



siRNA 纳米递送系统研究进展*

张琼丹** 陈朝霞** 李芾瑶** 张 宇***

(东南大学生物科学与医学工程学院, 生物电子学国家重点实验室, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210096)

摘要 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 是 RNA 干扰的引发物, 激发与之互补的目标 mRNA 沉默, 对基因调控及疾病治疗有重要意义。siRNA 作为药物需要克服血管屏障、实现细胞内吞及溶酶体逃逸, 同时还需要避免核酸酶作用下发生降解。因此, 设计合适的纳米载体以帮助 siRNA 成功递送进细胞并发挥作用是目前 siRNA 药物发展的重要目标。纳米载体的材料种类、尺寸、结构、表面修饰等精确设计是实现 siRNA 药物成功递送的重要因素。随着研究的深入和应用的发展, siRNA 药物纳米载体的精确控制制备、精准靶向递送及多功能化取得了较好的成果。本文围绕 siRNA 药物纳米载体, 对 siRNA 药物应用及其递送困难、siRNA 药物纳米载体主要设计策略、目前 siRNA 药物上市情况进行介绍, 同时对其未来发展方向进行展望。

关键词 RNA 干扰, siRNA 药物, 纳米载体, 纳米药物递送
中图分类号 R318

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0102

小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA), 也被称为沉默 RNA、短干扰 RNA 或非编码 RNA。siRNA 是生物针对外源侵入基因所表达的双链 RNA (double stranded RNA, dsRNA) 进行切割后生成的具有特定长度和序列的小片段 RNA, siRNA 的特定长度为 21~25 bp^[1]。这些 siRNA 可以通过 RNA 干扰作用特异性沉默耐药相关基因的表达来改善化疗药物的抗癌效果。RNA 干扰于 1998 年首次在哺乳动物细胞中被发现, Fire 等^[2] 向秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*) 中递送长片段的 dsRNA, 结果显示 dsRNA 能有效沉默目标基因表达。此后, 逐渐发现 RNA 干扰是由双链 RNA 诱导同源 mRNA 高效特异性降解的现象。这种诱导基因沉默的机制是通过阻碍特定基因的翻译从而抑制特定基因的表达, 是真核生物细胞的一种重要防御机制^[3]。2001 年, Elbashir 等^[4] 将干扰 RNA 应用于人类疾病的治疗, 用实验证明了合成的 siRNA 可以限制一个基因在哺乳动物的不同细胞系中特异性排列的方式。2004 年, 第一个以 siRNA 为基础的 RNA 药物 (治疗湿性年龄相关性黄斑变性) 进入 I 期临床试验^[5-6]。2010 年, 第一次应用于肿瘤患者的有针对性的纳米颗粒输送系统

进入 I 期临床试验, siRNA 开始系统性地应用于实体瘤^[7]。从此 siRNA 的研究进入全新的领域, 开始了快速发展的阶段。

1 RNA 干扰

1.1 RNA 干扰作用机制

RNA 干扰是一种 RNA 分子作用的过程, 它通过与目的基因序列的编码互补, 从而诱导降解相对应的信使核糖核酸 (messenger RNA, mRNA), 阻止 mRNA 翻译成蛋白质^[8-9]。RNA 干扰通过传递小 RNA 发挥作用, 包括 siRNA、微小 RNA (microRNA, miRNA)、短发卡 RNA (small hairpin RNA, shRNA) 和内切酶底物 RNA (dicer siRNA, dsRNA) 等形式^[10]。其中, shRNA 的作用途径在最上游, 其发挥效用需要细胞核加工; 其次是 dsRNA, 其发挥效用需要内切酶处理^[11]。而 siRNA 和 miRNA 是目前研究的核心, 其作用途径

* 国家重点研发计划 (2017YFA0205502) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 13851450615, E-mail: zhangyu@seu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-15, 接受日期: 2021-08-27

是直接输送到 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), 二者不同之处是: miRNA 并不需要完全与目标序列配对, 而 siRNA 则需要完全与目标序列配对, 这种差异导致 miRNA 和 siRNA 发挥不同的基因沉默效果; 同时 miRNA 抑制翻译, 而 siRNA 诱导 Argonaute-2 蛋白降解。哺乳动物细胞中 miRNA 与 siRNA 介导的 RNAi 机制如图 1 所示^[12]。哺乳动物初级 miRNA 转录本 (pri-miRNA) 在细胞核中转录 (①) 并被微处理器复合体 (Drosha-DGCR8) 切割以产生约 30 bp shRNAs (②), 称为 pre-miRNA。输出蛋白 5 (Exportin 5) 结合并运输 pre-miRNA 到细胞质 (③), 在细胞质中它与 Exportin 5 脱离 (④) 并与 Dicer 和 TAR RNA 结合蛋白 (TAR RNA-binding

protein, TRBP) 结合 (⑤) (也有非 Dicer 介导的途径)。Dicer 切割 pre-miRNA 的末端环 (⑥) 并诱导形成 RISC 装载复合物 (RISC-loading complex, RLC), 与 Argonaute (Ago1-Ago4) 蛋白结合 (⑦)。选择反义链并将其装载到 Ago1-Ago4 中, 并丢弃正义链 (⑧)。成熟的 RISC 可以通过抑制 mRNA 翻译、诱导 mRNA 在细胞质 P 体和/或 GW 体中的整合、促进 mRNA 降解和指导靶基因位点的转录基因沉默来调节基因表达 (⑨)。Argonaute、GW182 和反义链对于 RISC 的 mRNA 沉默活性至关重要。TRBP 和 Dicer 可以在反义链装载后与成熟的 RISC 分离。与反义链的种子区域 (从 5' 端开始的第 2~8 个碱基) 互补的 mRNA 即可受到 RNAi 的影响。合成的 siRNA 通过胞吞作用进

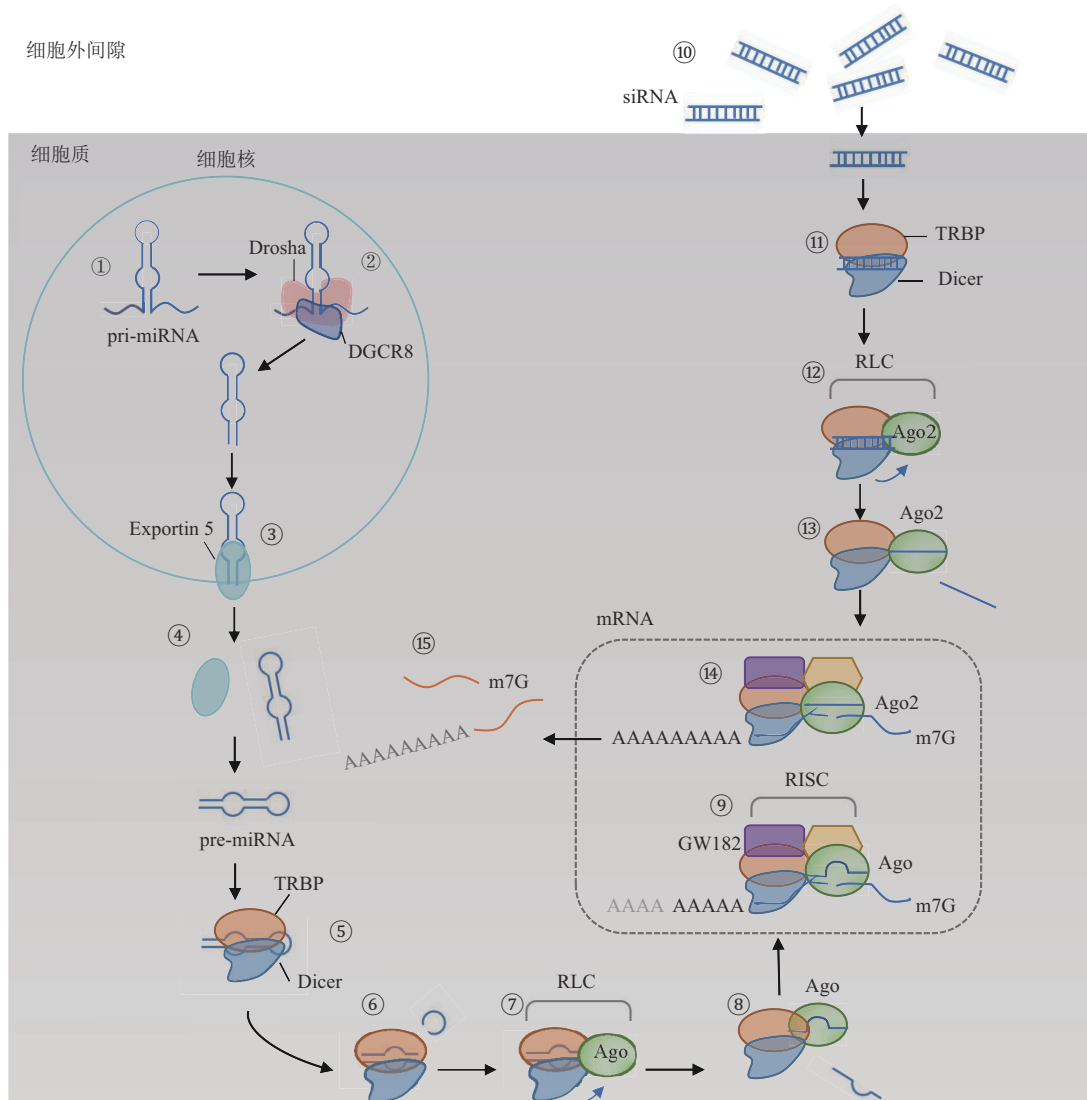


Fig. 1 A model for the mechanism of RNAi

图1 RNA干扰作用机制模式图

m7G: 7-甲基鸟苷。

入细胞质,随后发生内涵体逃逸(⑩)。siRNA随后直接与胞质RNAi酶(Dicer和TRBP)相互作用(⑪),通过Dicer介导或非Dicer介导的途径形成RLC(⑫)并进行链选择以产生成熟的RISC(⑬)。siRNA反义链通常与单个靶标mRNA具有完全互补性,以诱导有效且靶向范围窄的基因沉默(⑭)。Ago2对于RNAi疗法尤其重要,因为它具有内在的剪切活性,可以有效地切割mRNA靶标(⑮)。

1.2 RNA干扰的应用

由于RNA干扰的有效性和选择性,它已成为沉默哺乳动物细胞中特定基因表达的首选方法。通过RNA干扰特异性沉默治疗,在病毒感染、癌症、家族遗传病和自身免疫病等方面有着广泛的应用^[13]。由一个或几个基因的异常表达引起的各种人类疾病都适合使用基于RNA干扰干预的治疗策略,包括显性遗传疾病、病毒感染、癌症和自身免疫疾病等^[14]。首要的RNA干扰治疗应用是针对遗传疾病的治疗,如突变等位基因转录物中的单核苷酸多态性可用作RNA干扰的选择性靶标。Miller等^[15]在实验中使用siRNA作为RNA干扰研究核心,siRNA仅直接选择性地降解突变转录物,尽管突变型与野生型序列只有一个错配,但实验中野生型转录本仍可保持完整。RNA干扰也可用于抑制病毒感染。McCaffrey等^[16]首次利用体内RNA干扰治疗乙肝,实验中使用高压尾静脉注射共递送乙型肝炎复制子和编码抗乙肝病毒(HBV)的shRNA,利用其pol III表达体系来治疗乙肝,可以实现肝细胞中99%的HBV核心抗原的敲除。除了上述应用之外,将RNA干扰用于癌症治疗具有非常广阔的前景,可以彻底改变这种破坏性疾病的治疗方法。

在肿瘤的发生和后续发展过程中涉及到多种基因的非正常表达和功能异常化。而造成这些基因功能异常化有两个原因:一是由于正常基因的过度表达造成的;二是由于正常基因发生突变而产生的功能异常的等位基因,因此肿瘤在一定程度上也可被称为基因疾病。近年来随着对肿瘤致病机制的深入研究,以肿瘤细胞内信号转导通路的关键激酶为药物筛选靶点成为抗肿瘤药物研究的新途径,通过这种途径可以获得高效、低毒及高特异性的新型靶向药物。目前,正处于研究或临床应用的新型靶向药物一般都属于疾病基因或靶基因的抑制剂,其通过

在肿瘤细胞中沉默相关高表达的疾病基因或靶基因,从而有效地抑制肿瘤生长。而RNA干扰能够简单高效地沉默靶基因的表达,因此利用RNA干扰可以起到与靶向药物相同的作用。而且,靶向抑制剂主要直接作用于蛋白质,但是通过这种方式可能会干扰其他蛋白质的表达;而siRNA则主要作用于mRNA,其能够特异性抑制靶基因的表达,作用位点专一,通常不影响正常基因表达,因此siRNA作为靶向药物应用时,会具有更好的选择性及特异性。理论上,通过siRNA几乎能够抑制体内任何基因的表达,使得siRNA比现在广泛应用的小分子靶向药物更具有治疗和应用潜力^[17]。

1.3 siRNA药物的优势

siRNA药物由于其不同于其他药物的独特性质,相较于其他药物,在某些疾病治疗上展现出巨大优势(图2),主要表现在以下方面:

a. siRNA可以通过序列设计靶向不同的靶基因^[18],从而实现对不同疾病的治疗;同时这种设计是快速的,并且具有高效的沉默效果。除此之外,siRNA的合成不需要细胞表达系统,不用像蛋白质药物需要经过表达、纯化等繁琐的步骤。

b. siRNA的沉默效果是瞬时的,并不会敲除靶蛋白的表达基因^[19]。因此,如果作为研究对象的目的基因是生存所必需的,或是想研究随时间推移靶蛋白表达降低的影响,siRNA是非常合适的工具。

c. siRNA的靶点特异性强。对于同一个家族的激酶而言,小分子抑制剂常会出现脱靶效应而产生副作用,而使用siRNA作为药物可以通过序列的精确设计尽可能减少脱靶的产生。

d. siRNA的效果容易被检测。siRNA的作用机理简单,通过直接降解靶基因的mRNA,达到降低靶基因表达的效果。故检测降低效果时,可以通过定量反转录PCR(qRT-PCR)检测mRNA的含量;也可以通过免疫印迹(Western Blot)等方法直接检测蛋白质水平的表达量。而小分子抑制剂通常是通过结合蛋白质的特定位点,影响蛋白质的活性,但是靶基因本身的mRNA和蛋白量并没有发生变化,需要尝试其他方法才能检测小分子的效果。

正是由于siRNA药物表现出的一系列优势,近年来,siRNA药物越来越受到重视,与其有关的研究也越来越多。

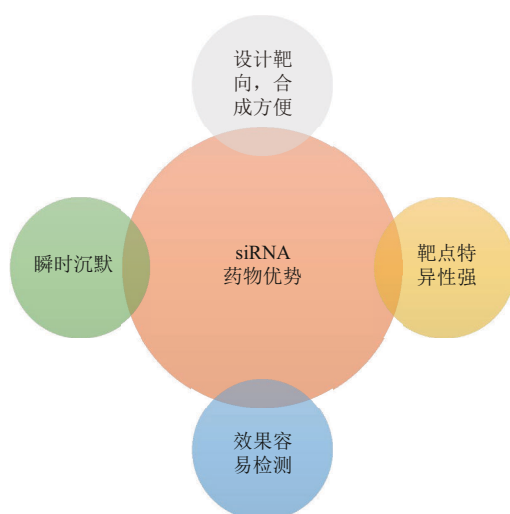


Fig. 2 The advantage of siRNA drugs

图2 siRNA药物的优势

2 siRNA纳米递送系统与上市药物

2.1 siRNA纳米递送系统

siRNA是一种很有前景的治疗解决方案,通过转录后基因调控解决基因过表达或突变引起的多种病理状况,如病毒感染、癌症、遗传疾病和自身免疫性疾病(如关节炎)^[20]。由于其特异性、适应性和广泛的靶向能力,它在多种疾病的个性化基因治疗中也很有效。然而,裸siRNA在血流中不稳定,除了具有免疫原性外,还不能有效地穿过细胞膜。因此,精确设计递送系统对于充分发挥这种疗法的潜力至关重要。

药物递送系统是用于靶向递送和/或控制释放治疗剂的工程技术。目前,将纳米载体递送技术与RNA干扰技术结合,已经成为一种新型基因药物递送系统,这种体系能够有效递送siRNA进入人体。纳米级尺寸的粒子可通过增强的渗透与滞留效应,从而聚集在肿瘤细胞周围。纳米粒子的尺寸、形状、表面性质、刚性都会影响药物对癌症治疗的效率。纳米载体通常以纳米粒、纳米胶束、纳米水凝胶和高聚物作为药物或基因的载体,同时可在表面键合靶向性分子,如抗体、核酸适体、靶向肽或叶酸等,通过与细胞表面相互作用进入靶细胞。目前纳米载体用来包载的基因主要包括:DNA、RNA(siRNA)、反义寡核苷酸药物(antisense oligodeoxynucleotides, AODNs)和microRNA等^[21-22]。

2.2 siRNA纳米药物

自从2006年RNA干扰的研究获得诺贝尔奖,大型制药公司已经投入了数十亿美元用于人类基因沉默治疗的开发。对于药物开发人员而言,siRNA疗法的潜力是不容忽视的。siRNA具有很强的药效,功能多样,能够对传统小分子药物“无成药性”的蛋白质编码基因进行抑制,并且具有制备“可编程”药物的潜力,可以在不改变体内药代动力学的情况下实现重新靶向^[12]。siRNA疗法的治疗潜力是深远的,许多基于siRNA的药物正在开发中,用于治疗从病毒感染、心血管疾病到遗传性疾病与癌症的各类病症^[23-25](附件表S1)。利用siRNA的这些独特特性,一些siRNA递送系统最近已进入临床试验阶段(表1),并作为一种非常有效和有前景的癌症治疗方法而被研究者广泛研究。药物开发过程极其艰巨,旨在克服复杂的生理障碍,有效、安全地将siRNA递送到所需的组织和细胞,以及增强siRNA的稳定性与特异性,降低其潜在脱靶效应^[26]。

2018年8月标志着RNA干扰治疗的新纪元,美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了首个基于RNA干扰的药物Onpattro(Patisiran,也称为ALN-TTR02)^[12],由美国Alnylam制药公司(Alnylam Pharmaceuticals)研发(表2)。Patisiran的批准为医疗需求未得到满足的遗传性运甲状腺素蛋白淀粉样变性(hereditary transthyretin-mediated amyloidosis, hATTR)患者带来了新希望,并预示了RNA干扰治疗领域的新时代。2019年11月20日,Alnylam公司的第二种RNA干扰药物Givlaari(Givosiran)获得FDA批准^[27-28]。一年后的11月23日,该公司的第三种药物Oxlumo(Lumasiran)获得批准^[29]。如今,针对肝脏、肾脏和眼部适应症的多种候选药物正在I、II和III期临床试验中,并且针对中枢神经系统(central nervous system, CNS)和其他非肝组织的研究性新药(investigational new drug, IND)应用有望在未来两年实现。在接下来的10年中,随着RNA干扰途径新功能的发现、具有增强的特异性和药效的先进RNA干扰负载策略的开发,以及全身和局部RNA干扰递送方法的持续创新,RNA干扰领域新的突破性疗法将会不断涌现。

Patisiran是这3种上市药物中较典型的siRNA纳米递送系统。2018年8月10日,FDA批准了作

Table 1 siRNA delivery systems in clinical trials

表1 临床试验中的siRNA纳米递送系统

药物名称	治疗疾病	递送系统	目前阶段	NCT号	赞助者
EphA2靶向的DOPC封装的siRNA	晚期或复发性实体肿瘤	脂质体	I期临床	NCT01591356	M.D.安德森癌症中心
具有KRAS G12D siRNA的间充质基 质细胞衍生的外泌体	KrasG12D突变的转移性 胰腺癌	间充质基质细胞衍 生的外泌体	I期临床	NCT03608631	M.D.安德森癌症中心
Atu027	晚期实体瘤	脂质体	I期临床	NCT00938574	沉默治疗有限公司
Atu027	晚期或转移性胰腺癌	脂质体	I期临床 II期临床	NCT01808638	沉默治疗有限公司
siG12D LODER	胰腺癌与局部晚期胰腺癌	LODER聚合物	I期临床 II期临床	NCT01188785 NCT01676259	Silenseed有限公司
DCR-MYC	实体瘤，多发性骨髓瘤， 淋巴瘤	脂质体	I期临床	NCT02110563	Dicerna制药公司
DCR-MYC	肝细胞癌	脂质体	I期临床 II期临床	NCT02314052	Dicerna制药公司
TKM-080301	一级或二级肝癌	脂质体	I期临床	NCT01437007	国家癌症研究所
CALAA-01	实体瘤与癌症	含环糊精的聚合物	I期临床	NCT00689065	Calando制药公司
ALN-VSP02	实体瘤	脂质体	I期临床	NCT01158079	Alnylam制药公司

Table 2 FDA approved siRNA drugs

表2 FDA批准上市的siRNA药物

公司名称	药物名称	商品名称	治疗疾病	获批年份
Alnylam制药公司	Patisiran	Onpattro	遗传性运甲状腺素蛋白淀粉样变性 (hereditary transthyretin-mediated amyloidosis, hATTR) 引起的多发性神经病	2018
Alnylam制药公司	Givosiran	Givlaari	急性肝卟啉症 (acute hepatic porphyria, AHP)	2019
Alnylam制药公司	Lumasiran	Oxlumo	1型原发性高草酸尿症	2020

用于肝脏的 siRNA 药物 Patisiran (Onpattro; Alnylam 制药)^[12]。Patisiran 是用于治疗运甲状腺素蛋白 (transthyretin, TTR) 淀粉样变性的 siRNA 脂质纳米颗粒 (lipid nanoparticle, LNP)。hATTR 是一种罕见的、遗传性的、威胁生命的神经退行性疾病，由 TTR 淀粉样蛋白沉积在周围神经系统、心脏、胃肠道和其他器官中导致。患者有进行性神经病、心肌病、行动障碍和其他各种衰弱的症状，诊断后中位生存期为 5~15 年。

大多数 TTR 蛋白在肝脏中产生。TTR 中有超过 120 个突变可引起 hATTR。在开发 Patisiran 之前，药物治疗的选择仅限于将 TTR 四聚体稳定在其天然构象的小分子药物。尽管这些方法可以减慢疾病的进展，但是仍然迫切需要更有效的治疗选择。

Patisiran siRNA (ALN-18328) 通过沉默肝细胞中的野生型和突变型 TTR mRNA 来降低 TTR 蛋

白的血清水平。为了对 TTR mRNA 变体实现广泛的沉默活性，反义链靶向 mRNA 的 3'非翻译区 (untranslated region, UTR)，这段序列据推测在患者人群中变异性较小。与临床开发中的大多数 siRNA 不同，ALN-18328 并非经过完全修饰、代谢稳定的 siRNA，并且没有靶向配体来增强肝细胞的摄取，而是通过将 ALN-18328 封装在用于肝细胞摄取的固体脂质纳米粒 (LNP) 中来实现递送 (图 3)。Patisiran 由与脂质赋形剂复合的 siRNA 组成。这些成分在酸性 pH 值下组装成 LNP，并每 3 周 (q3w) 静脉注射一次，剂量为 0.3 mg/kg，siRNA 靶向 TTR 基因的 3'非翻译区，该基因编码运甲状腺素蛋白，以沉默所有可能存在编码区突变的 mRNA。RNAi 沉默导致循环 TTR 蛋白含量持续减少至 30% 以下，有效阻止 TTR 淀粉样蛋白的沉积。

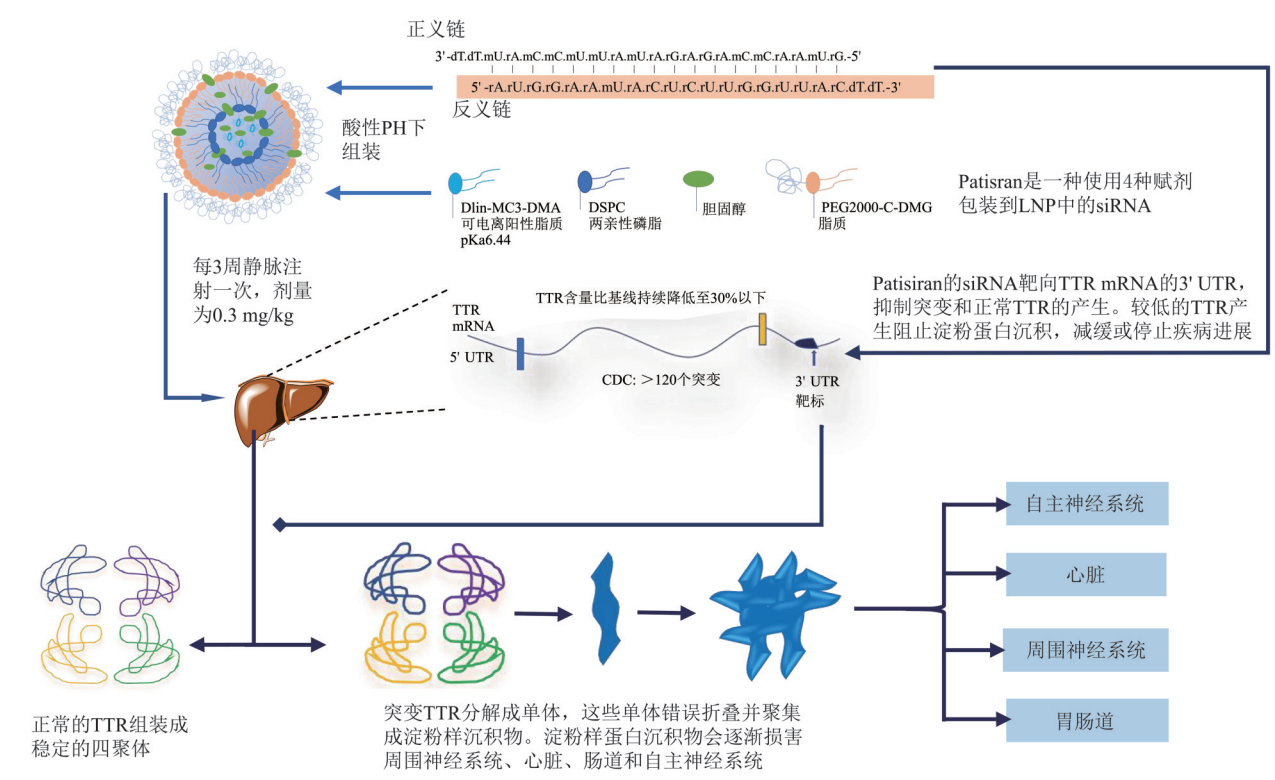


Fig. 3 The therapeutic mechanism of Patisiran
图3 Patisiran的治疗机制

对于图中的siRNA: m, 2'-O-甲基修饰碱基; r, RNA; d, DNA。

在临床上测试了两代LNP制剂：ALN-TTR01和ALN-TTR02。ALN-TTR02（现在称为Patisiran）是一种“第二代”聚乙二醇化LNP，包含胆固醇、极性脂质（distearoylphosphatidylcholine, DSPC）、聚乙二醇脂质（PEG2000-C-DMG）和可电离的氨基脂质（DLin-MC3-DMA），在pH值为7时呈中性，但在酸性pH值下（最佳 pK_a 为6.44）变为阳离子。siRNA-LNPs通过在酸性pH下（当DLin-MC3-DMA为阳离子时）siRNA和脂质赋形剂之间的静电相互作用组装。组装后，LNP表面上的PEG2000脂质在储存过程中保持颗粒稳定性。在全身循环中，PEG2000-C-DMG丢失并被血清蛋白，尤其是载脂蛋白E（apolipoprotein E, ApoE）取代，后者与掺入LNP脂质基质的胆固醇分子相互作用。在肝脏中，肝细胞吸收被ApoE覆盖的LNPs，然后将其发送至内涵体，在内涵体的酸性pH下引起氨基脂质成分的再离子化，从而导致颗粒分解。解体的脂质小球（借助DLin-MC3-DMA展开的脂质尾部构型帮助）与内涵体膜之间发生静电和疏水相互作用，从而帮助siRNA逃逸到细胞质中。与使用较早

的可离子化脂质（DLin-DMA）ALN-TTR01相比，Patisiran在体内的效力提高了10倍以上。

Patisiran的III期、双盲、安慰剂对照临床试验（APOLLO）于2013年12月开始招募，共招募了225例hATTR多发性神经病患者。在研究过程中，一些患者接受了Patisiran，并将其结果与接受安慰剂的患者进行了比较。18个月后，接受Patisiran治疗的患者TTR蛋白平均降低了84%。从研究开始到第18个月，与服用安慰剂的患者相比，接受Patisiran的患者神经功能和生活质量显著改善。在接受Patisiran治疗的患者中，56%从研究开始就表现出神经功能的改善，而接受安慰剂的患者中仅有4%；51%从研究开始就表明生活质量得到了改善，而接受安慰剂的患者中仅有10%；对于神经功能未改善的患者，与接受安慰剂的患者相比，神经病变的进展得到减缓。

2.3 siRNA药物临床开发中的困难

siRNA药物临床开发的进步，促进了siRNA药物开发过程的日益成熟。但其中遇到的许多挫折，也使药物开发过程更加复杂。从中吸取的主要经验

教训包括：使用正确的动物模型来预测药物安全性和药物活性；使赋形剂具有尽可能低的复杂性和毒性，以简化其制造、储存和临床测试过程；降低发生重大不良反应的风险^[12]。使用正确的体外和体内模型准确预测药物毒性和效力至关重要。不同的模式生物对寡核苷酸和赋形剂可能有不同的反应。RNAi药物的一个特殊问题是，它们的毒性和活性在很大程度上取决于动物模型转录组中存在或缺失的序列。在小鼠中不会引起脱靶效应的siRNA很可能在人类中具有无法忍受的脱靶RNAi活性。相反，在沉默小鼠基因方面效果良好的siRNA可能对人类基因几乎没有活性。

除此之外，需要考虑的重要因素是赋形剂（如纳米颗粒、聚合物、肽和蛋白质）的复杂性、均一性、稳定性、递送效率和毒性。脂质体和聚合物纳米颗粒已被广泛用于提高siRNA的稳定性并改善药代动力学特性，但它们仍然面临一些生理屏障而导致递送效率降低，同时其规模化制造具有很大挑战性，并且所得产品通常在颗粒组成、颗粒特性和载药量方面具有一定程度的异质性，从而更难以在临床开发过程中建立治疗窗口。此外，颗粒在储存或给药后会变得不稳定，并释放分解产物，从而导致难以追踪的毒性。同样，尽管内涵体溶解赋形剂，如蜂毒肽，可以显著改善RNAi试剂的内涵体逃逸，但它们也可能具有潜在的毒性。2016年，Arrowhead公司报告称，他们的EX1赋形剂是一种修饰以聚乙二醇的GalNAc（N-乙酰半乳糖胺）偶联的蜂毒肽样内涵体溶解肽，但是在安全性研究中，高剂量给药导致了几种非人类灵长类动物的死亡^[12]。虽然试验动物死亡的确切原因尚未披露，但使用EX1的3种药物（ARC-520、ARC-521和ARC-AAT）的临床开发已停止，尽管它们的初步临床试验结果颇具前景。

3 siRNA纳米药物递送的主要挑战

RNA干扰途径可以调控人类细胞中几乎所有mRNA的稳定性以及翻译过程。siRNA分子可以有效触发特定基因的RNA干扰沉默，但是其治疗用途却面临着安全性和有效性的众多挑战^[12]。高效与无毒的递送是siRNA药物发挥作用的关键，并且是siRNA技术与其治疗应用之间的最大障碍。

siRNA递送的难易程度部分取决于体内靶器官或组织的可到达性^[30]。局部siRNA递送，即直接将siRNA治疗应用于靶组织，具有许多好处，包

括在接近靶组织的情况下，药物具有更高的生物利用度，以及与全身性给药相关的不良反应会大大减少。相比之下，全身递送意味着静脉注射递送纳米药物颗粒，然后在整个体内传播至靶器官或组织，这要求颗粒具有避免被非靶组织吸收和清除的能力。用于全身给药的siRNA制剂在到达靶细胞的细胞质之前，在体内面临着一系列生理障碍。注射后，siRNA复合物必须在机体的循环系统中航行，同时避免肾脏过滤、吞噬细胞摄取、血清蛋白聚集以及内源核酸酶的酶促降解。所以必须对递送系统进行改造，以具备对血清核酸酶的稳定性、逃避免疫系统、避免与血清蛋白和非靶细胞的非特异性相互作用、预防肾脏清除、从血管中出来到达靶组织、进入细胞和整合入RNA干扰机制的能力（图4）^[23, 31-32]。

siRNA递送首先要面临的挑战是血液循环中的降解及清除。在血管中，存在血清核酸酶降解、调理素介导的吞噬作用；此外，肾小球滤过以及siRNA与血清组分的非特异性结合都会导致siRNA在血液循环中不稳定，从而使其半衰期缩短（<10 min），最终阻碍siRNA在所需组织中的积累。裸露的siRNA进入血液后，会被RNAase A型血清核酸酶降解并刺激先天免疫系统^[33-36]。未经修饰的siRNA太大（~13 ku）且带有过多负电而无法穿过细胞膜^[30, 37-38]。纳米颗粒载体具有克服血管内降解的潜力，并且可以安全有效地递送siRNA，通过被动或主动靶向增强药物在肿瘤部位的积累^[39-42]。与血清成分的相互作用可以多种方式影响siRNA的递送。进入血液后，纳米粒子会遇到充满血浆蛋白和免疫细胞的复杂环境。循环中的免疫细胞（例如单核细胞、白细胞、血小板和树突状细胞）对纳米颗粒的摄取会通过各种途径发生，并且调理素在颗粒表面的吸附会促进纳米颗粒被摄取^[43]。具有高表面正电荷的递送粒子可能会与红细胞发生不利的聚集^[44]。血清调理素蛋白可能会吸附在递送载体颗粒的表面上，标记它们以供单核吞噬细胞系统（mononuclear phagocytic system, MPS）摄取^[45]。MPS的调理作用和随后的摄取是一种常见的途径，通过该途径可以清除血液中的递送系统并阻止其达到靶标^[37]。另外，纳米颗粒表面的物理和化学性质，例如大小与表面电荷，可导致溶血、血栓形成和补体激活，从而导致生物分布改变以及潜在的毒性^[43]。

siRNA离开血液的一种主要途径是通过肾脏清

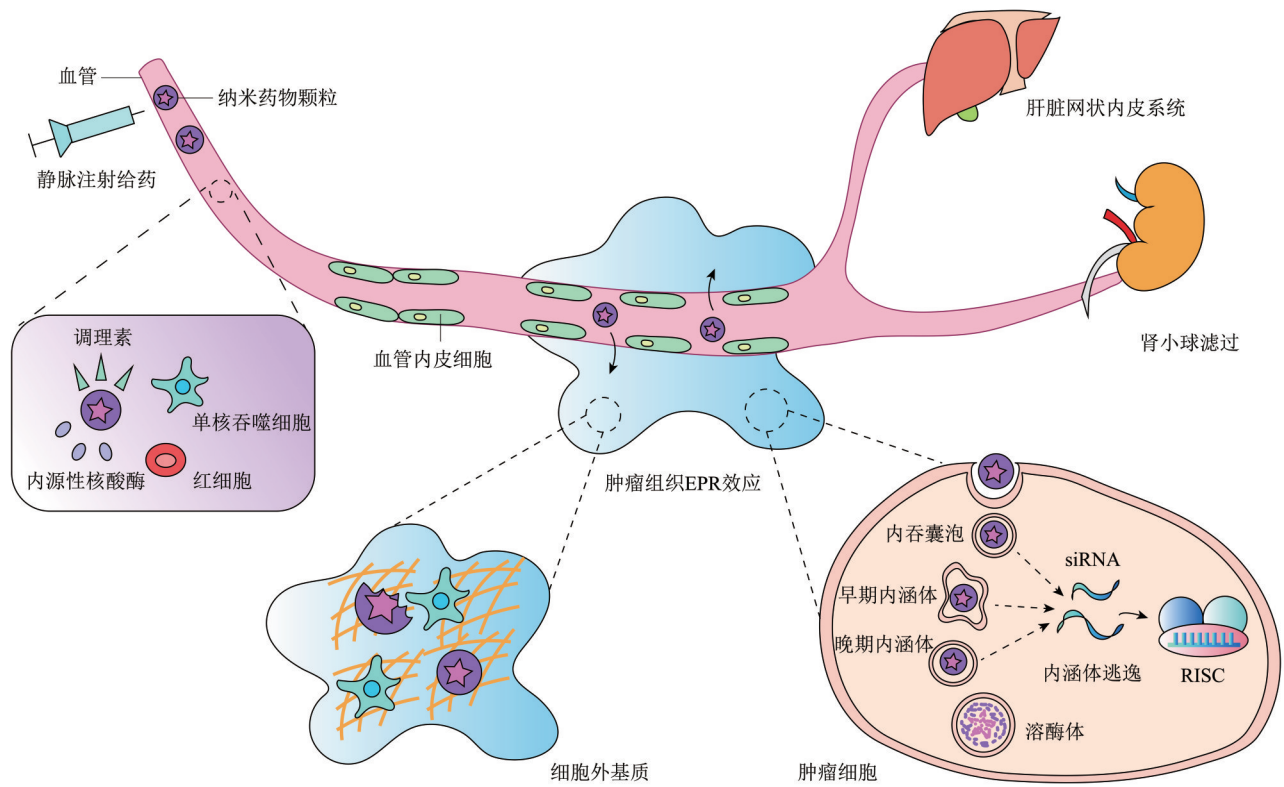


Fig. 4 Overcoming the biological barriers of RNAi delivery
图4 克服siRNA递送过程中的生理屏障

除。肾小球提供了物理过滤屏障,可以使水和小分子进入新生尿液中,而大分子则保留在循环中^[46]。肾小球滤过屏障的孔径约为8 nm^[47-48]。裸露的siRNA长度约为7~8 nm,直径约为2~3 nm。该分子太大,无法穿过细胞膜,但又小到足以被肾小球清除^[49]。因此,一旦siRNA离开血液,它们将在膀胱中积聚,并在几分钟至半小时内迅速从体内排出,从而阻止了它们在靶组织或细胞中的积累^[26, 50]。同时,一些纳米颗粒递送系统易在肾小球中发生分解。例如,当与肾小球基底膜的带负电荷的蛋白聚糖接触时,由静电相互作用形成的颗粒可能会破裂,从而使siRNA“货物”被过滤到尿液中^[51-52]。

从血液中流出并穿过血管内皮屏障对将siRNA递送至体内许多组织提出了重大挑战。没有被肾脏降解、吞噬或清除的siRNA递送系统必须通过穿越血管内皮到达其他组织而离开血流。毛细血管孔尺寸限制了外渗颗粒的尺寸上限。通常,直径大于5 nm的分子不易穿过毛细血管内皮,因此将保留在循环系统中,直到从身体清除为止^[30]。但是,

某些内皮不连续的组织允许较大的分子进入,包括肝脏、脾脏和一些肿瘤^[23]。这些器官允许直径高达200 nm的分子通过,可以容纳典型的药物递送纳米载体。肝内皮的窗孔使直径为100~200 nm的分子从血流中扩散出来,并进入肝细胞^[53-54]。

组织渗透也是siRNA给药的困难所在。纳米药物在肿瘤部位的穿透性差主要是由于肿瘤微环境,同时也与纳米颗粒的性质有关。为了将siRNA安全有效地递送至目标mRNA,必须协调许多变量。尽管纳米颗粒的大小在1~1 000 nm范围变化,但已经清楚的是,直径大于100 nm的静脉内注射颗粒很可能会被网状内皮系统(reticuloendothelial system, RES)截留在肝、脾、肺和骨髓中,导致被活化的单核细胞和巨噬细胞降解。与正常毛细血管相比,肿瘤血管的形状不规则,存在缺陷,渗漏且宽度不等^[55]。肿瘤周围有足够的异源血供,但肿瘤中心的异源血供减少,这就要求纳米颗粒向肿瘤中心移动的距离增加^[56]。实体瘤中较高的组织液压力也会对纳米颗粒的扩散提出挑战。组织液压力(interstitial fluid pressure, IFP)从肿瘤外周向

肿瘤中心升高,阻碍了纳米颗粒从外周血管渗出后向肿瘤深部扩散^[57]。

肿瘤微环境中的细胞外影响因素也对 siRNA 递送提出挑战。siRNA 复合物离开血流后,必须穿过复杂的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 才能到达癌细胞。细胞外基质是由多糖和纤维蛋白组成的致密网络,可对大分子和纳米颗粒的运输产生抵抗力^[58-61]。这会减缓甚至停止药物递送过程,并为纳米颗粒被驻留巨噬细胞摄取提供了额外的机会。吞噬作用在血流中与组织的细胞外基质中都是重要的免疫屏障。吞噬细胞 (例如巨噬细胞和单核细胞) 从体内清除异物,以防止病毒、细菌和真菌感染。但与此同时,吞噬细胞也会从体内有效地去除某些治疗性纳米复合物和大分子,所以在设计药物输送载体时必须采取措施以避免调理作用^[31]。与胰腺癌有关的结缔组织增生是复杂的肿瘤微环境在达到药物治疗浓度方面提出挑战的一个很好的例子^[62]。ECM 的生物学、化学和物理特性可能导致纳米颗粒提前解体并释放其内含物。与中性纳米颗粒相比,带有正电荷或负电荷的粒子更常发生巨噬细胞的吞噬作用,例如被肝脏中的库普弗细胞或淋巴结中的树突状细胞摄取^[43]。除了巨噬细胞的吞噬作用之外,嗜中性粒细胞也会捕获纳米颗粒^[63]。

细胞内运输是 siRNA 递送的最后一道关卡。大多数 siRNA 递送系统通过内吞作用进行细胞内化。颗粒被靶细胞摄取后,必须逃逸内涵体以到达细胞质^[64]。如果 siRNA 纳米复合物无法逃逸出内涵体,它将通过 pH 不断降低的内膜隔室进行运输,并在溶酶体中发生降解^[65]。一旦被内吞,胞内运输即开始于早期的内吞囊泡。这些囊泡随后与早期内涵体融合,并进一步成熟为晚期内涵体^[66]。这些晚期内涵体会被膜结合的质子泵 ATPase 酸化 (pH5~6)。晚期内涵体的内容物被重新分配到溶酶体中,然后被进一步酸化 (pH4.5)。并且溶酶体中含有可降解 siRNA 的核酸酶。因此,如果在这些后期事件之前未发生内涵体逃逸,则不会发生 RNA 干扰^[67]。siRNA 必须有效地从内涵体和溶酶体逃逸到细胞质,随后将 siRNA 的反义链装载到 RISC 中。

最后,到达细胞质后,必须将 siRNA 从载体释放,并整合入 RISC 中以触发 RNA 干扰。优先将 5'端杂交最不稳定的 siRNA 链装入 RISC,另一条链被降解。在 siRNA 递送系统中,通常避免将递送材料附着到反义链的 5'端,因为该端对于 RISC

装载至关重要。必须谨慎选择 siRNA 骨架修饰和 siRNA 序列,以确保 RISC 能够正确选择链,并避免与非靶标 mRNA 部分杂交,这可能会导致基因沉默脱靶^[37]。

因此,如何克服 siRNA 药物在体内的运输困难并成功发挥作用也成为 siRNA 药物开发中的一个重要课题。其中,开发有效的 siRNA 药物纳米载体进行辅助是一个可行的解决方案,在此方面已有不少 siRNA 纳米药物载体被成功研制^[68]。

4 设计 siRNA 药物纳米载体的主要策略

siRNA 作为药物存在半衰期短、血浆稳定性差、易被核酸酶降解,且 siRNA 带负电荷不易透过带负电荷的细胞膜进入肿瘤细胞,容易被细胞内的溶酶体降解^[69]。因此,siRNA 作为药物很难直接用于疾病治疗,需要采取一定的手段实现其在生物体内的有效递送并达到治疗疾病的目的。其中,利用纳米载体构建 siRNA 药物纳米递送系统进行 siRNA 药物的递送是实现 siRNA 药物进行治疗时的常用手段。

siRNA 药物纳米递送系统成功发挥作用的关键在于其能通克服递送过程中的生理屏障以及内源性核酸酶降解,使 siRNA 药物成功递送进靶细胞并有效发挥治疗效果。基于上述作用机制,siRNA 药物纳米递送系统的设计主要分为两部分:一是采取不同的方式构建不同材料、尺寸与结构的 siRNA 药物纳米递送系统,实现 siRNA 药物递送系统对 siRNA 药物的装载;二是对纳米递送系统进行表面修饰、分散与保存,对 siRNA 药物纳米递送系统进行优化,使其能实现更好地 siRNA 药物递送。目前,表面修饰是对包括 siRNA 药物纳米递送系统在内的纳米递送系统进行优化的常用手段,例如,利用 PEG^[70] 进行亲水修饰以延长 siRNA 药物输递体系的血液循环时间;利用富含精氨酸 (arginine, Arg) 的细胞穿透肽进行修饰用以增强细胞对 siRNA 药物的内吞,因为在生理条件下,每个精氨酸残基都含有一个带正电荷的胍基,胍基可以通过其平面结构与细胞膜相互作用,从而促进膜的渗透;利用含有咪唑环的组氨酸进行修饰,并利用其在微酸环境中产生的“质子海绵效应”促进 siRNA 药物溶酶体逃逸^[71]等。为增强这种逃逸作用,许多递送系统采用 pH 敏感单元来响应内涵体和溶酶体中的 pH 变化,递送材料会吸收 H⁺,在表面上呈现正电荷。随后,内涵体或溶酶体中的渗透

压将增加, 导致Cl⁻和H₂O的内流。最后, 这些变化会导致膜渗透性增加, 使siRNA释放到细胞质中, 这种设计可以很好地帮助siRNA药物实现内涵体或溶酶体逃逸。同时根据不同组织的不同特性, 可以采取相应的措施增强siRNA药物的有效递送。例如, 在肿瘤中, 高渗透性内皮细胞伴随着不良的淋巴引流, 导致恶性组织中循环纳米颗粒的积累更多, 这被称为增强的渗透和滞留 (enhanced permeability and retention, EPR) 效应, 可以利用和增强该特性来改善纳米颗粒的递送^[72-73]。直径小于100 nm的纳米颗粒被认为是肿瘤内递送和避免RES清除的最佳选择^[74]。与此类似, 针对不同组织的不同生理特征可以设计不同的优化策略。

纳米递送系统的优化手段根据不同的生理组织特异性和递送要求具有不同的方法。目前, siRNA药物纳米载体的构建主要有4种不同的策略, 本节将对这4种siRNA药物纳米载体的构建思路及方式进行介绍。

4.1 纳米载体表面装载siRNA药物

先设计合成纳米载体, 之后将siRNA药物装载到载体表面构建siRNA药物纳米递送系统是帮助siRNA药物突破生理限制, 成功发挥作用的常用方法之一。此种方法主要通过静电作用实现纳米载体对siRNA药物的装载, 由于siRNA带有负电荷, 因此一般要求纳米载体表面带正电。目前可用于表面装载siRNA的纳米载体主要有自身带有正电荷的纳米载体和利用精氨酸、乙二胺 (ethylenediamine, EDA) 或N,N'-二甲基乙二胺 (N,N'-Dimethylethylenediamine, DMA) 等进行修饰形成的表面带有正电荷的纳米载体。

自身带有正电荷的纳米载体包括带正电荷的聚合物、树状分子^[75]、阳离子胶束^[76]和一些自身带有正电荷的蛋白质^[77]等。如, Liu等^[78]利用聚酰胺-胺类树状分子 (PAMAM) 递送siRNA: 阳离子PAMAM树形分子表面大量的胺基基团可以通过静电相互作用结合siRNA并形成稳定纳米粒, 从而有效保护siRNA, 避免其被核酶降解; 然后, siRNA/树状分子复合物纳米粒经内吞途径被细胞摄取, 被内化的纳米粒主要聚集在酸性细胞器中, 如内涵体和溶酶体; 树状分子结构中存在大量叔胺基团, 使其具备很强的pH缓冲能力, 可通过“质子海绵”效应实现内涵体或溶酶体逃逸, 从而促进siRNA的释放, 达到基因沉默效果。

自身不带电荷或带负电荷的纳米载体, 可以用

精氨酸、乙二胺等物质进行修饰使其表面带正电荷, 进而进行siRNA药物的递送, 发挥其治疗效果。如, Kara等^[79]利用精氨酸修饰磷酸钙 (CaP) 纳米颗粒, 使纳米颗粒表面带正电荷, 提高纳米颗粒对带负电荷siRNA的负载 (图5)。他们合成了两种不同化学和形态特征的精氨酸修饰的CaP纳米颗粒, 作为针对*survivin* (凋亡抑制基因) 和*cyclin B1* (周期素B1基因) 沉默的两种特定siRNA载体。*survivin*和*cyclin B1*在癌症发生发展中起促进作用, Kara等^[79]利用A549非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 细胞进行实验, 发现CaP-Arg-siRNA介导抑制这些基因导致细胞生长明显减少, 诱导细胞凋亡。CaP作为载体, 具有生物相容性好、制备简单、对RNA的亲合力高等优点。此外, 在细胞早期溶酶体内, CaP经内吞后在低pH下降解为离子, 导致渗透压升高。这种压力的增加也支持siRNA进入细胞质的逃逸。所有这些原因使CaP纳米颗粒成为合适且安全的siRNA药物载体^[80]。

4.2 siRNA药物与纳米载体共组装

为了进一步提高siRNA负载量、稳定性以及调控其内涵体或溶酶体内释放, 可以将siRNA与载体共组装成纳米递送系统。共组装的主要原理是基于siRNA与载体的各种相互作用, 其中静电相互作用是一种利用较多的组装方式。因为siRNA带有较高的负电荷, 所以此种方法使用的载体材料多为聚阳离子载体, 例如阳离子化金纳米簇、阳离子脂质载体等。

利用聚阳离子脂质可以静电结合siRNA的能力形成纳米大小的复合物, 从而增强细胞的吸收。Akin等^[81]开发了以一种新型类脂材料98N12-5(1)为载体, 用于在体内向肝细胞递送siRNA的siRNA递送系统。首先利用脂质体的自组装能力以及与siRNA的静电相互作用进行共组装, 将siRNA包载在纳米复合物中。随后在外部修饰PEG, 这样有助于防止聚集, 促进纳米载体的稳定性, 并增加血液循环时间。得到的球状纳米复合物通过内吞作用进入细胞, 然后会破坏内涵体膜或通过内涵体“质子海绵”^[82]机制引起内涵体破裂, 使siRNA成功在细胞内释放, 并且通过调控复合物中各组分的比例, 可以使得最多的siRNA被负载与递送。

利用阳离子载体与siRNA带有负电的特性, 胡献丽等^[83]设计了荧光阳离子化金纳米簇 (cationic gold nanocluster, CGN) 与siRNA通过静电作用共

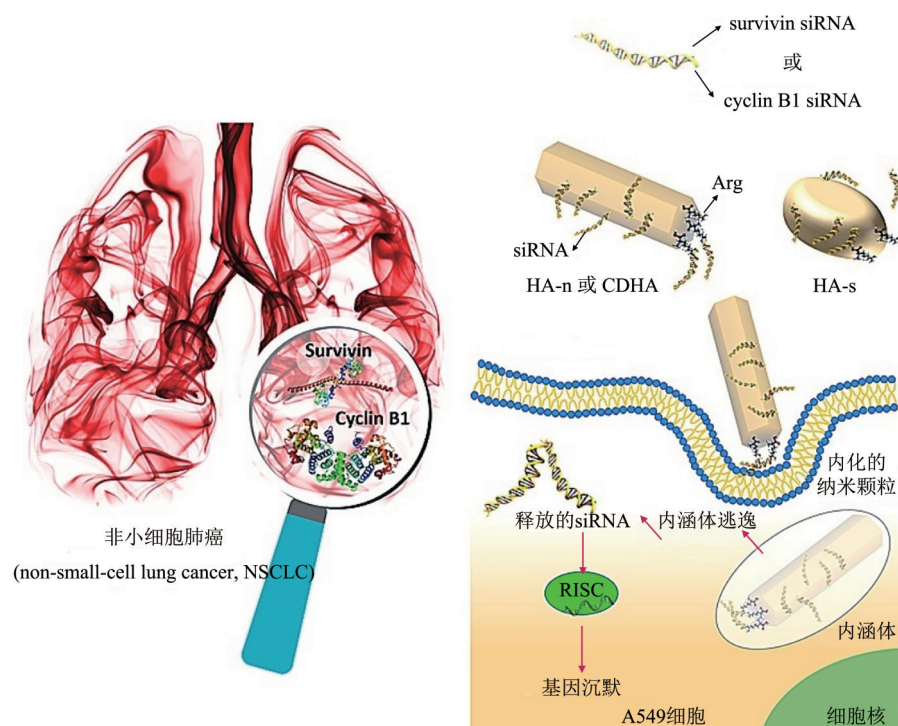


Fig. 5 Schematic diagram of the process of three different CaP-Arg nanoparticles delivering siRNA for the treatment of NSCLC [80]

图5 三种不同CaP-Arg纳米粒子递送siRNA治疗NSCLC的过程示意图 [80]

组装形成纳米递送系统。其设计原理为以牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 为模板, 通过还原四氯金酸 (HAuCl₄), 合成可发射近红外荧光的GN。随后在1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺 (EDC) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 的活化作用下, 乙二醇或二甲基乙酰胺 (dimethylacetamide, DMA) 能与GN表面BSA上的谷氨酸等残基反应, 使BSA-GN阳离子化, 并与siRNA通过静电相互作用进行共组装。形成的纳米复合物经细胞摄取后进入酸性内涵体, 内涵体的酸性pH环境使EDA或DMA上的胺基质子化, 利用“质子海绵”效应^[83]使内涵体破裂并释放siRNA, 实现siRNA的有效递送, 并高效沉默目标基因。这种纳米复合物的尺寸远大于单独的siRNA尺寸, 避免被肾脏在短时间内清除, 并且利用质子海绵效应可以成功在细胞内释放。

为进一步提高siRNA纳米药物在病变组织内的累积, 设计构具有靶向性的siRNA纳米药物载体具有重要的价值。Yang等^[84]研究设计了球形纳米复合物HA-PEG/MDR1 siRNA。该复合物使用能够靶向CD44 (cluster of differentiation 44) 的透明

质酸 (hyaluronic acid, HA) 作为载体。CD44是一个多功能跨膜糖蛋白家族, 是HA的主要细胞表面受体, 在乳腺癌等恶性肿瘤细胞膜上高表达。对HA修饰PEG和PEI (聚乙烯亚胺), PEG能够延长siRNA的体内循环时间和防止聚集, PEI带有高密度正电荷和siRNA之间形成静电相互作用, 包裹抗MDR1-siRNA基因用于乳腺癌疾病的靶向递药。多药耐药基因1 (multidrug resistance gene 1, MDR1) 以及P糖蛋白 (P-glycoprotein, Pgp) 的过表达是多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 发展重要原因, 将这种药物成功转入癌细胞中, 可以抑制MDR1和Pgp的表达, 使得治疗乳腺癌的药物如紫杉醇等能够长时间对病人产生效果, 抑制MDR现象。并且这种纳米复合物包裹siRNA防止其在人体内被降解、被清除, 提高siRNA的整体递送效率。

4.3 纳米载体包裹siRNA药物

为了更好地保护siRNA、增加体内循环时间及在肿瘤组织内的累积, 将siRNA直接包裹在纳米胶囊、高分子胶束等纳米载体内部, 也是一个值得开发的纳米递送系统^[85]。下文将详细介绍如何利

用这种方法构建 siRNA 纳米递送系统, 提高基因沉默的效率。

利用阳离子脂质体与 siRNA 的经典相互作用力, Zhao 等^[86] 使用表面修饰聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (polyethylene glycol-block-poly (D, L-lactide-co-glycolide) -block, PEG-b-PLGA) 阳离子脂辅助纳米颗粒 (cationic lipid-assisted nanoparticle, CLAN) 封装靶向布鲁顿酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase, BTK) 的 siRNA (siBTK) 用于治疗类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)。BTK 已经被证实是有效治疗 RA 的一个靶点, 然而有效抑制 BTK 需要高剂量的 BTK 抑制剂, 所以这就要求递送 BTK 抑制剂的体系需要尽量减少人体内免疫系统的清除作用以及肾小球的滤过作用等对药物递送效率的影响。而使用 CLAN 封装靶向 BTK 的 siRNA (CLAN-encapsulated siRNA that targets BTK, CLANSiBTK) 递送体系可以实现 BTK 抑制剂的有效递送。利用静电相互作用力, 阳离子脂质体将带有负电荷的 siRNA 包裹在内部, 而表面具有亲水修饰的 PEG, 这样可以延长 siRNA 药物输递体系的血液循环时间, 成功抑制 BTK 活性, 为 RA 治疗提供了一个很好的替代方案。

类似地, 利用脂质体的亲水内核与疏水脂质双层特性, Yadav 等^[87] 制备构造了纳米球状结构脂质载体, 包被抗 IL17A-siRNA 与丙酸氯倍他索 (clobetasol propionate, CP) 药物用于治疗银屑病。IL-17A 基因与银屑病的发病密切相关, 其会促进和加速表皮角质形成细胞的增殖, 导致表皮增生、

表皮内嗜中性微脓肿等病变。利用磷脂双层自组装形成的球形内核具有亲水性将抗 IL17A-siRNA 包裹在内部, 脂质双层分子之间具有的亲脂性将脂溶性 CP 药物成功搭载在纳米脂质体上。这种纳米脂质复合物有效克服了裸露 siRNA 递送中皮肤产生的阻碍、不良的物理化学特征以及内源性酶降解倾向, 并且具有双重输送核酸和抗炎皮质类固醇的能力, 可实现多靶点治疗并通过多种机制发挥作用, 最终达到治疗效果的增强。

利用前面提到的共组装策略将 siRNA 与两亲性阳离子分子或药物复合形成疏水纳米复合物, 从而可利用两亲性聚合物胶束将其包裹在内部而形成纳米递送系统。Saw 等^[85] 首先设计合成基于 MTO (具有阳离子特性的抗肿瘤药物米托蒽醒, mitoxantrone) 的两亲性阳离子前药 SA-MTO, 随后通过静电作用与 siRNA 形成疏水纳米复合物 (图 6)。这些 siRNA/SA-MTO 复合物可被包裹在由肿瘤组织弱酸微环境响应的两亲性高分子材料 Meo-PEG-*b*-PPMEMA (甲氧基-聚(乙二醇)-*b*-聚(2-(五亚甲基亚胺)甲基丙烯酸乙酯)形成的纳米胶束的疏水性内核中。该纳米载体用于 siRNA 的体内递送时具有“多级逐步递送” (multistaged delivery) 的特性。首先纳米载体通过血液循环并利用肿瘤增强渗透滞留效应, 富集在荷瘤小鼠的肿瘤部位。随后肿瘤组织弱酸微环境会引起 PPMEMA 链的质子化, 导致纳米载体结构的解散和 siRNA/SA-MTO 复合物的快速释放。然后 siRNA/SA-MTO 复合物利用其尺寸较小的特性, 深度穿透肿瘤组织并进入肿瘤细胞, 减小致密的细胞外基质对于药物递送的影响。

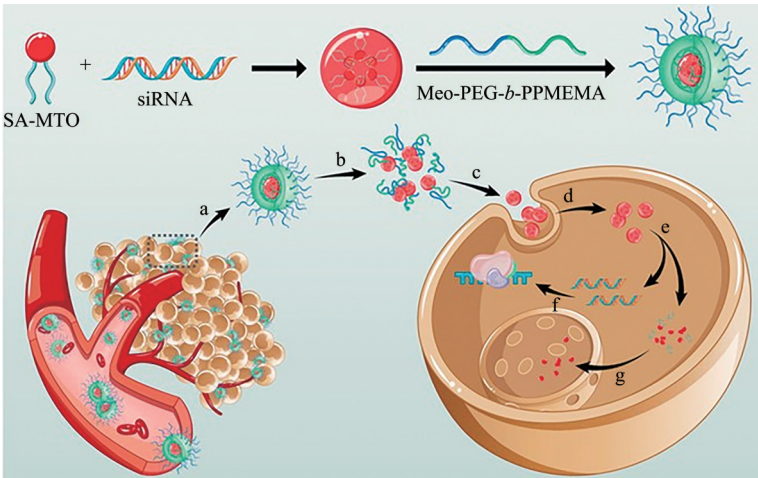


Fig. 6 Schematic illustration of the TME pH-responsive polymer-prodrug hybrid nanoplateform for multistage siRNA delivery and combination cancer therapy^[85]

图6 构建的纳米载体用于siRNA体内递送时利用其肿瘤组织弱酸微环境响应性促进基因沉默和联合抑制肿瘤生长示意图^[85]

响。最后肿瘤细胞中高表达的脂酶会降解SA-MTO,使得siRNA和MTO在胞浆内快速释放,siRNA可以用于沉默癌基因,MTO可以抑制DNA链复制,实现siRNA与化疗药物在细胞内的成功共递送。

为了提高纳米递送系统的靶向能力和肿瘤微环境响应释放能力,通过响应性载体设计策略,并在纳米载体表面修饰特定肽段,得到更加高效的siRNA纳米递送药物。例如,Li等^[88]设计制备了一种响应肿瘤微环境活性氧(reactive oxygen species, ROS)的纳米载体用于血管内皮生长因子siRNA(vascular endothelial growth factor siRNA, siVEGF)的体内递送和结肠癌治疗(图7)。首先制备由苯硼酸修饰的聚N,N-二乙基丙烯酸氨基乙酯(PDP)与siRNA共同组装的纳米复合物,在利用二油酰基卵磷脂(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DOPC)、二油酰基磷脂酸(1,2-

dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate, DOPA)和二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanol-amine N-[methoxy (polyethylene glycol)-2000], DSPE-PEG)形成脂质包裹。其中聚阳离子高分子材料PDP可通过静电作用将siRNA包载在纳米载体中,而DSPE-PEG上的PEG链段能够延长siRNA的体内循环时间。最后,为了增强上述纳米载体的肿瘤细胞靶向能力和内涵体逃逸性能,将具有肿瘤细胞靶向和膜穿透功能的1型人免疫缺陷病毒转录激活因子(human immunodeficiency virus-1 transcription activator, HIV-1 TAT)修饰到纳米载体表面。在肿瘤组织中,纳米载体会利用其表面修饰的TAT肽靶向肿瘤细胞并携带siRNA进入胞浆。在肿瘤细胞内高浓度ROS会导致聚阳离子材料PDP的分解,从而释放siRNA,从而能够显著提高siVEGF在胞浆内的释放和沉默靶基因的效率。

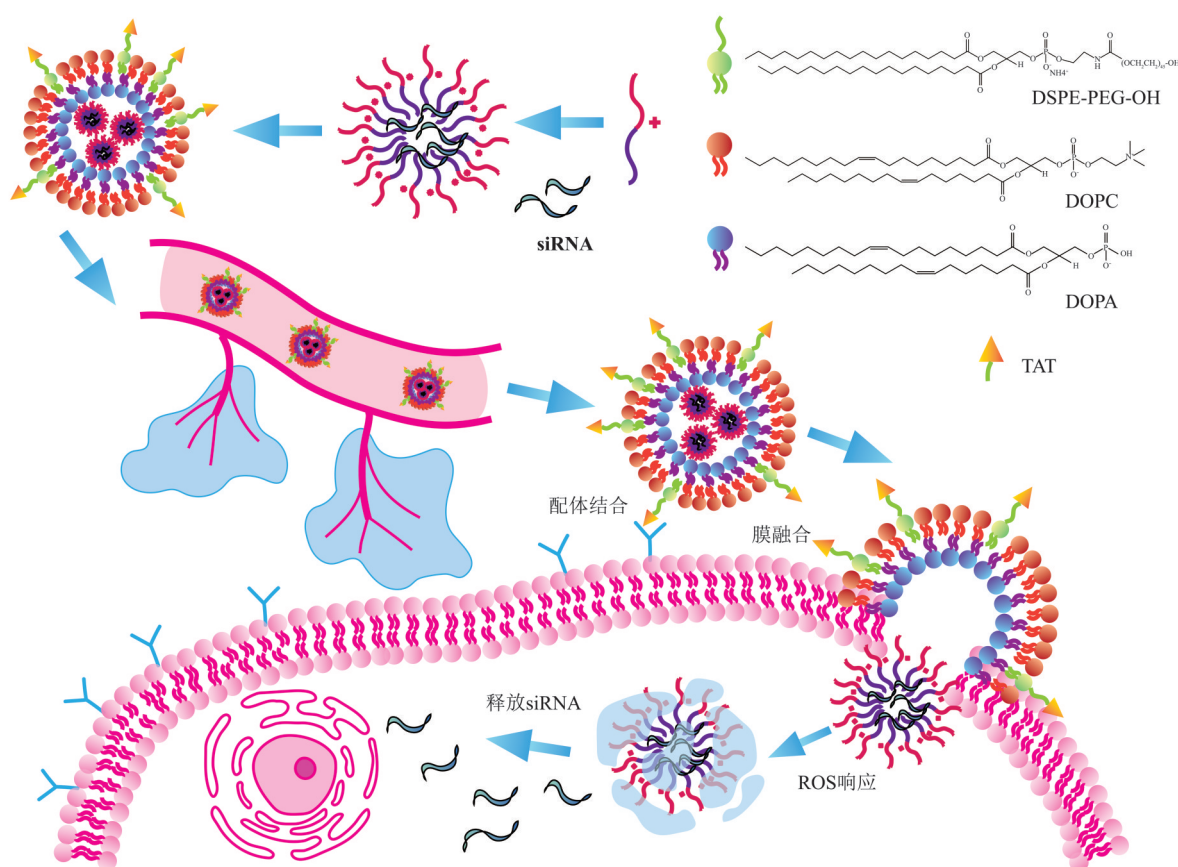


Fig. 7 Schematic illustration of a lipid-coated ROS-responsive assembly for siRNA delivery

图7 用于siRNA递送的脂包覆ROS响应组装体示意图

4.4 siRNA自组装实现siRNA药物的高效递送

近年来,一种新的siRNA药物递送策略逐渐受到关注——核酸自组装体用于siRNA药物递送,主要有3种方法。一是通过siRNA之间偶联自组装形成负电荷密度较高siRNA多聚体,再借助阳离子载体实现siRNA药物高效递送。二是由寡核苷酸自组装构建载体,并通过与siRNA药物杂交形成纳米核酸药物,这种方法的优点是大多不需要借助阳离子载体即可被细胞摄取。三是设计包含有siRNA模板序列的环状DNA,通过滚环转录技术形成Poly-RNA。Poly-RNA再进一步自组装成RNA纳米微球,该方法能够大大提高siRNA的装载量,降低由于阳离子载体和siRNA药物过量使用而引起的细胞毒性,同时紧凑致密的纳米结构增强了siRNA的核酸酶稳定性^[89]。

5 总结与展望

siRNA作为一种新型药物,由于其高效^[90]、特异性强、治疗效果易检测等一系列优势正在逐渐受到研究人员的重视,设计合适的siRNA药物纳米载体是实现siRNA药物成功递送并发挥作用的重要一环,有关研究也在逐年增加。现阶段,利用纳米载体实现siRNA药物递送已经取得了很大的发展,但仍存在一些问题需要研究人员进一步攻克。siRNA药物应用于临床时,依然存在靶向药物结构设计不精准、脱靶效应严重、内涵体逃逸难以实现、纳米载体大规模制备困难等问题。

siRNA作为药物通过RNA干扰特异性诱导基因沉默而发挥作用,在病毒感染、癌症、家族遗传疾病和自身免疫性疾病等方面被广泛应用。siRNA单独使用或与化疗等抗肿瘤药物共递送用于癌症治疗相对于传统药物表现出更大的应用潜力,具有可设计靶向、合成方便、瞬时沉默、靶点特异性强等优势,但其递送也面临着在血液循环中易被降解、被肾脏清除、难以突破血管内皮/细胞膜/溶酶体屏障等问题。设计合适的纳米载体达到siRNA药物的成功递送是siRNA药物领域的研究热点,目前siRNA药物纳米载体的设计主要有纳米载体表面装载siRNA药物、siRNA药物与纳米载体共组装、纳米载体包裹siRNA药物以及siRNA自组装4种策略。但由于siRNA药物普遍存在大批量制备困难的问题,目前仅有3种siRNA药物获批上市。

如何进行siRNA药物大规模制备是siRNA药物应用于临床面临的一大难题并将成为研究热点。

同时随着计算机技术的发展,结合人工智能、机器学习等技术,借助大数据分析进行药物设计正在成为新的研发趋势。对siRNA纳米药物进行智能设计和精准调控,设计集靶向、示踪、与其他药物共递送于一体的多功能siRNA纳米药物实现协同增效,同样是未来siRNA纳米药物的发展方向之一。

附件 PIBB_20210102_Doc_S1.pdf 见本文网络版 (<http://www.pibb.ac.cn> 或 <http://www.cnki.net>)。

参 考 文 献

- [1] 李怀东,李昕泽.小干扰RNA研究概况.世界最新医学信息文摘,2019,19(350):116-117
Li H D, Li X Z. World's Latest Medical Information Digest, 2019, 19(350): 116-117
- [2] Fire A, Xu S Q, Montgomery M K, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 1998, 391(6669): 806-811
- [3] 赵贵.纳米药物递送靶向BTK小干扰RNA用于类风湿性关节炎治疗的研究[D].合肥:中国科学技术大学,2019
Zhao G. Nano-drug Delivery Small Interfering RNA Targeting BTK for the Treatment of Rheumatoid Arthritis[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2019
- [4] Elbashir S M, Harborth J, Lendeckel W, *et al.* Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature, 2001, 411(6836): 494-498
- [5] Whelan J. First clinical data on RNAi. Drug Discover Today, 2005, 10: 1014-1015
- [6] Castanotto D, Rossi J J. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. Nature, 2009, 457(7228): 426-433
- [7] Davis M E, Zuckerman J E, Choi C H, *et al.* Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. Nature, 2010, 464: 1067-1070
- [8] Hannon G J. RNA interference. Nature, 2002, 418(6894): 244-251
- [9] Sharp P A. RNAi and double-strand RNA. Genes Dev, 1999, 13(2): 139-141
- [10] Dar S A, Thakur A, Qureshi A, *et al.* siRNAmoD: a database of experimentally validated chemically modified siRNAs. Sci Rep, 2016, 6: 20031
- [11] 闫少华.纳米药物载体输送小干扰RNA用于前列腺癌治疗的研究[D].长春:吉林大学,2018
Yan S H. Nano-medicine Carrier Delivers Small Interfering RNA for The Treatment of Prostate Cancer[D]. Changchun: Jilin University, 2018
- [12] Setten R L, Rossi J J, Han S P. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(6): 421-446
- [13] 张玥.纳米载体递送核酸药物用于干预免疫细胞功能的研究[D].合肥:中国科学技术大学,2019
Zhang Y. Research on Nanocarriers Delivering Nucleic Acid

- Drugs for Interfering The Function of Immune Cells[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2019
- [14] Aagaard L, Rossi J J. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, **59**(2-3): 75-86
- [15] Miller V M, Gouvion C M, Davidson B L, *et al.* Targeting Alzheimer's disease genes with RNA interference: an efficient strategy for silencing mutant alleles. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**(2): 661-668
- [16] McCaffrey A P, Nakai H, Pandey K, *et al.* Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference. *Nat Biotechnol*, 2003, **21**(6): 639-644
- [17] Cells R R, Calin G A, Lopez B G, *et al.* microRNA deregulation in cancer and the tumor microenvironment. *Cancer Discov*, 2016, **6**(3): 235-246
- [18] Sajid M I, Moazzam M, Kato S, *et al.* Overcoming barriers for siRNA therapeutics: from bench to bedside. *Pharmaceuticals*, 2020, **13**: 294
- [19] Milad A, Masoud D, Farid H, *et al.* Biomedical application of chitosan-based nanoscale delivery systems: potential usefulness in siRNA delivery for cancer therapy. *Carbohydr Polym*, 2021, **260**: 117809
- [20] Tatiparti K, Sau S, Kashaw S K, *et al.* siRNA delivery strategies: a comprehensive review of recent developments. *Nanomaterials* 2017, **7**: 77
- [21] 丁来荣. 基于 RNA 水凝胶纳米探针联合靶向治疗三阴性乳腺癌的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2019
- Ding L R. Targeting Alzheimer's Disease Genes With RNA Interference: An Efficient Strategy for Silencing Mutant Alleles [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2019
- [22] 周梦娇. 无载体纳米药物的性质对癌症疗效的影响及其克服肿瘤耐药性的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2018
- Zhou M J. The Effect of Carrier-free Nanomedicine on Cancer Curative Effect and Its Research on Overcoming Tumor Drug Resistance[D]. Suzhou: Suzhou University, 2018
- [23] Kanasty R L, Whitehead K A, Vegas A J, *et al.* Action and reaction: the biological response to siRNA and its delivery vehicles. *Mol Ther*, 2012, **20**(3): 513-524
- [24] Saw P E, Song E W. siRNA therapeutics: a clinical reality. *Sci China Life Sci*, 2020, **63**: 485-500
- [25] Hu B, Weng Y, Xia X H, *et al.* Clinical advances of siRNA therapeutics. *J Gene Med*, 2019, **21**: e3097
- [26] Hu B, Zhong L, Weng Y, *et al.* Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 101
- [27] Scott L J. Givosiran: first Approval. *Drugs*, 2020, **80**: 335-339
- [28] de Paula Brandão P R, Titze-de-Almeida S S, Titze-de-Almeida R. Leading RNA interference therapeutics part 2: silencing delta-aminolevulinic acid synthase 1, with a focus on Givosiran. *Mol Diag Ther*, 2020, **24**: 61-68
- [29] Scott L J, Keam S J. Lumasiran: first approval. *Drugs*, 2021, **81**: 277-282
- [30] Whitehead K A, Langer R, Anderson D G. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. *Nat Rev*, 2009, **8**: 129-138
- [31] Alexis F, Pridgen E, Molnar L K, *et al.* Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol Pharm*, 2008, **5**(4): 505-515
- [32] Petros R A, DeSimone J M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, **9**(8): 615-627
- [33] Bumcrot D, Manoharan M, Kotliansky V, *et al.* RNAi therapeutics: a potential new class of pharmaceutical drugs. *Nat Chem Biol*, 2006, **2**(12): 711-719
- [34] Layzer J M, McCaffrey A P, Tanner A K, *et al.* *In vivo* activity of nuclease-resistant siRNAs. *RNA*, 2004, **10**: 766-771
- [35] Jackson A L, Linsley P S. Recognizing and avoiding siRNA off-target effects for target identification and therapeutic application. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, **9**(1): 57-67
- [36] Nguyen D N, Mahon K P, Chikh G, *et al.* Lipid-derived nanoparticles for immunostimulatory RNA adjuvant delivery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(14): E797-E803
- [37] Kanasty R, Dorkin J R, Vegas A, *et al.* Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nat Mater*, 2013, **12**(11): 967-977
- [38] 陈之尧. 优化的阳离子脂质辅助纳米载体用于递送干预B细胞功能的核酸药物的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2018
- Chen Z Y. Optimized Cationic Lipid-assisted Nanocarriers for The Delivery of Nucleic Acid Drugs That Interfere With The Function of B Cells[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2018
- [39] Singh R, Lillard J W Jr. Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Exp Mol Pathol*, 2009, **86**(3): 215-223
- [40] Guo H, Hou Y, Ding J. Nanomedicines for intravesical chemotherapy in bladder cancer. *Curr Pharm Design*, 2019, **25**(4): 371-373
- [41] He L, Liu J, Li S, *et al.* Polymer nanoplatforms at work in prostate cancer therapy. *Adv Ther*, 2019, **2**(4): 1800122
- [42] Li S, Feng X, Wang J, *et al.* Polymer nanoparticles as adjuvants in cancer immunotherapy. *Nano Res*, 2018, **11**(11): 5769-5786
- [43] Dobrovolskaia M A, Aggarwal P, Hall J B, *et al.* Preclinical studies to understand nanoparticle interaction with the immune system and its potential effects on nanoparticle biodistribution. *Mol Pharm*, 2008, **5**(4): 487-495
- [44] Malek A, Merkel O, Fink L, *et al.* *In vivo* pharmacokinetics, tissue distribution and underlying mechanisms of various PEI(- PEG)/ siRNA complexes. *Toxicol Appl Pharm*, 2009, **236**(1): 97-108
- [45] Romberg B, Hennink W E, Storm G. Sheddable coatings for long-circulating nanoparticles. *Pharm Res*, 2008, **25**(1): 55-71
- [46] Jarad G, Miner J H. Update on the glomerular filtration barrier. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2009, **18**(3): 226-232
- [47] He X M, Carter D C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, 1992, **358**(6383): 209-215
- [48] Wartiovaara J, Skoglund U, Tryggvason K. Nephrin strands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography. *J Clin Invest*, 2004, **114**(10): 1475-1483
- [49] Zuckerman J E, Davis M E. Clinical experiences with systemically administered siRNA-based therapeutics in cancer. *Nat Rev Drug*

- Discov, 2015, **14**(12): 843-856
- [50] Huang Y, Hong J, Zheng S, *et al.* Elimination pathways of systemically delivered siRNA. *Mol Ther*, 2011, **19**(2): 381-385
- [51] Zuckerman J E, Choi C H J, Han H, *et al.* Polycation-siRNA nanoparticles can disassemble at the kidney glomerular basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(8): 3137-3142
- [52] Naeye B, Deschout H, Caveliers V, *et al.* *In vivo* disassembly of IV administered siRNA matrix nanoparticles at the renal filtration barrier. *Biomaterials*, 2013, **34**(9): 2350-2358
- [53] Aird W C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. structure, function, and mechanisms. *Circ Res*, 2007, **100**(2): 158-173
- [54] Wisse E, Jacobs F, Topal B, *et al.* The size of endothelial fenestrae in human liver sinusoids: implications for hepatocyte-directed gene transfer. *Gene Ther*, 2008, **15**(17): 1193-199
- [55] Skinner S A, Tutton P J M, O'Brien P E. Microvascular architecture of experimental colon tumors in the rat. *Cancer Res*, 1990, **50**(8): 2411-2417
- [56] Jain R K. Barriers to drug delivery in solid tumors. *Sci Am*, 1994, **271**(1): 58-65
- [57] Boucher Y, Baxter L T, Jain R K. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy. *Cancer Res*, 1990, **50**(15): 4478-4484
- [58] Zámecnik J, Vargová L, Homola A, *et al.* Extracellular matrix glycoproteins and diffusion barriers in human astrocytic tumours. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2003, **30**(4): 338-350
- [59] Lu P, Weaver V M, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol*, 2012, **196**(4): 395-406
- [60] Khawar I A, Kim J H, Kuh H J. Improving drug delivery to solid tumors: priming the tumor microenvironment. *J Control Release*, 2015, **201**: 78-89
- [61] Pluen A, Boucher Y, Ramanujan S, *et al.* Role of tumor-host interactions in interstitial diffusion of macromolecules: cranial vs. subcutaneous tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(8): 4628-4633
- [62] Han X, Li Y, Xu Y, *et al.* Reversal of pancreatic desmoplasia by re-educating stellate cells with a tumour microenvironment-activated nanosystem. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 3390
- [63] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, *et al.* Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, **303**(5663): 1532-1555
- [64] Varkouhi A K, Scholte M, Storm G, *et al.* Endosomal escape pathways for delivery of biologicals. *J Control Release*, 2011, **151**: 220-228
- [65] Di Guglielmo G M, Le Roy C, Goodfellow A F, *et al.* Distinct endocytic pathways regulate TGF- β receptor signalling and turnover. *Nat Cell Biol*, 2003, **5**(5): 410-421
- [66] Wang J, Lu Z, Guillaume Wientjes M, *et al.* Delivery of siRNA therapeutics: barriers and carriers. *AAPS J*, 2010, **12**(4): 492-503
- [67] Dominska M, Dykxhoorn D M. Breaking down the barriers: siRNA delivery and endosome escape. *J Cell Sci*, 2010, **123**(Pt 8): 1183-1189
- [68] 崔芒芒. 超分子纳米体系联合递送药物和基因靶向肝癌的研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2017
- Cui M M. Supramolecular Nanosystems Research on Combined Drug Delivery and Gene Targeting of Liver Cancer[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2017
- [69] 孙平. H6R6短肽修饰的壳聚糖纳米粒用于siRNA的递送及其在肿瘤治疗中的应用[D]. 北京: 北京协和医学院, 2017
- Sun P. H6R6 Short Peptide Modified Chitosan Nanoparticles for The Delivery of siRNA and Its Application in Tumor Treatment [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2017
- [70] Zhang C, Yuan W, Wu Y, *et al.* Co-delivery of EGFR and BRD4 siRNA by cell-penetrating peptides-modified redox-responsive complex in triple negative breast cancer cells. *Life Sci*, 2020, **266**: 118886
- [71] Dosta P, Demos C, Ramos V, *et al.* Delivery of siRNA to endothelial cells in vivo using lysine/histidine oligopeptide-modified poly(β -amino ester) nanoparticles. *Cardiovasc Eng Technol*, 2021, **12**(1): 114-125
- [72] Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*, 1986, **46**(12 Pt 1): 6387-6392
- [73] Maeda H. Tumor-selective delivery of macromolecular drugs via the EPR effect: background and future prospects. *Bioconjug Chem*, 2010, **21**(5): 797-802
- [74] Pecot C V, Calin G A, Coleman R L, *et al.* RNA interference in the clinic: challenges and future directions. *Nat Rev Cancer*, 2011, **11**(1): 59-67
- [75] 蔡龚莉, 陈裕, 林舒婷, 等. 树形分子在siRNA递送载体中的应用. *中国药科大学学报*, 2019, **50**(3): 274-288
- Cai G L, Chen Y, Lin S T, *et al.* *Journal of China Pharmaceutical University*, 2019, **50**(3): 274-288
- [76] 唐瑶, 孙逊. 混合胶束递送siRNA的体外研究. *华西药学杂志*, 2020, **35**(6): 595-598
- Tang Y, Sun X. *West China Pharmaceutical Journal*, 2020, **35**(6): 595-598
- [77] 史迈, 江芮, 崔新霞, 等. 鱼精蛋白-siRNA不同形貌复合体的制备、结构及药效学分析. *高等学校化学学报*, 2019, **40**(6): 1164-1171
- Shi M, Jiang R, Cui X X, *et al.* *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2019, **40**(6): 1164-1171
- [78] Liu X, Rocchi P, Peng L. Dendrimers as non-viral vectors for siRNA delivery. *New J Chem*, 2012, **36**: 256-263
- [79] Kara, G, Parlar A, Cakmak M C, *et al.* Silencing of survivin and cyclin B1 through siRNA-loaded arginine modified calcium phosphate nanoparticles for non-small-cell lung cancer therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, **196**: 111340
- [80] Xu X, Li Z, Zhao X, *et al.* Calcium phosphate nanoparticles-based systems for siRNA delivery. *Regen Biomater*, 2016, **3**(3): 187-195
- [81] Akinc A, Goldberg M, Qin J, *et al.* Development of lipidoid-siRNA Formulations for systemic delivery to the liver. *Mol Ther*, 2009, **17**(5): 872-879

- [82] Nel A E, Mädler L, Velegol D, *et al.* Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater*, 2009, **8**(7): 543-557
- [83] 胡献丽, 朱琳嶺, 李苓菱, 等. 阳离子化荧光金纳米簇的合成及 siRNA 递送研究. *分析化学*, 2020, **48**(6): 712-720
Hu X L, Zhu L L, Li L L, *et al.* *Analytical Chemistry*, 2020, **48**(6): 712-720
- [84] Yang X, Lyer A K, Singh A, *et al.* MDR1 siRNA loaded hyaluronic acid-based CD44 targeted nanoparticle systems circumvent paclitaxel resistance in ovarian cancer. *Sci Rep*, 2015, **5**(1): 8509
- [85] Saw P E, Yao H, Lin C, *et al.* Stimuli-responsive polymer-prodrug hybrid nanoplatfrom for multistage siRNA delivery and combination cancer therapy. *Nano Letters*, 2019, **19**(9): 5967-5974
- [86] Zhao G, Liu A, Zhang Y, *et al.* Nanoparticle-delivered siRNA targeting Bruton's tyrosine kinase for rheumatoid arthritis therapy. *Biomater Sci*, 2019, **7**(11): 4698-4707
- [87] Yadav K, Singh D, Singh R M, *et al.* Multifaceted targeting of cationic liposomes *via* co-delivery of anti-IL-17 siRNA and corticosteroid for topical treatment of psoriasis. *Med Hypotheses*, 2020, **145**: 110322
- [88] Li Y, Bai H, Wang H, *et al.* Reactive oxygen species (ROS) - responsive nanomedicine for RNAi-based cancer therapy. *Nanoscale*, 2017, **10**(1): 203-214
- [89] 赵晓然, 王晓亮, 王颖, 等. 基于核酸自组装纳米结构的 siRNA 药物递送研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2019, **46** (6): 533-544
Zhao X R, Wang X L, Wang Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2019, **46**(6): 533-544
- [90] Song H, Hart S L, Du Z. Assembly strategy of liposome and polymer systems for siRNA delivery. *Int J Pharm*, 2020, **592**: 120033

Research Progress of siRNA Nano-delivery System*

ZHANG Qiong-Dan**, CHEN Zhao-Xia**, LI Fu-Yao**, ZHANG Yu***

(School of Biological Science & Medical Engineering, State Key Laboratory of Bioelectronics, Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, Southeast University, Nanjing 210096, China)

Abstract Small interfering RNA (siRNA) is the initiator of RNA interference, which stimulates the silencing of complementary target mRNA. It is of great significance for gene regulation and disease treatment. It is used in viral infections, cancers, family genetic diseases and autoimmune diseases. As a new type of drug, siRNA is gradually being valued by researchers due to its high efficiency, strong specificity, and easy detection of therapeutic effects. siRNA used as a drug alone or co-delivered with anti-tumor drugs such as chemotherapy for cancer treatment shows greater application potential than traditional drugs. siRNA drugs have the advantages of designable targeting, convenient synthesis, instantaneous silencing, and strong target specificity. However, their delivery also faces obstacles that they are easily degraded in the blood circulation, cleared by the kidney, and difficult to break through the vascular endothelium/cell membrane/lysosome. Therefore, designing suitable nanocarriers to help siRNA successfully deliver into cells and play a role is an important goal for the development of siRNA drugs, and the amount of research in this area is also increasing year by year. The precise design of the nanocarrier material type, size, structure, surface modification, *etc.* are important factors for the successful delivery of siRNA drugs. At present, the design of siRNA drug nanocarriers mainly includes 4 strategies: loading siRNA drugs on the surface of nanocarriers, co-assembly of siRNA drugs and nanocarriers, nanocarriers encapsulating siRNA drugs, and siRNA self-assembly. At this stage, the use of nanocarriers to achieve siRNA drug delivery has made great progress. With the in-depth research and application development, the precise controlled preparation, precise targeted delivery and multifunctionalization of siRNA drug nanocarriers have achieved good results. However, there are still some problems that need to be overcome by researchers. For example, when siRNA drugs are used in the clinic, there are still problems such as inaccurate structure design of targeted drugs, serious off-target effects, difficulty in achieving endosome escape, and difficulties in large-scale preparation of nanocarriers. Because of this, only 3 siRNA drugs have been approved for marketing, namely Onpatro (Patisiran), Givlaari (Givosiran) and Oxlumo (Lumasiran) developed by Alnylam Pharmaceuticals. How to prepare siRNA drugs on a large scale is a major problem facing the clinical application of siRNA drugs, and it will become a research hotspot. At the same time, with the development of computer technology, combined with artificial intelligence, machine learning and other technologies, drug design with the aid of big data analysis is becoming a new research and development trend. Intelligent design and precise regulation of siRNA nanomedicine, and the design of multifunctional siRNA nanomedicine that integrates targeting, tracing, and co-delivery with other drugs to achieve synergy is also one of the future development directions of siRNA nanomedicine.

Key words RNA interference, siRNA drugs, nanocarriers, nano drug delivery

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0102

* This work was supported by a grant from the National Key Research and Development Program of China (2017YFA0205502).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-13851450615, E-mail: zhangyu@seu.edu.cn

Received: April 15, 2021 Accepted: August 27, 2021