

基于mRNA的蛋白替代疗法对于遗传代谢性疾病的 治疗研究进展

李京蔚, 包茂蓉, 宋 萃*

重庆医科大学附属儿童医院内分泌科, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 重庆

收稿日期: 2025年2月28日; 录用日期: 2025年3月21日; 发布日期: 2025年3月31日

摘 要

罕见病又称孤儿病, 由于其单病种发病率低, 因此往往缺乏有效的治疗手段, 严重危害患者的身体健康, 而遗传代谢性疾病(Inborn errors of metabolism, IEM)正是罕见病的重要组成部分。近年来由于信使RNA (mRNA)技术的发展, 尤其是mRNA疫苗问世以后, 基于mRNA的蛋白替代疗法逐渐成为一种可行的治疗IEM的方法。其可以将经化学修饰的携带特定蛋白质信息的mRNA利用靶向递送技术导入宿主细胞, 进而产生功能蛋白来修复缺陷的代谢通路, 目前的动物试验及部分开展的临床试验已经证明了其具有生物相容性、精确剂量、瞬时表达和基因组整合风险最小等优点。本文将针对基于mRNA的蛋白替代疗法, 并针对遗传代谢性疾病较为典型的氨基酸代谢障碍、有机酸代谢障碍以及尿素循环障碍相关疾病为例进行概述。

关键词

mRNA治疗, 罕见病, 遗传代谢性疾病, 蛋白替代疗法

Research Progress on mRNA Based Protein Replacement Therapy for Inborn Errors of Metabolism

Jingwei Li, Maorong Bao, Cui Song*

Department of Endocrinology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing

Received: Feb. 28th, 2025; accepted: Mar. 21st, 2025; published: Mar. 31st, 2025

*通讯作者。

文章引用: 李京蔚, 包茂蓉, 宋萃. 基于 mRNA 的蛋白替代疗法对于遗传代谢性疾病的治疗研究进展[J]. 临床医学进展, 2025, 15(4): 35-43. DOI: 10.12677/acm.2025.154899

Abstract

Rare diseases, also known as orphan diseases, often lack effective treatment due to their low incidence rate of single disease, which seriously endangers the health of patients. Inborn errors of metabolism (IEM) are an important part of rare diseases. In recent years, due to the development of messenger RNA (mRNA) technology, especially after the emergence of mRNA vaccines, mRNA based protein replacement therapy has gradually become a feasible method for treating IEM. It can use targeted delivery technology to introduce chemically modified mRNA carrying specific protein information into host cells, thereby producing functional proteins to repair defective metabolic pathways. Current animal experiments and some clinical trials have demonstrated its advantages such as biocompatibility, precise dosage, transient expression, and minimal risk of genome integration. This article will focus on mRNA based protein replacement therapy and provide an overview of typical genetic metabolic disorders such as amino acid metabolism disorders, organic acid metabolism disorders, and urea cycle disorders.

Keywords

mRNA Therapy, Rare Diseases, Inborn Errors of Metabolism, Protein Replacement Therapy

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

遗传代谢性疾病(Inborn errors of metabolism, IEM)是指由于编码正常代谢过程中编码关键酶的基因发生变异,从而导致中间代谢产物蓄积或者末端代谢产物缺乏,进而导致一系列临床表现的疾病,是罕见病的重要组成部分,单病种的发病率从几万分之一到几千万分之一不等,但由于 IEM 病种数可达上千种,因此总体发病率较高,新生儿遗传代谢病的患病率在 0.5%以上[1]。由于缺乏有效的治疗方法,这些疾病往往具有较高的致死率或者致残率,给世界各地的患者带来了沉重的负担。由于 IEM 其单病种的发病率低、临床异质性强,导致患者的诊断常常被延误,即便是得到了及时的诊断,也不得不面对缺乏相应特异性治疗手段的窘境。

目前对于 IEM 的治疗方法包括饮食治疗、酶替代治疗、器官移植或造血干细胞移植、小分子药物等,但饮食治疗仅对于部分疾病有效,并且极度考验患者的依从性,酶替代治疗需要终生定期给药,并且重复给药会产生一定的耐药性从而影响疗效,移植治疗需要合适的供体并且进行终生的免疫抑制治疗。因此急需一种可以长时间的、稳定的纠正遗传代谢缺陷的治疗。基因治疗作为一种可以从源头上纠正遗传缺陷来治疗遗传性疾病的方法也被广泛研究,目前已经有超过 10 种基因治疗的产品被批准对于 IEM 的治疗[2],这些基因疗法主要使用病毒载体进行递送,但也不得不面临着免疫原性强、基因组整合的风险、运载能力有限、难以调节基因表达、生产过程复杂等问题[3]。

信使 RNA (mRNA)疗法由于 mRNA 的不稳定性和免疫原性,最初并未被认为可以用于永久性基因治疗[4]。但随着 mRNA 技术的发展,尤其是自从基于 mRNA 的 COVID-19 疫苗问世以后,随后越来越多的科研人员将目光投入到 mRNA 的研究中,尤其是罕见病治疗领域。mRNA 治疗已经被证明具有生物相容性、精确剂量、瞬时表达和基因组整合风险最小等优点[5],是一种很有前景的 IEM 治疗方法。mRNA

的化学修饰可以有效地降低免疫原性,同时增加蛋白质的产生,克服了以前 DNA 疗法的局限。此外,mRNA 疗法的模块化设计和成熟的制造工艺使得针对个体患者的定制治疗能够快速发展,这对于具有高度异质性的 IEM 至关重要。更重要的是,mRNA 治疗可以在不改变宿主基因组序列的情况下通过短暂表达安全地恢复缺失或缺陷的蛋白质,从而纠正潜在的代谢缺陷,避免了病毒载体介导的基因治疗的安全性问题。此外由于纳米颗粒递送系统的创新,如脂质纳米颗粒(LNPs),提高了 mRNA 的稳定性,并能够有效靶向疾病相关的细胞和组织[6]。这些特点使 mRNA 疗法成为以前认为难以治疗或管理的 IEM 的一个有吸引力的选择。本文将总结 mRNA 治疗在 IEM 中的应用,并以 IEM 中较为典型的氨基酸代谢障碍、有机酸代谢障碍以及尿素循环障碍相关疾病为例,分析 mRNA 的优势及潜力。

2. mRNA 治疗的原理

mRNA 是一种由 DNA 链转录而来的单链核糖核酸,与 DNA 一样,mRNA 中的遗传信息包含在核苷酸序列中,它携带蛋白质合成的编码信息,可进一步翻译并加工成功能性蛋白质。它的结构包括 5'-帽、多聚(A)尾、5'-非翻译区、3'-非翻译区、可读框。mRNA 的可翻译性和稳定性及其免疫刺激活性是针对特定治疗应用进行优化的关键因素。翻译和稳定性的增加会受到 mRNA 许多区域的影响,因此通过优化 mRNA 结构可以增强蛋白质表达,提高其治疗遗传性疾病的有效性。5'和 3'-非翻译区通过调节 mRNA 的稳定性和翻译过程影响 mRNA 的翻译效率[7],通过优化 5'帽可以增强其稳定性,调节免疫原性[8]。较长的 3'UTR 有助于提高翻译效率,但半衰期较短[9]。多聚(A)尾的长度调节 mRNA 的翻译和衰变,还可以减缓降解过程,提高 mRNA 的半衰期[10]。优化 ORF 中的密码子和 GC 含量能提高翻译效率[11]。同时核苷修饰已被应用于针对各种遗传疾病的 mRNA 药物中,并已被证明可提高其治疗效果[12][13]。

自 1990 年体外转录(IVT)mRNA 在小鼠骨骼肌细胞中成功表达以来,mRNA 治疗的可行性得到了确立[14]。当 mRNA 能够通过直接注射到小鼠中,以剂量依赖性方式表达治疗性蛋白质并产生免疫反应时,基于 mRNA 的治疗方法便应运而生。这一方法理论上能在体外或体内通过转染表达任何蛋白质/肽,具有相对较高的转染效率和低毒性,且无需进入细胞核即可发挥作用[15]。目前关于 mRNA 的制备最常见的方法是通过 IVT 线性化质粒 DNA (pDNA)或 PCR 模型进行化学合成和酶促生产,这些方法可以以相对快速和安全的方式制备 mRNA,但它们的成本往往很高[16]。

为了实现基于 mRNA 的治疗,即重建缺失或有缺陷的蛋白质的产生,mRNA 必须进入靶细胞或者靶器官,使蛋白表达达到治疗水平。因此,尤其是对于需要全身给药的 mRNA,一套准确且高效的递送系统非常重要。首先,由于其亲水性、高分子量和负电荷,mRNA 难以穿过阴离子细胞膜。此外,裸露的 mRNA 在血液或体液中容易被核酸酶降解,这阻碍了 mRNA 发挥作用。因此需要一套高效的递送系统将 mRNA 递送到靶器官或靶细胞。病毒载体有着免疫原性高、容量有限、潜在致突变等缺陷,传统脂质体也存在稳定性差、核酸包封率低、内涵体逃逸效率低等问题,而聚合物纳米颗粒也有着生物相容性差、代谢缓慢、毒性风险高、制备工艺复杂等问题,目前 LNPs 由于其生物相容性高、免疫原性低、稳定性高、结构多样性丰富、制备方便、可控性强、载药效率高等特点,是目前的研究重点[17]。一般来说, LNPs 由四种成分组成:可电离脂质、胆固醇、辅助磷脂和 PEG-脂质。可电离脂质是 LNPs 中最重要的成分,其在 LNP 制备过程中带正电,通过静电相互作用压缩核酸,在生理 pH 下呈中性,降低毒性,进入酸性内体环境后再次带正电,促进核酸释放[18];胆固醇及辅助磷脂可以增强 LNPs 的稳定性,还影响颗粒的膜融合行为[19];PEG-脂质可以防止 LNPs 在制备过程中发生融合和聚集,有助于形成均匀且稳定的 LNPs,并确保储存稳定性[20]。LNPs 由于其优秀的肝脏靶向性,因此特别适用于肝脏为靶器官的 IEM,目前已经有多项基于 LNPs 递送系统的 mRNA 疗法完成动物实验并注册临床研究。

目前基于 mRNA 的蛋白替代疗法可以通过传递编码功能蛋白的 mRNA, 恢复蛋白表达和纠正潜在分子缺陷, 从而纠正异常的代谢, 改善患者的症状, 因此 IEM 此类以蛋白质表达不足或产生异常为特征性疾病成为了 mRNA 疗法的获益者。基于 mRNA 的蛋白质替代疗法其优势还在于其几乎可以表达任何需要的蛋白质, 包括分泌蛋白、胞内蛋白和跨膜蛋白[21], 同时并不会影响宿主细胞原有的蛋白质翻译后修饰[22]。目前 mRNA 通常被设计为表达治疗性蛋白质, 并使其没有免疫原性或低免疫原性, 具有持久的稳定性和高翻译效率[23]。为了使生产的蛋白质维持在目标水平, 基于 mRNA 的蛋白替代疗法也需要重复给药, 给药频率可能取决于蛋白质的半衰期、其活性以及靶细胞的代谢速率。根据给药方式的不同, 经 mRNA 转录修饰的蛋白质的半衰期为体外 50 小时和体内 7~30 小时[24]。近期的一项研究发现, 与线性修饰的 mRNA 相比, 合成设计的外源性环状 RNA 在体外蛋白质生产和有效表达的半衰期增加了 3 倍[25]。目前基于 mRNA 的蛋白质替代疗法的靶器官主要是肝脏、肺和心脏, 这是有递送系统本身的靶向性决定的, 对于其他组织或者器官的靶向递送需要依赖新的递送方式。利用 LNPs 的肝脏靶向性, 基于 mRNA 的蛋白替代疗法利用全身给药方式在其他多种遗传代谢性疾病的动物研究中也得到了有效的证明。截止至目前, 已经有数十种针对遗传代谢性疾病的基于 mRNA 的蛋白替代疗法进入临床研究。

3. 氨基酸代谢障碍性疾病

PKU 是一种以苯丙氨酸羟化酶(PAH)基因突变进而导致氨基酸代谢异常为特征的常染色体隐性遗传疾病, PAH 可在四氢生物蝶呤(BH4)辅助下将苯丙氨酸转化成酪氨酸。若 PAH 活性丧失, 可导致血液中苯丙氨酸浓度的增加进而导致脑功能的不可逆损伤。未经有效治疗的 PKU 患者, 往往伴随着不同程度的智力损害以及自闭症、癫痫发作和运动缺陷。并且随着年龄的增长, 发育异常、行为异常会进行性的加重[26]。据报道, PKU 的全球平均发病率约为 1/10,000, 我国于 1992~2011 年对成都市 200 万新生儿进行筛查发现 PKU 发病率约为 1/40,000 [27]。

目前 PKU 的主要治疗措施是饮食治疗, 即限制苯丙氨酸饮食(限制天然蛋白质摄入、补充不含苯丙氨酸的氨基酸食品和食用低蛋白食品), 这也是基于苯丙氨酸不能在体内合成这一特点决定的, 并且在几十年的临床实践中被证明可以有效改善患者的行为异常[28]。但饮食治疗并不能阻止神经系统并发症的出现[26][29], 长期的限制苯丙氨酸饮食也可能造成生长受限、厌食、脱发、嗜睡等问题[30]。FDA 批准的 PKU 治疗药物有两种, 盐酸沙丙蝶呤和 Palynziq (pegvaliase-pqpz)。盐酸沙丙蝶呤是一种 BH4 辅因子类似物, 可激活轻度 PKU 患者残留的 PAH, 但其仅对 20%-30%的轻度 PKU 患者有效, 大多数患者仍需要终身限制苯丙氨酸[31]。Palynziq 是一种聚乙二醇化重组苯丙氨酸解氨酶(avPAL), 可以将苯丙氨酸分解成氨和跨氨基甲酸, 降低其血液水平, 但 Palynziq 无法持续降低苯丙氨酸, 并且部分患者可能出现严重的过敏反应[32]。因此, 迫切需要更有效的治疗方法。

2022 年, Cacicedo 等学者通过静脉注射利用 LNPs 包裹的 PAH mRNA 给小鼠模型, 发现在单次给药后苯丙氨酸在血清、肝脏和大脑中的水平迅速减少, 这也表明了 mRNA 疗法在 PKU 的急性失代偿发作后用于紧急降低苯丙氨酸的具有极大的潜力。并且在评估重复给药的研究中, 每次注射 24 小时后均观察到苯丙氨酸有效降低, 并且小鼠的体重、转氨酶水平、细胞因子水平等均未受到影响, 表明了 mRNA 疗法的良好稳定性及耐受性, 证明了基于 mRNA 的蛋白替代疗法在长期治疗 PKU 患者的可行性[33]。在另一项研究中, Diaz-Trelles 等学者将三种植物来源的 PAL mRNA 利用 LUNAR LNPs 特异性递送到模型小鼠的肝组织, 所得的 PAL 蛋白在转染后至少 5 天内仍保持在一定水平的生物活性及稳定性, 可以弥补苯丙氨酸的缺陷导致的代谢异常, 证明了利用 mRNA 转录 PAL 蛋白可能是 Palynziq 治疗的有效替代方案。并且植物来源的 PAL 蛋白与细菌来源的 avPAL 相比, 不仅具有相似的稳定性和生物活性, 还可能减少免疫原性副作用[34]。Baek 等学者利用 LNPs 递送人 PAH (hPAH) mRNA (mRNA-3210)至模型小鼠, 在血清中,

mRNA-3210 的 C_{max} (最大浓度)出现在给药后 0.25 小时至 1 小时内,肝脏中 mRNA-3210 的 C_{max} 出现在给药 2 小时。hPAH 蛋白的 C_{max} 出现在 0.25 和 0.5 mg/kg 剂量下的 24 小时以及 1.0 mg/kg 剂量下的 8 小时,并且 hPAH 蛋白的表达量随药物剂量的增加而增加。而达到苯丙氨酸最低浓度的时间为 0.5 mg/kg 剂量时 24 小时和 1.0 mg/kg 剂量时的 48 小时,并在单次给药后 168 小时后恢复到原水平[35]。

4. 有机酸代谢障碍性疾病

有机酸血症是由特定氨基酸分解代谢缺陷引起的先天性代谢缺陷,其特征是有机酸的异常积累和排泄。PA 和 MMA 都是由缬氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸和奇数链脂肪酸的分解代谢缺陷引起的,是经典的有机酸血症。PA 是由于丙酰辅酶 A 羧化酶 α 亚基(PCCA)或丙酰辅酶 A 羧化酶 β 亚基(PCCB)基因突变引起丙酰辅酶 A 羧化酶(PCC)活性受损,MMA 最常见的亚型是甲基丙二酰辅酶 A(MMUT)缺基因突变,导致 MMUT 酶活性降低或完全丧失。PA 在世界范围内发病率为 1/280,000~1/90,000 [36],MMA 在全球的发病率约为 1/90,000 [37]。MMA 和 PA 均可在新生儿期表现为呕吐、嗜睡、喂养障碍、代谢性酸中毒和高氨血症高氨血症[38] [39]。PA 的慢性并发症包括发育迟缓、智力障碍、生长障碍、胰腺炎、骨髓抑制、视神经萎缩、感音神经性听力损失和心肌病[40]。MMA 具有类似的慢性并发症,然而与 PA 相比,MMA 的肾功能衰竭更常见,而心脏表现较少见[41]。

目前暂无针对 PA 和 MMA 的特异性治疗,主要治疗原则是防止急性代谢紊乱、避免诱发因素、降低异常代谢物水平维持正常生理能量需要[36]。长期管理包括限制膳食蛋白质摄入与医疗食品相结合,同时予以左卡尼汀及口服抑制肠道微生物的药物[42]。对于维生素 B12 有效型 MMA 患者可以使用维生素 B12 联合左卡尼汀等可以将相关代谢产物维持在适当的水平[41]。肝移植(LT)可以增加 PA 和 MMA 患者肝脏中的酶活性,从而改善患者的症状并减少急性失代偿发作,但 LT 无法纠正其他组织的酶缺陷,所以并不能阻止慢性并发症的发展,甚至是代谢危象[43]。由于 MMA 患者常合并肾功能衰竭,因此常需要进行肝-肾联合移植[44]。

2022 年,Moderna 公司使用 LNPs 携带编码 hPCCA 和 hPCCB 亚基的双 mRNA (mRNA-3927)来解决两种 PA 疾病亚型。体外试验中发现与单独转染 hPCCA 或 hPCCB mRNA 相比,转染双 mRNA 的成纤维细胞的 PCC 酶活性高 5~24 倍。对模型小鼠进行单次给药后,PCC 蛋白活性 6 小时内显著增加,在 2 天达到峰值,并在给药后 21 天仍可检测到,且血浆主要生物标志物(2MC、3HP、C3/C2 比值)也明显降低。随后在 3 个月的重复给药的实验中血浆主要生物标志物仍呈剂量依赖性降低,且每次给药后持续数周反应没有衰减。在 6 个月的重复给药的安全性试验中,所有小鼠均为出现肝功能异常及体重明显降低,证明了其良好的安全性[45]。Attarwala 等学者进一步基于前期的动物试验数据,建立了临床前药代动力学/药效学模型,以指导下一阶段 mRNA-3927 的临床试验。该模型将 mRNA 药代动力学与疾病生物标志物和 PCC 酶动力学结合起来。模拟结果表明,反复静脉给药可显著提高 PCC 的表达和活性。通过该模型预测,每周一次或两周给药的给药方案可以维持相关生物标志物的正常化[46]。目前基于以上两项研究的 1/2 期临床试验正在进行中(NCT04159103, NCT05130437)。

An 等学者使用 LNPs 携带编码人甲基丙二酰辅酶 A 变位酶(hMMUT)的 mRNA 治疗模型小鼠,单次给药后 hMMUT 在 16 小时后达到峰值,半衰期为 1.2 天,两种模型小鼠中血浆甲基丙二酸减少 75%~85%。与对照组相比,治疗后的 MMA 小鼠表现出更好的生长、代谢谱和存活率。同时重复给药也不会增加肝脏转氨酶及炎症标志物。这为恢复酶功能和通过全身 mRNA 递送治疗 MMA 提供了概念证据[47]。随后在 12 周长期给药的研究中,两种模型小鼠的相关代谢产物均出现了可重复的显著降低,血浆中甲基丙二酸的下降幅度与患者肝移植后观察到的幅度类似[48] [49],并且其生存率、生长情况也较对照组小鼠得到明显改善,并且肝脏尤其是重要肝外组织(肾脏、心脏、骨骼肌和脑)均得到了有效的改善,因此对于 mRNA

治疗 MMA 对于肝外临床表现(尤其是肾脏及神经系统)的长期影响有待进一步研究。在其长期给药的安全性研究中并未发现补体、细胞因子在内的炎症标志物升高,在组织病理学检查中也未发现任何明显的异常,证明了其良好安全性[50]。目前基于这两项研究的药物 mRNA-3705 已进入 1/2 期临床研究(NCT04899310, NCT05295433),以研究其安全性、药代学及药动学。

5. 尿素循环障碍

OTCD 是一种由鸟氨酸氨甲酰转移酶(OTC)基因突变导致的一种以高氨血症为主要表现的遗传代谢性疾病,是尿素循环障碍(UCD)中最常见的一种,患病率约为 1/14,000~1/80,000 [51]-[53]。OTCD 的严重程度取决于残留酶活性,发病时间可从新生儿发病到无症状患者不等。据报道有 7%~19%的 OTCD 患者为新生儿期发病[54]。OTC 酶完全缺乏多见于半合子男性,表现为新生儿期即出现重度高氨血症,从而导致严重的神经系统症状甚至死亡[55]。急性期患儿由于急性的高氨血症导致食欲不振、呕吐等消化系统症状以及精神系统症问题,常见的慢性并发症包括发育迟缓、智力障碍、学习问题、言语障碍、注意力缺陷多动障碍、脑瘫和癫痫发作。尽管所有 OTCD 患者都有应激引发的高氨血症风险,但部分 OTCD 患者出现症状时间较晚,因此症状可能不那么严重或不明显,通常预后更好[56]。

目前对于 OTCD 的常规治疗包括限制蛋白质的饮食、精氨酸/瓜氨酸补充剂和氮清除剂,但这些治疗不仅会明显降低生活质量,而且不能预防由于应激等引起的急性高氨血症发作,从而导致严重的神经功能损害、昏迷甚至死亡[55]。因此肝移植仍是长期恢复尿素循环性的唯一方法,然而由于技术限制,手术的理想时间仅为 3~12 月大之间,且手术并不能有效逆转先前已经造成的神经系统损害[57]。此外肝移植还受到供体缺乏、终生免疫抑制、高死亡率等风险。

Prieve 等学者运用了一种混合 mRNA 递送系统,结合了 LNPs 和聚合物胶束用来将 OTC mRNA 传递到模型小鼠中,其中脂质纳米颗粒保护 mRNA 免受血液中核酸酶的分解,聚合物胶束可以靶向肝细胞并触发 mRNA 的释放。在单次给药后小鼠的 OTC 酶活性为经缓冲液处理的 4 倍,达到正常小鼠的 14%,并且其酶活性在给药 10 天后仍可以保持增高,在重复给药后,治疗组小鼠的血氨及乳酸水平较对照组明显降低,生存率提高,且肝功能及细胞因子未见明显异常,证明了其安全性[58]。这项研究有效揭示了 mRNA 治疗 OTCD 的潜力,但仍需进一步优化药物的结构及递送方式。Yu 等学者发明了一种经过化学修饰的 LUNAR LNP 来进行 OTC mRNA 的递送,有效提高了 mRNA 的稳定性和翻译效率,每周给药 LUNAR-OTC mRNA 导致肝脏 OTC 表达显著持续增强,血氨水平显著降低,超过未修饰 mRNA 的效果。工程化设计克服了传统 mRNA 转录后快速降解的限制,强调了工程化 mRNA 的潜力[59]。Yamazaki 等学者使用了一种新型的可生物降解可电离的脂质纳米颗粒用于递送 OTC mRNA,发现 mRNA 被有效的转染至小鼠肝细胞中,进而导致肝脏中 OTC 酶活性增加,血氨水平下降,在单次给药的情况下,半衰期为 7.1 小时,而产生的 hOTC 蛋白水平保持 5 天,半衰期为 2.2 天。相较于未治疗组小鼠的生存时间 11 天,治疗组小鼠的高氨血症得的明显改善且存活率延长至 22 天,重复给药的情况下仍可以表现出有效的耐受性[60]。Arcturus Therapeutics 公司的 mRNA 药物(ARCT-810)已完成 1a 期的和 1b 期临床研究(NCT04416126, NCT04442347),表现出了良好安全性和有效性,该疗法现正进行针对青少年和成人 OTCD 患者的 2 期研究(NCT05526066)以评估重复给药后的药动学、安全性及耐受性。

6. 总结

自 mRNA 技术取得突破以来,尤其是 mRNA 疫苗的成功研发,展示了 mRNA 治疗的巨大潜力。近年来基于 mRNA 的蛋白替代疗法不断在动物模型以及临床研究中取得积极的结果,为 IEM 的治疗指明了一条新的方向。此外,随着 saRNA 和 circRNA 技术的快速发展,mRNA 治疗也将得到进一步发展。但

mRNA 技术也面临一系列挑战, 如优化 LNPs 配方、增强其特定器官及组织的靶向性、长期给药方案的有效性和可行性等, 需要研究人员的进一步研究。

参考文献

- [1] 宣兆宇. 串联质谱技术在新生儿遗传代谢性疾病筛查中的应用[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(17): 3290-3293.
- [2] Shen, G., Liu, J., Yang, H., Xie, N. and Yang, Y. (2024) mRNA Therapies: Pioneering a New Era in Rare Genetic Disease Treatment. *Journal of Controlled Release*, **369**, 696-721. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.03.056>
- [3] Bulcha, J.T., Wang, Y., Ma, H., Tai, P.W.L. and Gao, G. (2021) Viral Vector Platforms within the Gene Therapy Landscape. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **6**, Article No. 53. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00487-6>
- [4] Granot-Matok, Y., Kon, E., Dammes, N., Mechtinger, G. and Peer, D. (2019) Therapeutic mRNA Delivery to Leukocytes. *Journal of Controlled Release*, **305**, 165-175. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.032>
- [5] Rohner, E., Yang, R., Foo, K.S., Goedel, A. and Chien, K.R. (2022) Unlocking the Promise of mRNA Therapeutics. *Nature Biotechnology*, **40**, 1586-1600. <https://doi.org/10.1038/s41587-022-01491-z>
- [6] Tombácz, I., Laczkó, D., Shah Nawaz, H., Muramatsu, H., Natesan, A., Yadegari, A., *et al.* (2021) Highly Efficient CD4+ T Cell Targeting and Genetic Recombination Using Engineered CD4+ Cell-Homing mRNA-LNPs. *Molecular Therapy*, **29**, 3293-3304. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.06.004>
- [7] Zarghampoor, F., Azarpira, N., Khatami, S.R., Behzad-Behbahani, A. and Foroughmand, A.M. (2019) Improved Translation Efficiency of Therapeutic mRNA. *Gene*, **707**, 231-238. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.008>
- [8] Ziemniak, M., Strenkowska, M., Kowalska, J. and Jemielity, J. (2013) Potential Therapeutic Applications of RNA Cap Analogs. *Future Medicinal Chemistry*, **5**, 1141-1172. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.96>
- [9] Orlandini von Niessen, A.G., Poleganov, M.A., Rechner, C., Plaschke, A., Kranz, L.M., Fesser, S., *et al.* (2019) Improving mRNA-Based Therapeutic Gene Delivery by Expression-Augmenting 3' Utrs Identified by Cellular Library Screening. *Molecular Therapy*, **27**, 824-836. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.12.011>
- [10] Roy, B. and Jacobson, A. (2013) The Intimate Relationships of mRNA Decay and Translation. *Trends in Genetics*, **29**, 691-699. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.09.002>
- [11] Alexaki, A., Hettiarachchi, G.K., Athey, J.C., Katneni, U.K., Simhadri, V., Hamasaki-Katagiri, N., *et al.* (2019) Effects of Codon Optimization on Coagulation Factor IX Translation and Structure: Implications for Protein and Gene Therapies. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 15449. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51984-2>
- [12] Jiang, L., Berraondo, P., Jericó, D., Guey, L.T., Sampedro, A., Frassetto, A., *et al.* (2018) Systemic Messenger RNA as an Etiological Treatment for Acute Intermittent Porphyria. *Nature Medicine*, **24**, 1899-1909. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0199-z>
- [13] Cao, J., An, D., Galduroz, M., Zhuo, J., Liang, S., Eybye, M., *et al.* (2019) mRNA Therapy Improves Metabolic and Behavioral Abnormalities in a Murine Model of Citrin Deficiency. *Molecular Therapy*, **27**, 1242-1251. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.04.017>
- [14] Sahin, U., Karikó, K. and Türeci, Ö. (2014) mRNA-Based Therapeutics—Developing a New Class of Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, **13**, 759-780. <https://doi.org/10.1038/nrd4278>
- [15] Conry, R.M., Lobuglio, A.F., Wright, M., *et al.* (1995) Characterization of a Messenger RNA Polynucleotide Vaccine Vector. *Cancer Research*, **55**, 1397-1400.
- [16] Liu, M.A. (2019) A Comparison of Plasmid DNA and mRNA as Vaccine Technologies. *Vaccines*, **7**, Article 37. <https://doi.org/10.3390/vaccines7020037>
- [17] Hu, M., Li, X., You, Z., Cai, R. and Chen, C. (2024) Physiological Barriers and Strategies of Lipid-Based Nanoparticles for Nucleic Acid Drug Delivery. *Advanced Materials*, **36**, e2303266. <https://doi.org/10.1002/adma.202303266>
- [18] Eygeris, Y., Gupta, M., Kim, J. and Sahay, G. (2022) Chemistry of Lipid Nanoparticles for RNA Delivery. *Accounts of Chemical Research*, **55**, 2-12. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00544>
- [19] Herrera, M., Kim, J., Eygeris, Y., Jozic, A. and Sahay, G. (2021) Illuminating Endosomal Escape of Polymorphic Lipid Nanoparticles That Boost mRNA Delivery. *Biomaterials Science*, **9**, 4289-4300. <https://doi.org/10.1039/d0bm01947j>
- [20] Kulkarni, J.A., Witzigmann, D., Leung, J., Tam, Y.Y.C. and Cullis, P.R. (2019) On the Role of Helper Lipids in Lipid Nanoparticle Formulations of SiRNA. *Nanoscale*, **11**, 21733-21739. <https://doi.org/10.1039/c9nr09347h>
- [21] Hou, X., Zaks, T., Langer, R. and Dong, Y. (2021) Lipid Nanoparticles for mRNA Delivery. *Nature Reviews Materials*, **6**, 1078-1094. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0>
- [22] Hajj, K.A. and Whitehead, K.A. (2017) Tools for Translation: Non-Viral Materials for Therapeutic mRNA Delivery. *Nature Reviews Materials*, **2**, Article No. 17056. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2017.56>

- [23] Kowalski, P.S., Rudra, A., Miao, L. and Anderson, D.G. (2019) Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery. *Molecular Therapy*, **27**, 710-728. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.02.012>
- [24] Pardi, N., Tuyishime, S., Muramatsu, H., Kariko, K., Mui, B.L., Tam, Y.K., *et al.* (2015) Expression Kinetics of Nucleoside-Modified mRNA Delivered in Lipid Nanoparticles to Mice by Various Routes. *Journal of Controlled Release*, **217**, 345-351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.007>
- [25] Wesselhoeft, R.A., Kowalski, P.S. and Anderson, D.G. (2018) Engineering Circular RNA for Potent and Stable Translation in Eukaryotic Cells. *Nature Communications*, **9**, Article No. 2629. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05096-6>
- [26] Blau, N., van Spronsen, F.J. and Levy, H.L. (2010) Phenylketonuria. *The Lancet*, **376**, 1417-1427. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60961-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60961-0)
- [27] 何卫兰, 唐芳, 鄢力, 等. 成都市 20 年新生儿苯丙酮尿症分析[J]. 江苏医药, 2016, 42(3): 310-311, 前插 1.
- [28] Chen, A., Pan, Y. and Chen, J. (2023) Clinical, Genetic, and Experimental Research of Hyperphenylalaninemia. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article 1051153. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1051153>
- [29] Arnold, G.L., Vladutiu, C.J., Orlowski, C.C., Blakely, E.M. and DeLuca, J. (2004) Prevalence of Stimulant Use for Attentional Dysfunction in Children with Phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, **27**, 137-143. <https://doi.org/10.1023/b:boli.0000028725.37345.62>
- [30] Pinto, A., Ilgaz, F., Evans, S., van Dam, E., Rocha, J.C., Karabulut, E., *et al.* (2023) Phenylalanine Tolerance over Time in Phenylketonuria: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, **15**, Article 3506. <https://doi.org/10.3390/nu15163506>
- [31] Cunningham, A., Rohr, F., Splett, P., Mofidi, S., Bausell, H., Stembridge, A., *et al.* (2023) Nutrition Management of PKU with Pegvaliase Therapy: Update of the Web-Based PKU Nutrition Management Guideline Recommendations. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **18**, Article No. 155. <https://doi.org/10.1186/s13023-023-02751-0>
- [32] Eshraghi, P., Noroozi Asl, S., Bagheri, S. and Chalak, V. (2019) Response to Sapropterin Hydrochloride (Kuvan®) in Children with Phenylketonuria (PKU): A Clinical Trial. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, **32**, 885-888. <https://doi.org/10.1515/jpem-2018-0503>
- [33] Cacicedo, M.L., Weinl-Tenbruck, C., Frank, D., Limeres, M.J., Wirsching, S., Hilbert, K., *et al.* (2022) Phenylalanine Hydroxylase mRNA Rescues the Phenylketonuria Phenotype in Mice. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **10**, Article 993298. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.993298>
- [34] Diaz-Trelles, R., Lee, S., Kuakini, K., Park, J., Dukanovic, A., Gonzalez, J.A., *et al.* (2022) Lipid Nanoparticle Delivers Phenylalanine Ammonia Lyase mRNA to the Liver Leading to Catabolism and Clearance of Phenylalanine in a Phenylketonuria Mouse Model. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, **32**, Article 100882. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2022.100882>
- [35] Baek, R., Coughlan, K., Jiang, L., Liang, M., Ci, L., Singh, H., *et al.* (2024) Characterizing the Mechanism of Action for mRNA Therapeutics for the Treatment of Propionic Acidemia, Methylmalonic Acidemia, and Phenylketonuria. *Nature Communications*, **15**, Article No. 3804. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47460-9>
- [36] 韩连书, 杨艳玲, 杨茹莱, 等. 丙酸血症筛查及诊治专家共识[J]. 中国实用儿科杂志, 2024, 39(4): 241-248.
- [37] Chace, D.H., DiPerna, J.C., Kalas, T.A., Johnson, R.W. and Naylor, E.W. (2001) Rapid Diagnosis of Methylmalonic and Propionic Acidemias. *Clinical Chemistry*, **47**, 2040-2044. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.11.2040>
- [38] Al-Hamed, M.H., Imtiaz, F., Al-Hassnan, Z., Al-Owain, M., Al-Zaidan, H., Alamoudi, M.S., *et al.* (2019) Spectrum of Mutations Underlying Propionic Acidemia and Further Insight into a Genotype-Phenotype Correlation for the Common Mutation in Saudi Arabia. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, **18**, 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2018.12.004>
- [39] Manoli, I. and Venditti, C.P. (2016) Disorders of Branched Chain Amino Acid Metabolism. *Translational Science of Rare Diseases*, **1**, 91-110. <https://doi.org/10.3233/trd-160009>
- [40] Romano, S., Valayannopoulos, V., Touati, G., Jais, J., Rabier, D., de Keyser, Y., *et al.* (2010) Cardiomyopathies in Propionic Aciduria Are Reversible after Liver Transplantation. *The Journal of Pediatrics*, **156**, 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.07.002>
- [41] Hörster, F., Baumgartner, M.R., Viardot, C., Suormala, T., Burgard, P., Fowler, B., *et al.* (2007) Long-Term Outcome in Methylmalonic Acidurias Is Influenced by the Underlying Defect (mut⁰, mut⁻, cblA, cblB). *Pediatric Research*, **62**, 225-230. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e3180a0325f>
- [42] Sutton, V.R., Chapman, K.A., Gropman, A.L., MacLeod, E., Stagni, K., Summar, M.L., *et al.* (2012) Chronic Management and Health Supervision of Individuals with Propionic Acidemia. *Molecular Genetics and Metabolism*, **105**, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.08.034>
- [43] Chu, T., Chien, Y., Lin, H., Liao, H., Ho, H., Lai, C., *et al.* (2019) Methylmalonic Acidemia/Propionic Acidemia—The Biochemical Presentation and Comparing the Outcome between Liver Transplantation versus Non-Liver Transplantation

- Groups. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **14**, Article No. 73. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1045-1>
- [44] Kasahara, M., Horikawa, R., Tagawa, M., Uemoto, S., Yokoyama, S., Shibata, Y., *et al.* (2006) Current Role of Liver Transplantation for Methylmalonic Acidemia: A Review of the Literature. *Pediatric Transplantation*, **10**, 943-947. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3046.2006.00585.x>
- [45] Jiang, L., Park, J., Yin, L., Laureano, R., Jacquinet, E., Yang, J., *et al.* (2020) Dual mRNA Therapy Restores Metabolic Function in Long-Term Studies in Mice with Propionic Acidemia. *Nature Communications*, **11**, Article No. 5339. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19156-3>
- [46] Attarwala, H., Lumley, M., Liang, M., Ivaturi, V. and Senn, J. (2023) Translational Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model for mRNA-3927, an Investigational Therapeutic for the Treatment of Propionic Acidemia. *Nucleic Acid Therapeutics*, **33**, 141-147. <https://doi.org/10.1089/nat.2022.0036>
- [47] An, D., Schneller, J.L., Frassetto, A., Liang, S., Zhu, X., Park, J., *et al.* (2017) Systemic Messenger RNA Therapy as a Treatment for Methylmalonic Acidemia. *Cell Reports*, **21**, 3548-3558. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.11.081>
- [48] Critelli, K., McKiernan, P., Vockley, J., Mazariegos, G., Squires, R.H., Soltys, K., *et al.* (2018) Liver Transplantation for Propionic Acidemia and Methylmalonic Acidemia: Perioperative Management and Clinical Outcomes. *Liver Transplantation*, **24**, 1260-1270. <https://doi.org/10.1002/lt.25304>
- [49] Chen, P.W., Hwu, W.L., Ho, M.C., Lee, N.C., Chien, Y.H., Ni, Y.H., *et al.* (2010) Stabilization of Blood Methylmalonic Acid Level in Methylmalonic Acidemia after Liver Transplantation. *Pediatric Transplantation*, **14**, 337-341. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3046.2009.01227.x>
- [50] An, D., Frassetto, A., Jacquinet, E., Eybye, M., Milano, J., DeAntonis, C., *et al.* (2019) Long-Term Efficacy and Safety of mRNA Therapy in Two Murine Models of Methylmalonic Acidemia. *EBioMedicine*, **45**, 519-528. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.07.003>
- [51] Batshaw, M.L., Tuchman, M., Summar, M. and Seminara, J. (2014) A Longitudinal Study of Urea Cycle Disorders. *Molecular Genetics and Metabolism*, **113**, 127-130. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.08.001>
- [52] Dionisi-Vici, C., Rizzo, C., Burlina, A.B., Caruso, U., Sabetta, G., Uziel, G., *et al.* (2002) Inborn Errors of Metabolism in the Italian Pediatric Population: A National Retrospective Survey. *The Journal of Pediatrics*, **140**, 321-329. <https://doi.org/10.1067/mpd.2002.122394>
- [53] Keskinen, P., Siitonen, A. and Salo, M. (2008) Hereditary Urea Cycle Diseases in Finland. *Acta Paediatrica*, **97**, 1412-1419. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.00923.x>
- [54] Seker Yilmaz, B., Baruteau, J., Arslan, N., Aydin, H.I., Barth, M., Bozaci, A.E., *et al.* (2022) Three-Country Snapshot of Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *Life*, **12**, Article 1721. <https://doi.org/10.3390/life12111721>
- [55] Brassier, A., Gobin, S., Arnoux, J.B., Valayannopoulos, V., Habarou, F., Kossorotoff, M., *et al.* (2015) Long-Term Outcomes in Ornithine Transcarbamylase Deficiency: A Series of 90 Patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **10**, Article No. 58. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0266-1>
- [56] Lu, D., Han, F., Qiu, W., Zhang, H., Ye, J., Liang, L., *et al.* (2020) Clinical and Molecular Characteristics of 69 Chinese Patients with Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **15**, Article No. 340. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01606-2>
- [57] Foschi, F.G. (2015) Urea Cycle Disorders: A Case Report of a Successful Treatment with Liver Transplant and a Literature Review. *World Journal of Gastroenterology*, **21**, 4063-4068. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i13.4063>
- [58] Prieve, M.G., Harvie, P., Monahan, S.D., Roy, D., Li, A.G., Blevins, T.L., *et al.* (2018) Targeted mRNA Therapy for Ornithine Transcarbamylase Deficiency. *Molecular Therapy*, **26**, 801-813. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.024>
- [59] Yu, H., Brewer, E., Shields, M., Crowder, M., Sacchetti, C., Soontornniyomkij, B., *et al.* (2022) Restoring Ornithine Transcarbamylase (OTC) Activity in an OTC-Deficient Mouse Model Using LUNAR-OTC mRNA. *Clinical and Translational Discovery*, **2**, e33. <https://doi.org/10.1002/ctd2.33>
- [60] Yamazaki, K., Kubara, K., Ishii, S., Kondo, K., Suzuki, Y., Miyazaki, T., *et al.* (2023) Lipid Nanoparticle-Targeted mRNA Formulation as a Treatment for Ornithine-Transcarbamylase Deficiency Model Mice. *Molecular Therapy—Nucleic Acids*, **33**, 210-226. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.06.023>