human disease therapeutic applications[J]. **Trends Biotechnol**, 2010, 28(11): 570-579.
- [23] ZHANG M M, BAHAL R, RASMUSSEN T P, et al. The growth of siRNA-based therapeutics: updated clinical studies[J]. **Biochem Pharmacol**, 2021, 189: 114432.
- [24] LUIGETTI M, SERVIDEI S. Patisiran in hereditary transthyretin-mediated amyloidosis[J]. **Lancet Neurol**, 2021, 20(1): 21-23.
- [25] ADAMS D, TOURNEV I L, TAYLOR M S, et al. Efficacy and safety of vutrisiran for patients with hereditary transthyretin-mediated amyloidosis with polyneuropathy: a randomized clinical trial[J]. **Amyloid**, 2023, 30(1): 1-9.
- [26] ANDERSON K E. Acute hepatic porphyrias: current diagnosis & management[J]. **Mol Genet Metab**, 2019, 128(3): 219-227.
- [27] SYED Y Y. Givosiran: a review in acute hepatic porphyria [J]. **Drugs**, 2021, 81(7): 841-848.
- [28] SHAH V N, PYLE L. Lumasiran, an RNAi therapeutic for primary hyperoxaluria type 1[J/OL]. **N Engl J Med**, 2021, 385(20): e69.
- [29] SOMERS M. Primary hyperoxaluria: a need for new perspectives in an era of new therapies[J]. **Am J Kidney Dis**, 2023, 81(2): 131-133.
- [30] KHAN I, PREETI K, FERNANDES V, et al. Role of microRNAs, aptamers in neuroinflammation and neurodegenerative disorders[J]. **Cell Mol Neurobiol**, 2022, 42(7): 2075-2095.
- [31] BATTAGLIA PARODI M, DI BARTOLO E, BRUE C, et al. Pegaptanib: choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration and previous arterial thromboembolic events[J]. **Eur J Ophthalmol**, 2018, 28(1): 58-62.
- [32] SAHIN U, KARIKÓ K, TÜRECI Ö. mRNA-based therapeutics—developing a new class of drugs[J]. **Nat Rev Drug Discov**, 2014, 13(10): 759-780.
- [33] DA SILVA SANCHEZ A, PAUNOVSKA K, CRISTIAN A, et al. Treating cystic fibrosis with mRNA and CRISPR [J]. **Hum Gene Ther**, 2020, 31(17-18): 940-955.
- [34] BERRAONDO P, MARTINI P, AVILA M A, et al. Messenger RNA therapy for rare genetic metabolic diseases[J]. **Gut**, 2019, 68(7): 1323-1330.
- [35] GRASSI G, MARINI J C. Ribozymes: structure, function, and potential therapy for dominant genetic disorders[J]. **Ann Med**, 1996, 28(6): 499-510.
- [36] KILPATRICK M W, PHYLACTOU L A, GODFREY M, et al. Delivery of a hammerhead ribozyme specifically down-regulates the production of fibrillin-1 by cultured dermal fibroblasts[J]. **Hum Mol Genet**, 1996, 5(12): 1939-1944.
- [37] GHANBARIAN H, AGHAMIRI S, EFTEKHARY M, et al. Small activating RNAs: towards the development of new therapeutic agents and clinical treatments[J]. **Cells**, 2021, 10(3): 591.
- [38] EYGERIS Y, GUPTA M, KIM J, et al. Chemistry of lipid nanoparticles for RNA delivery[J]. **Acc Chem Res**, 2022, 55(1): 2-12.
- [39] YAN Y, LIU X Y, LU A, et al. Non-viral vectors for RNA delivery[J]. **J Control Release**, 2022, 342: 241-279.
- [40] MORRISSEY D V, LOCKRIDGE J A, SHAW L, et al. Potent and persistent *in vivo* anti-HBV activity of chemically modified siRNAs[J]. **Nat Biotechnol**, 2005, 23(8): 1002-1007.
- [41] SOUTSCHEK J, AKINC A, BRAMLAGE B, et al. Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs[J]. **Nature**, 2004, 432(7014): 173-178.
- [42] PRATT A J, MACRAE I J. The RNA-induced silencing complex: a versatile gene-silencing machine[J]. **J Biol Chem**, 2009, 284(27): 17897-17901.
- [43] COX A, LIM S A, CHUNG E J. Strategies to deliver RNA by nanoparticles for therapeutic potential[J]. **Mol Aspects Med**, 2022, 83: 100991.
- [44] SPRINGER A D, DOWDY S F. GalNAc-siRNA conjugates: leading the way for delivery of RNAi therapeutics[J]. **Nucleic Acid Ther**, 2018, 28(3): 109-118.
- [45] YAMADA Y, SATO Y, NAKAMURA T, et al. Evolution of drug delivery system from viewpoint of controlled intracellular trafficking and selective tissue targeting toward future nanomedicine[J]. **J Control Release**, 2020, 327: 533-545.
- [46] PAUNOVSKA K, LOUGHREY D, DAHLMAN J E. Drug delivery systems for RNA therapeutics[J]. **Nat Rev Genet**, 2022, 23(5): 265-280.
- [47] GUTKIN A, ROSENBLUM D, PEER D. RNA delivery with a human virus-like particle[J]. **Nat Biotechnol**, 2021, 39(12): 1514-1515.
- [48] O'BRIEN K, BREYNE K, UGHETTO S, et al. RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications[J]. **Nat Rev Mol Cell Biol**, 2020, 21(10): 585-606.
- [49] ŽAK M M, ZANGI L. Lipid nanoparticles for organ-specific mRNA therapeutic delivery[J]. **Pharmaceutics**, 2021, 13(10): 1675.
- [50] MENDES B B, CONNIOT J, AVITAL A, et al. Nano-delivery of nucleic acids[J]. **Nat Rev Methods Primers**, 2022, 2: 24.
- [51] LING S, YANG S, HU X, et al. Lentiviral delivery of co-packaged Cas9 mRNA and a VEGFA-targeting guide

- RNA prevents wet age-related macular degeneration in mice[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(2): 144-156.
- [52] SEGEL M, LASH B, SONG J, et al. Mammalian retrovirus-like protein PEG10 packages its own mRNA and can be pseudotyped for mRNA delivery [J]. *Science*, 2021, 373(6557): 882-889.
- [53] CECCHIN R, TROYER Z, WITWER K, et al. Extracellular vesicles: the next generation in gene therapy delivery[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(5): 1225-1230.
- [54] ZHANG Y, DU L, BAI Y, et al. CircDYM ameliorates depressive-like behavior by targeting miR-9 to regulate microglial activation via HSP90 ubiquitination[J]. *Mol Psychiatry*, 2020, 25(6): 1175-1190.
- [55] YU X, BAI Y, HAN B, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of circDYM alleviates CUS-induced depressive-like behaviours[J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(1): e12185.

[本文编辑 沈 敏 余 方]

## · 学术动态 ·

### 张国捷教授团队合作成果构建人类二倍体完整基因组

2023年7月14日,浙江大学张国捷团队与深圳农业基因组研究所阮珏研究员团队和华大生命科学研究院合作在《细胞研究》(*Cell Research*)上发表了题为“The complete and fully-phased diploid genome of a male Han Chinese”(DOI: 10.1038/s41422-023-00849-5)的学术论文,攻关了二倍体完整基因组组装解决方案,完成了首个人类“端粒到端粒”二倍体完整参考基因组“CN1”,为我国精准医学研究及应用提供重要参考数据。

研究人员通过优化组装策略,以个体的父本和母本数据作为参考系,区分不同染色体上的数据,并将人46条染色体数据分别组装出来;通过对基因组复杂区域的69个缺口进行手工补洞,最终获得了健康个体完整的二倍体基因组,其中来自父本、母本的单倍型分别2.94、3.04 Gb。与CHM13的全基因组比较发现,CN1的母本、父本基因组中至少有11 281和11 012个结构变异(SV),分别约为24.60、26.14 Mb。利用CN1基因组可以发现分别有4.29 Mb(尼安德特人)和5.27 Mb(丹尼索瓦人)的区域是CN1特有的,这些很大比例位于两个参考基因组之前的结构变异区域。利用该完整基因组作为东亚人群遗传学研究的参考序列可以提高东亚人群的序列比对并降低错误率,对单碱基多态性的检测准确率也会更高。

浙江大学生命演化研究中心杨琛涛为论文第一作者,研究得到了浙江省鲲鹏计划和国家自然科学基金等支持。

### 袁瑛/丁克峰教授团队研究MSS/RAS突变型结直肠癌免疫治疗取得新突破

2023年7月28日,浙江大学医学院附属第二医院袁瑛教授、丁克峰教授团队在《临床医学电子刊》(*eClinicalMedicine*)报道了研究成果“Sintilimab plus bevacizumab, oxaliplatin and capecitabine as first-line therapy in RAS-mutant, microsatellite stable, unresectable metastatic colorectal cancer: an open-label, single-arm, phase II trial”(DOI: 10.1016/j.eclinm.2023.102123)。该研究发现信迪利单抗联合贝伐珠单抗及卡培他滨、奥沙利铂(CapeOx)在微卫星稳定(MSS)/RAS突变的不可切除的转移性结直肠癌患者中表现出较好的疗效。

在2021年4月至2021年12月期间共入组25例患者。经信迪利单抗联合贝伐珠单抗加CapeOx方案治疗,2例(8%)患者完全缓解,19例(76%)部分缓解,4例(16%)病情稳定;客观缓解率达到84%(95%CI, 63.9%~95.5%),疾病控制率为100%(95%CI, 86.3%~100%)。全分析集的中位无进展生存期为18.2个月,符合方案集的中位无进展生存期为9.9个月。3级以上治疗相关不良事件有中性粒细胞减少(3/25, 12%)和丙氨酸转氨酶升高(2/25, 8%)。研究人员正在开展一项III期、随机对照、开放标签、多中心临床试验(NCT05171660)以验证方案的有效性和安全性。

房雪峰、朱柠、钟晨菡为论文的第一作者。该研究得到浙江省重点研发计划、国家自然科学基金、中央高校基本科研专项资金、浙江省自然科学基金等资助。