

# 非病毒载体在DNA药物递送领域的研究进展



刘含笑<sup>1,2</sup>, 杨雪华<sup>1,2</sup>, 刘正平<sup>1,2</sup>, 毛楷凡<sup>1,2</sup>, 薛松<sup>1,2</sup>, 李大伟<sup>1,2</sup>, 汤漩<sup>1,2</sup>

1. 山东省药学科学院新型缓控释制剂与药物靶向递送山东省工程研究中心 (济南 250101)
2. 山东省靶向递药与高端制剂重点实验室 (济南 250101)

**【摘要】** DNA 治疗在临床转化中仍面临多重挑战, 主要表现为 DNA 药物的体内稳定性差、细胞转染效率偏低、基因组整合效率低下以及递送系统的靶向效率欠佳。为应对这些问题, 本文重点关注能够提升 DNA 药物靶向递送和治疗效果的非病毒载体系统, 并系统梳理了该领域的最新研究进展。全文以 DNA 药物递送过程中的关键挑战为切入点, 详细介绍了脂质载体、聚合物载体、无机材料、肽基载体和糖基纳米粒子等多种非病毒载体的特性、应用及研究成果, 并进一步分析非病毒载体在临床转化中面临的实际瓶颈与发展障碍, 为 DNA 治疗领域的进一步发展提供参考。

**【关键词】** 非病毒载体; DNA 药物; 递送体系; 靶向递送; 纳米载体; 生物相容性; 基因治疗; 临床转化

**【中图分类号】** R943

**【文献标识码】** A

## Recent advances of non-viral vectors in DNA drug delivery field

LIU Hanxiao<sup>1,2</sup>, YANG Xuehua<sup>1,2</sup>, LIU Zhengping<sup>1,2</sup>, MAO Kaifan<sup>1,2</sup>, XUE Song<sup>1,2</sup>, LI Dawei<sup>1,2</sup>, TANG Xuan<sup>1,2</sup>

1. Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Shandong Provincial Engineering Research Center of Novel Sustained-Release Formulations and Targeted Drug Delivery, Jinan 250101, China
  2. Shandong Key Laboratory of Targeted Drug Delivery and Advanced Pharmaceuticals, Jinan 250101, China
- Corresponding authors: LI Dawei, Email: david9999@126.com; TANG Xuan, Email: tangxuan@sdaps.cn

**【Abstract】** DNA therapy faces multiple challenges during clinical translation. These challenges include the poor DNA stability, low DNA transfection efficiency, inefficient genomic integration, and inadequate delivery of therapeutic DNA. To address these challenges, this review focuses on non-viral vector systems that can improve the targeted delivery and therapeutic effect of DNA drugs, and provides a systematic review of the latest research developments in this field. This review starts with an analysis of the core challenges in DNA delivery. Taking the key challenges in DNA drug delivery as its starting point, this paper provides a detailed overview of the characteristics, applications and research findings of various non-viral carriers, including lipid carriers, polymeric carriers, inorganic materials, peptide-based carriers and glyconanoparticle. It further analyses the practical bottlenecks and developmental obstacles faced by non-viral carriers in clinical translation, thereby offering guidance for the future development of the field of DNA therapy.

**【Keywords】** Non-viral vectors; DNA drugs; Delivery systems; Targeted delivery; Nanocarriers; Biocompatibility; Gene therapy; Clinical translation

DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202601050](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202601050)

基金项目: 山东省创新发展研究院 2025 年度支撑科技创新发展研究项目 (SDJZ-2025-068)

通信作者: 李大伟, 硕士, 主任药师, Email: david9999@126.com

汤漩, 硕士, 正高级工程师, Email: tangxuan@sdaps.cn

DNA 治疗研究早期主要依赖病毒载体,这类载体虽具备较高转染效率,却因插入诱变风险、免疫原性反应及基因携带能力有限等问题,严重制约了其临床转化前景<sup>[1]</sup>。上述局限性驱动了合成生物学与纳米技术的交叉融合,推动非病毒递送系统进入快速发展阶段。另外,2019年新型冠状病毒(coronavirus disease 2019, COVID-19) mRNA 疫苗的成功应用,不仅印证了脂质纳米粒(lipid nanoparticle, LNP)等非病毒递送平台的有效性与安全性,也为该技术在肿瘤治疗、遗传性疾病修复等更广泛治疗领域的拓展奠定了重要基础<sup>[2]</sup>,国内药学研究在脂质载体优化方面也取得显著进展,例如固体 LNP 作为非病毒载体的代表,通过建立超滤离心-HPLC 法实现了高包封率的精准测定,为提高药物稳定性、控制缓释并促进靶向递送提供了可靠的质量控制工具<sup>[3]</sup>。此外,血小板来源外泌体等仿生纳米载体凭借低免疫原性和高渗透滞留效应,进一步拓展了非病毒递送系统的靶向潜力<sup>[4]</sup>。

非病毒载体主要包括聚合物纳米粒、脂质体、胶束、LNP、金纳米粒、碳纳米管、量子点及多肽等。通过纳米工程的精确调控,这些载体在递送效率和靶向特异性方面已取得显著进展。研究显示,通过靶向配体(如叶酸、转铁蛋白)的功能化修饰,纳米载体能够实现受体介导的细胞特异性识别,从而在肿瘤微环境中实现基因药物的定向富集<sup>[5]</sup>。同时,通过调控载体的电荷与体积,非病毒载体的细胞毒性显著降低。例如,对 LNP 中可电离脂质分子进行理性设计与结构优化,能有效提高核酸包封率并减少细胞损伤<sup>[6]</sup>。为克服体内递送障碍,研究者进一步通过仿生修饰策略改善载体的药代动力学特性。例如,采用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)进行表面亲水性修饰,可显著延长体内循环时间、减少免疫清除。在此基础上,刺激响应型载体能够响应 pH、酶等微环境信号,实现 DNA 药物的智能可控释放<sup>[7]</sup>。

基于上述背景与研究进展,本文系统综述非病毒 DNA 递送载体的最新发展。全文以 DNA 递送过程中的关键挑战为切入点,详细介绍了脂质载体、聚合物载体、无机材料、肽基载体和糖基纳米粒子等多种非病毒载体的特性、应用及研究成果,并进一步分析各类载体在临床转化中面临的实际瓶颈与发展障碍,展望未来可能的技术突

破方向,以期构建更高效、安全、可控的新一代递送系统提供理论参考与实践指引。

## 1 DNA递送面临的挑战

DNA 递送是一系列复杂的级联生物学过程,其成功实现需要克服多重生物物理与生理屏障(图1)。当前递送效率主要受制于以下 5 个关键环节的系统性挑战:DNA 的体内稳定性、细胞特异性摄取与内化、内体/溶酶体逃逸效率、胞内运输以及核酸释放与入核机制<sup>[8]</sup>。对这些核心环节的深入理解与协同优化,是提升 DNA 递送整体效率的关键所在。

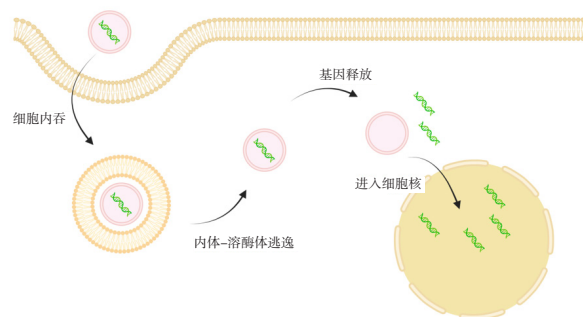


图1 DNA递送面临的挑战

Figure 1. Challenges in DNA delivery

### 1.1 DNA的体内稳定性

DNA 是带有高密度负电荷的大分子,易被血浆和组织中的核酸酶快速降解,其在体内的半衰期通常仅为几分钟至十几分钟<sup>[9]</sup>。非病毒载体主要通过静电相互作用将带负电荷的 DNA 压缩并包裹形成结构稳定的纳米颗粒,其可以保护 DNA 免受核酸酶降解,但纳米颗粒的物理化学性质,特别是其尺寸、表面电荷对其体内稳定性具有决定性影响。

在尺寸方面,理想的纳米颗粒粒径应控制在 50~200 nm 之间。小于 50 nm 的颗粒易通过肾脏快速清除,而大于 300 nm 的颗粒则容易被免疫系统识别捕获,且难以通过细胞内吞作用有效内化<sup>[10]</sup>。在电荷调控方面,载体表面需维持适度的正电性,从而促进内吞过程。但若是表面电荷密度过高,则易引发细胞毒性,且易与血清中带负电荷的白蛋白发生非特异性吸附,使其稳定性降低。此外,理想的电荷密度应使载体与 DNA 之间形成强度适宜的复合物,既能保障递送过程中的结构稳定性,又能在进入细胞后响应微环境变化(如 pH 下降、还原条件等),实现 DNA 的可控释放<sup>[11]</sup>。

## 1.2 细胞摄取与内化

DNA 与带负电荷的磷脂双分子层之间存在强烈的静电排斥作用，被动跨膜极为困难。有效的非病毒载体封装是实现 DNA 成功递送的关键前提。负载 DNA 的纳米颗粒主要经由内吞途径进入细胞，其中受体介导的内吞因其较高的摄取效率和可调控性，被认为是一种最为理想的摄取方式，该过程的效率受多重因素综合调控。

除了上述尺寸和电荷对细胞内吞有影响，在形态学层面，纳米颗粒的几何形状对其内吞行为具有显著影响。研究表明，棒状纳米颗粒因其各向异性的结构特征，通常展现出比球形或盘状颗粒更高的细胞摄取效率<sup>[12]</sup>。在功能化修饰方面，主动靶向策略通过在载体表面修饰抗体、叶酸、转铁蛋白等特异性配体，可实现配体-受体相互作用的精准识别，从而显著提升复合物在目标细胞中的选择性内化效率。此外，通过化学修饰引入胍基等功能性官能团，能够借助与细胞膜表面成分（如硫酸乙酰肝素等）形成的多重氢键作用，非特异但有效地增强纳米颗粒与细胞膜的相互作用，进而促进内吞过程<sup>[13]</sup>。

## 1.3 内体/溶酶体逃逸瓶颈

纳米颗粒一旦到达细胞质，就会被包裹进溶酶体，溶酶体是最具挑战性的细胞内屏障之一。目前，实现溶酶体逃逸的主要机制包括质子海绵效应，质子海绵效应是指聚乙烯亚胺（polyethyleneimine, PEI）等含有大量可质子化氨基的聚合物在内体酸化过程中不断吸收质子，引发氯离子内流和水分子进入，最终导致内体渗透性肿胀破裂的过程。溶酶体逃逸还可通过膜融合效应实现，某些脂质如二油酰磷脂酰乙醇胺或 pH 响应性肽能在酸性环境下发生构象变化，诱导载体膜与内体膜发生合并，从而将内容物直接释放到细胞质中<sup>[14]</sup>。同时，某些纳米颗粒可通过非溶酶体途径进入细胞，例如经过高尔基体-内质网旁途径实现内化。该途径借助内质网靶向，引导纳米颗粒通过高尔基体-内质网通道进入细胞核，从而避免纳米颗粒进入内体。研究已证实，该方法可显著提升转染效率<sup>[15]</sup>。

## 1.4 胞内运输、DNA 释放与入核

成功逃逸至细胞质后，纳米颗粒仍面临胞内运输和 DNA 释放的障碍。首先，细胞质的高黏度及细胞骨架网络会阻碍纳米颗粒的自由扩散。

其次，载体与 DNA 结合过紧会导致释放不足，影响功能。采用可降解连接键（如二硫键）或刺激响应性（如 pH、还原敏感）材料可实现胞内条件触发的可控释放。

在细胞核内进行 DNA 转录的过程中，从纳米颗粒中释放的 DNA 需穿过核膜进入细胞核。然而，核内物质转运主要依赖直径仅为 9~10 nm 的核孔结构实现。这一尺寸范围给 DNA 主动穿过核膜进入细胞核带来了重大挑战<sup>[16]</sup>，外源 DNA 入核主要在细胞有丝分裂期核膜解体时被动进入或通过载体上连接核定位信号肽进行主动转运。因此，DNA 转染在分裂活跃的细胞中效率显著更高。

非病毒基因递送是一个多步骤、多屏障的系统性过程。为实现高效、安全的递送，载体设计需围绕“循环-靶向-内吞-逃逸-释放”等关键环节进行系统性优化。因此，深入理解每一环节的障碍机制，是开发非病毒基因递送系统的关键。

## 2 非病毒 DNA 载体的类型及研究进展

脂质载体、聚合物载体、无机材料、肽基载体和糖基纳米粒子是当前 DNA 递送系统的主要类型，这些载体各具特点，图 2 是一些常见非病毒载体材料的结构示意图。

### 2.1 脂质载体

脂质载体是一类以天然或合成脂质为主要构建单元的纳米递送系统，因其优异的生物相容性、易于功能化修饰及可规模化生产等特性，已成为基因药物递送领域的核心平台。根据结构、组成与制备方法的不同，脂质载体主要分为脂质体与 LNP 两大类。

#### 2.1.1 脂质体

脂质体是由磷脂双分子层包裹水相组成的体系，其独特的结构使其能够封装多种类型的分子，无论是亲水性（水溶性）物质，还是亲脂性（脂溶性）物质，都能在脂质体中找到合适的储存空间。脂质体与细胞膜融合的特性，使其在基因治疗领域具有重要的应用价值<sup>[17]</sup>。基于脂质体的转染试剂，如 Lipofectamine 2000、Lipofectamine 3000 和 Lipofectamine LTX 等，已在科研场景中广泛用于基因材料的细胞递送<sup>[18]</sup>。

近年来，脂质体技术持续创新，研究人员通过在其表面引入抗体、糖类、转铁蛋白、叶酸、

细胞靶向肽及整合素配体等多种修饰策略, 显著提升了脂质体的靶向递送能力, 同时有效降低了其细胞毒性。例如, 有研究构建了一种经 iRGD 肽修饰的脂质体, 用于负载编码色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 的 DNA。体外实验中, 与未经修饰的脂质体相比,

经 iRGD 肽修饰的脂质体将肿瘤细胞的凋亡率由 24.8% 提高到了 49.06%; 在小鼠体内实验中, 该修饰脂质体能够特异性地靶向肺部的转移性肿瘤组织, 并显著减少肿瘤结节的数量<sup>[19]</sup>。这一脂质体疗法在增强抗肿瘤效果的同时, 对周围健康组织的影响极小, 展现出良好的治疗安全性。

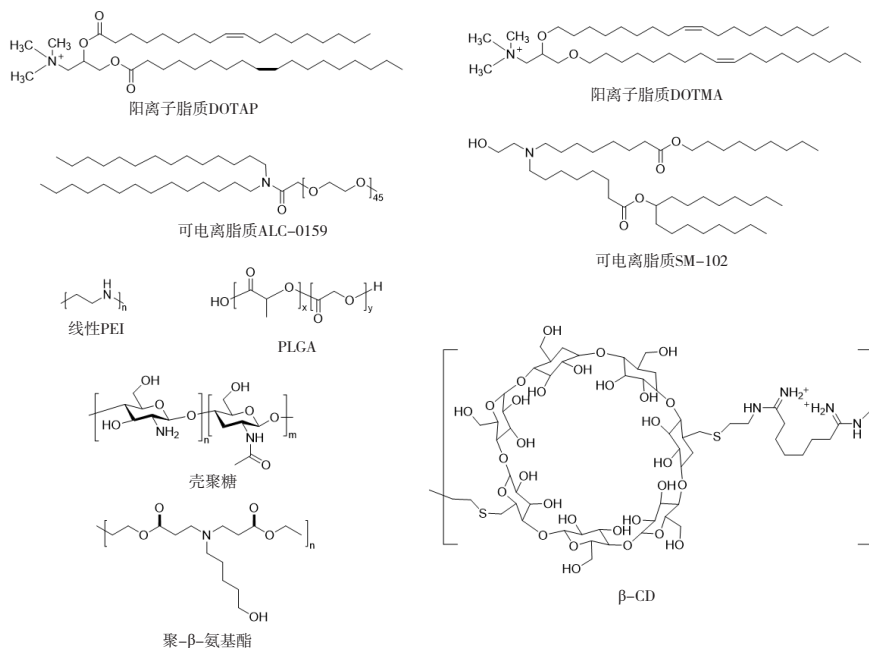


图2 常见非病毒载体材料的结构示意图

Figure 2. Schematic diagram of the structure of common non-viral vector materials

注: DOTAP: 阳离子脂质1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷 (1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane); DOTMA: *N*-[1-(2,3-二油烯氧基)丙基]-*N,N,N*-三甲基氯化铵{*N*-[1-(2,3-dioleoyloxy) propyl]-*N,N,N*-trimethylammonium chloride}; ALC-0159: 2-(PEG-2000)-*N,N*-二十四烷基乙酰胺[2-(PEG-2000)-*N,N*-tetracosylacetamide]; SM-102: 1-辛基壬基8-[(2-羟乙基) [6-*O*-6-(十一烷氧基)己基]氨基]-辛酸酯 [1-Octylonyl 8-[(2-hydroxyethyl) [6-*O*-6-(undecyloxy) hexyl] amino]-octanoate]; PLGA: 聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly (lactic-co-glycolic acid)];  $\beta$ -CD:  $\beta$ -环糊精 ( $\beta$ -cyclodextrin)。

### 2.1.2 LNP

LNP是由阳离子或可电离脂质(与核酸通过静电作用络合)、中性磷脂(如磷脂酰胆碱类,维持结构稳定性)及胆固醇(增强膜刚度)组成的核-壳结构体系。通过表面修饰PEG可有效延长LNP在体内的循环时间,但其效果受PEG链长及具体配方的影响显著。例如,短链PEG(如C14)可能导致LNP在1h内被清除<sup>[20]</sup>。

LNP凭借其高效核酸保护能力及靶组织递送特性,已成为基因递送领域的核心载体。研究证实,通过高通量筛选1000余种自组装LNP配方,可构建肝靶向质粒DNA(plasmid DNA, pDNA)递送平台,其肝脏转基因表达效率显著优于mRNA负载的LNP,优化后的pDNA-LNP可维持4~5d的持续转基因表达,而mRNA-LNP的表达水平在2d内即迅速下降<sup>[21]</sup>。此外,研究

发现,LNP可通过递送pDNA与靶向转录因子的siRNA,抑制免疫介导的基因沉默并延长转基因表达,从而协同增强治疗效果。

阳离子LNP(cationic LNP, cLNP)和可电离LNP(ionizable LNP, iLNP)是两种主要的LNP类型,其区别主要在于脂质成分的不同。cLNP含有带正电头部基团的脂质,可通过静电相互作用与DNA结合,但其细胞毒性及诱导补体激活等免疫原性问题限制了临床应用。相比之下,iLNP的脂质在酸性微环境(如内体)中可电离并触发内体逃逸,兼具高转染效率与低毒性优势。以首个获批的LNP药物Onpattro<sup>®</sup>为例,其配方基于可电离脂质、二硬脂酰磷脂酰胆碱及胆固醇,验证了iLNP的临床转化潜力。在另一项研究中,研究人员利用iLNP递送编码嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)的pDNA,用于工程化T

细胞改造。实验结果显示, 该脂质复合物能高效地将 pDNA 递送至 Jurkat 细胞及原代人 T 细胞中, 实现 CAR 的短暂表达, 从而为血液肿瘤和实体瘤的治疗提供了新的潜在策略<sup>[22]</sup>。

LNP 进入体内后, 主要倾向于在肝脏富集。这主要得益于肝血窦内皮细胞的窗孔结构, 便于 LNP 与邻近肝细胞直接接触; 同时, 相对较低的肝脏血流速度也有利于纳米颗粒的局部滞留。肝脏内定居的巨噬细胞 (Kupffer 细胞), 可主动摄取并清除部分 LNP。此外, LNP 表面可吸附载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE), ApoE 可与肝细胞表面的低密度脂蛋白受体结合, 从而促进 LNP 进入肝细胞<sup>[23]</sup>。Algarni 等<sup>[24]</sup>通过采用 DLin-MC3-DMA [4-(*N,N*-二甲基氨基)丁酸(二亚油基)甲酯]脂质优化 pDNA-LNP, 进一步证实了可电离脂质对 pDNA 的肝脏选择性转染起关键作用。LNP 这一天然肝靶向富集的特性, 虽为肝脏靶向的基因治疗提供了便利, 但也使其在非肝器官的靶向递送面临显著技术挑战。

## 2.2 聚合物载体

聚合物载体的研究聚焦于新型材料设计与递送系统优化, 旨在通过调控纳米颗粒的生物分布、循环半衰期、细胞摄取效率及胶体稳定性, 突破传统载体的细胞毒性瓶颈, 提升基因治疗精准性。根据电荷特性, 聚合物载体可分为以下两类。

阳离子聚合物带有正电荷, 可以与带负电荷的 DNA 相互作用形成相应的复合物, 这类聚合物不仅可以保护核酸免受降解, 还能促进细胞对其的摄取和递送。基因治疗中使用的主要阳离子聚合物是 PEI、聚-L-赖氨酸和聚- $\beta$ -氨基酯<sup>[25]</sup>。例如, 基于  $\epsilon$  氨基和羧基形成的  $\epsilon$ -多聚-L-赖氨酸 (poly-L-lysine, PLL) /pDNA 多聚体的体内基因递送系统, 因其与细胞膜的低强度相互作用, 可显著降低细胞毒性 (细胞存活率大于 98%), 同时提高转染效率及血清稳定性<sup>[26]</sup>。此外, 表面工程策略 (如 PEG 修饰或乙酰化处理) 可有效降低阳离子纳米粒的膜损伤风险。

PLGA、聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 等聚酯类材料可利用其疏水骨架, 通过乳化等方法将 DNA 物理包裹于载体内部, 同时材料中的酯

键及末端基团可通过氢键等次级作用维持载体结构的稳定。多种 DNA 已通过 PEG-PLGA 纳米颗粒递送至肿瘤细胞, 这类纳米颗粒能够有效包封 DNA, 并同时递送疏水性药物, 在共递送化疗药物和 DNA 方面展现出巨大潜力<sup>[27]</sup>。在设计脂质修饰聚合物作为基因递送载体方面也取得了一定进展, 例如酯酶活化的电荷反向复合物 (esterase-responsive polyplex, ERP) 结合了聚合物和脂质基递送系统的优点, 可用于靶向癌症基因治疗。癌细胞具有较高的酯酶活性, ERP 能够对这种高活性产生特异性响应, 诱导聚合物快速水解和电荷逆转, 使复合物解离, 释放治疗基因 (编码肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体的 DNA), 该基因能够选择性地诱导癌细胞凋亡, 对成纤维细胞无毒性, 为靶向基因-化疗联合治疗提供了新范式<sup>[28]</sup>。

## 2.3 无机材料

无机材料在 DNA 递送领域展现出独特的应用潜力。以磷酸钙 (calcium phosphate, CaP) 法为例, 这是较早的化学转染方法之一, 其机制基于 CaP 与 DNA 形成难溶性沉淀复合物。当复合物被细胞摄取后, DNA 的负电荷得到中和, 从而有利于其进一步运输。同时, CaP 纳米颗粒因其化学组成与骨组织无机成分相似, 在骨发育研究和骨组织工程中具有重要价值。其不仅能作为成骨诱导材料, 还可作为 DNA 递送载体, 促进骨再生<sup>[29]</sup>。近年来, 研究人员通过将 CaP 纳米颗粒与 PEG 化双膦酸盐相结合, 构建了新型共递送系统, 成功实现了 DNA 与骨靶向分子的协同运输, 为骨相关疾病的联合治疗提供了新策略<sup>[30]</sup>。

在贵金属材料中, 金纳米颗粒凭借其高比表面积, 可通过物理吸附高效负载 DNA 分子。通过在其表面修饰抗体、多肽等生物配体, 可赋予其细胞特异性识别能力, 从而显著提高基因递送的靶向性。除金纳米颗粒外, 氧化铁纳米颗粒、二氧化硅纳米颗粒及碳纳米管等无机材料也广泛用于 DNA 递送系统的构建<sup>[31]</sup>。例如, 研究人员通过在氧化铁纳米颗粒表面包覆脂质层, 构建了磁响应基因递送平台, 该体系在外加磁场引导下可实现 DNA 和 siRNA 的定向输送。通过优化颗粒尺寸, 其递送效率由 34% 提高到 90%, 递送效率显著提升, 同时该系统兼具磁热疗功能, 并可

通过磁共振成像对治疗过程进行实时监测与疗效评估<sup>[32]</sup>。对二氧化硅纳米颗粒的研究表明,在其表面引入磷酸酯基团并包覆 PEI 涂层后,其 DNA 递送效率由 50% 左右提高到 70% 以上。这一改进主要得益于磷酸酯基团与 PEI 之间的强相互作用,不仅增强了 PEI 涂层的稳定性,还有助于促进复合物内体逃逸并提升 DNA 入核效率,从而优化基因表达效果<sup>[33]</sup>。

## 2.4 肽基载体

多肽作为 DNA 转运载体逐渐受到广泛关注,其阳离子电荷使其能够轻松与带负电荷的 DNA 形成稳定复合物。该类复合物不仅能有效促进细胞的摄取,还具备低免疫原性与低细胞毒性的优势,有利于降低临床应用风险。此外,多肽序列可通过模块化设计灵活整合多种功能单元,实现 DNA 缩合、细胞靶向、内体逃逸及核定位等递送过程的全流程精准调控<sup>[34]</sup>。例如,细胞穿膜肽可通过破坏细胞膜脂质双层的稳定性显著提升 DNA 的胞内递送效率;病毒源融合肽可模拟病毒膜融合机制以增强载体的跨膜能力;肿瘤穿透肽能特异性识别并靶向高表达受体的肿瘤细胞,减少对正常组织的脱靶损伤;而 pH 响应肽则可在内体酸性环境下促进载体逃逸,从而提高基因递送效率<sup>[35]</sup>。随着分子设计与合成技术的发展,工程化多肽载体不断优化升级,如将细胞穿膜肽修饰于 LNP 表面构建的自组装肽-LNP 复合体系,可协同增强细胞摄取与内体逃逸效率,显著提升下游基因表达水平<sup>[36]</sup>。

RALA 肽是由精氨酸 (arginine, R)、丙氨酸 (alanine, A)、亮氨酸 (leucine, L) 与 A 重复序列构成的两亲性阳离子多肽,通过优化其与 p53 pDNA 的氮/磷比例,可形成粒径均一、稳定性良好的纳米复合物。在具体应用研究中, RALA 肽/pDNA 复合物是典型的代表体系。实验结果显示,该复合物能够在肿瘤细胞内实现 p53 蛋白的高效表达,进而通过激活凋亡通路显著抑制肿瘤增殖<sup>[37]</sup>。另一项突破性研究将靶向肽共价偶联至生物可还原性聚合物骨架,构建了可特异性响应整合素  $\alpha 5 \beta 1$  的杂化载体。该体系不仅能精准识别高表达整合素  $\alpha 5 \beta 1$  的侵袭性结肠癌细胞,还可借助肿瘤微环境中高浓度谷胱甘肽触发的二硫键断裂,实现 DNA 的快速释放,在提升靶向递送效率的同时显著降低对正常细

胞的毒性,为实体瘤的精准基因治疗提供了新范式<sup>[38]</sup>。

## 2.5 糖基纳米粒子

糖基纳米载体凭借其天然来源特性、精准的分子识别能力及可调控的理化性质,在 DNA 递送领域占据重要地位。多糖分子的多羟基结构不仅能形成物理屏障保护 DNA 免受核酸酶降解,还可通过功能化修饰赋予载体 pH 响应性或溶酶体逃逸能力,从而优化 DNA 释放动力学。这类载体主要通过糖-受体特异性结合触发网格蛋白介导的内吞途径,显著提升 DNA 递送效率。例如,甘露糖修饰的纳米颗粒可靶向巨噬细胞表面高表达的甘露糖受体,实现基因载体的定向富集与高效内化<sup>[39]</sup>。常用的糖基纳米粒子包括壳聚糖、 $\beta$ -葡聚糖、环糊精等。

壳聚糖是一种天然衍生、生物相容且可生物降解的多糖聚合物,由于其阳离子性质,易与 DNA 形成复合物,在药物和基因传递领域具有广阔的应用前景。以壳聚糖为基础构建的纳米粒已被开发为靶向脑部疾病的 DNA 递送载体。研究选用 GFP 标记的 pDNA 作为报告基因,实验结果表明,该纳米系统在体外和体内对脑癌细胞的转染效率均优于常规化学转染试剂。且体内实验进一步证实该载体能够有效穿越血脑屏障,并在 Balb/c 小鼠脑实质内实现长达 72 h 的荧光蛋白持续表达,展现出其在治疗脑相关疾病方面的良好潜力<sup>[40]</sup>。

CD 是一类在药物和基因传递领域备受关注的糖基材料,其具有亲水的外表面和疏水的核心,能够与多种疏水性药物形成主客体复合物,从而显著提高药物的水溶性。这一特性使其在改善化疗药物和核酸的输送方面发挥了重要作用,不仅提高了治疗效果,还能减少不良反应<sup>[41]</sup>。例如, Ooi 等<sup>[42]</sup>开发了一种基于  $\beta$ -CD 的超分子体系,用于协同递送阿霉素和 p53 pDNA 治疗癌症。该系统通过主客体络合形成静电相互作用,有效提高了纳米颗粒的细胞摄取率。其中,  $\beta$ -CD 核负责包封阿霉素,连接的寡乙烯亚胺臂则促进 pDNA 的压缩。与单独使用阿霉素相比,阿霉素和 p53 pDNA 的联合递送在较低药物浓度下就能将细胞存活率由 80% 左右降低至 50% 左右,展现出更强的抗肿瘤效果。Li 等<sup>[43]</sup>报道了一种新型的基于

PEI-CD 的递送体系，用于递送低氧诱导因子（hypoxia-inducible factor, HIF）-1 $\alpha$  pDNA 治疗后肢缺血。在体外实验中，该系统显示出高效的基因转染能力，能够成功上调血管生成相关因子的表达，并显著改善缺血模型小鼠的局部血液灌注状况。

### 3 临床转化进展与瓶颈

#### 3.1 临床转化进展

目前全球已有多款 DNA 药物获批上市，但仅有 Neovasculgen、Collategene 和 ZyCoV-D 这 3 款产品未采用病毒载体技术。Neovasculgen 是由俄罗斯干细胞研究公司于 2011 年开发的血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）裸质粒 DNA 治疗药物，已在俄罗斯获批用于治疗由动脉粥样硬化引起的外周动脉缺血性疾病。Collategene 是日本 AnGes 公司开发的重组人肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor, HGF）裸质粒 DNA 治疗药物，在日本获得有条件上市批准，适用于阻塞性动脉粥样硬化和血栓栓塞性血管炎。此外，ZyCoV-D 的成功获批验证了 DNA 疫苗的

可行性，是 DNA 治疗发展中的重要里程碑<sup>[44]</sup>。

近年来，随着 LNP 等非病毒载体递送技术的快速发展与成熟，多款基于非病毒载体的 DNA 药物相继进入临床试验阶段，相关代表性进展总结见表 1。其中，采用 LNP 递送编码 TUSC2 的质粒 DNA 用于非小细胞肺癌的治疗已进入关键临床试验阶段，另一项采用 PEG-PEI-胆固醇递送编码 IL-12 的质粒 DNA 的研究目前也已进展至临床 II 期试验阶段<sup>[45]</sup>。此外，其他非病毒载体的临床前研究也取得了突破性进展，例如 Pharma Plc 公司正在开发的非病毒载体体内基因治疗药物 AP103，旨在通过人肺泡上皮细胞递送 VII 型胶原蛋白  $\alpha 1$  链（collagen type VII alpha 1 chain, COL7A）DNA 用于大疱性表皮松解症的临床前研究<sup>[46]</sup>，进一步展示了非病毒载体技术在遗传病治疗领域的应用潜力。

#### 3.2 不同载体临床转化所面临的挑战

尽管临床转化取得了一定的进展，但不同非病毒载体在制剂学特性、靶向优势和转化瓶颈方面存在显著差异，表 2 对此进行了系统总结以明确其发展现状与挑战。

表1 基于非病毒载体的DNA药物临床研究进展

Table 1. Progress in clinical research of DNA drugs based on non-viral vectors

药物	递送载体	DNA类别	适应证
Reqorsa	LNP	TUSC2质粒DNA	携带表皮生长因子受体基因突变的晚期、转移性或复发性非小细胞肺癌，且在接受奥希替尼治疗后出现疾病进展
JVRS-100	阳离子脂质体	质粒DNA	复发或难治性白血病
MnSOD	阳离子脂质体	MnSOD质粒DNA	预防非小细胞肺癌患者食管炎
BC-819/PEI	PEI	DTA-H19质粒DNA	对卡介苗治疗无效的浅表性膀胱癌
HIV-1疫苗	PEI	治疗HIV-1的质粒DNA	HIV
CYL-02	PEI	sst2质粒DNA	不可切除的局部晚期或转移性胰腺导管腺癌
EGEN-001	PEG-PEI-胆固醇	IL-12质粒DNA	复发性或持续性卵巢上皮癌、输卵管癌或原发性腹膜癌

注：TUSC2: 肿瘤抑制候选基因2 (tumor suppressor candidate 2)；MnSOD: 锰超氧化物歧化酶 (manganese superoxide dismutase)；DTA: 白喉素 (diphtheria)；HIV: 人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus)；sst2: 血清生长刺激表达基因2 (serum growth stimulation expressed gene 2)；IL: 白细胞介素 (interleukin)。

表2 不同非病毒载体在制剂学特性、靶向递送优势和转化瓶颈方面的差异

Table 2. Differences in formulation characteristics, targeted delivery advantages, and translational bottlenecks among different non-viral vectors

载体	核心制剂学特性	靶向递送优势	转化瓶颈
脂质载体	易于修饰，可规模化制备	天然高效肝靶向，内体逃逸能力强	体内循环时间短（约1~4 h），难以实现非肝器官递送
聚合物载体	可高效压缩与保护核酸，载药能力强	转染效率高，内体逃逸能力强	高细胞毒性，体内稳定性差
无机材料	性质稳定，易于化学修饰	诊疗一体化，一些无机材料（如碳酸钙）具有骨靶向性强	长期生物安全性不明，合成成本高（原料成本高，合成工艺精密，制备重复性差）
肽基载体	模块化设计，低免疫原性	递送过程的全流程精准调控	合成成本随肽链延长急剧增加，容易被蛋白酶降解
糖基纳米粒子	生物相容性好，受体识别特异性	内源性主动靶向	转染效率偏低，天然来源的材料批间差异性大

从优势与瓶颈的对比中，可以看出一个突出的矛盾，大多数载体在某一方面的优势往往伴随着另一方面的显著短板，尤其在效率与安全的平衡方面。例如，阳离子聚合物通过高密度的正电荷实现了高转染效率，然而这也是其高细胞毒性的主要来源。当前的研究正致力于通过电荷屏蔽（如 PEG 化）、引入刺激响应元件（如 pH 敏感键、酶敏感键）以及开发可降解的新型聚合物等策略，试图在保持其高效递送能力的同时，降低毒性，实现精准靶向和可控释放。LNP 肝靶向效率高，却难以实现非肝器官递送，但可通过化学结构精调（如支化尾部）、辅助组分替换（如糖脂）、蛋白冠靶向或表面配体修饰，改写其体内识别路径，实现精准非肝递送；无机材料可实现诊疗一体化，但其长期生物安全性不明，可通过超小尺寸设计（ $<5.5$  nm 以促进肾脏清除）、可降解结构构建（如磷酸钙）及表面涂层修饰（如 PEG），实现功能与安全性的统一。然而，上述策略虽在原理上试图调和“效率-安全”的矛盾，却往往陷入新的困境：载体设计越精巧，工艺越复杂，规模化生产的难度也随之显著增加。如何在多重功能修饰与制备可及性之间找到平衡点，已成为载体从实验室走向临床的关键“最后一公里”。

综合来看，非病毒 DNA 载体领域正处于一个关键突破期：各类载体虽已具备鲜明的技术特征与应用潜力，但尚未出现一种在高效、安全、精准、稳定、可规模化及成本可控等多个维度上全面满足临床需求的“完美”平台。

### 3.3 迈向产业化面临的系统性挑战

除单一载体的转化瓶颈外，当前非病毒载体在转化应用中仍面临一些共性问题。开发安全有效的基因递送载体，需全面理解遗传物质与载体的理化及生物学特性、靶细胞的生理状态，以及载体介导的转染在分子层面的作用机制。例如，不同靶细胞膜表面电荷的差异，为设计特异性修饰的非病毒载体以实现特定细胞的高效递送提供了研究空间。此外，安全性评估同样至关重要。尽管非病毒载体的免疫原性通常低于病毒载体，但其仍可能引发免疫反应，不容忽视。例如，已有研究表明壳聚糖能诱导小鼠树突状细胞、腹腔巨噬细胞及人外周血单核细胞产生 IL-1 $\beta$ <sup>[47]</sup>；二氧化硅纳米颗粒也会促使促炎细胞因子分泌增加，并激活巨噬细胞释放 IL-1 $\beta$ <sup>[48]</sup>。由于免疫毒

性取决于载体材料与细胞类型的相互作用，因此需对各类载体进行逐一评估。

另外，当前研究多集中于优化载体的尺寸、电荷、转染效率及细胞毒性等性能特征，但从产品开发角度出发的研究相对不足，尤其是制剂的物理化学稳定性。缓冲液离子强度、pH 值、冻融循环及储存温度等因素均可能影响纳米颗粒的稳定性、聚集行为及最终疗效。此外，DNA 治疗产品的稳定性指示分析技术尚不完善，相关表征工具亦有待发展<sup>[49]</sup>。

根据质量源于设计的原则，确立关键质量属性与关键工艺参数至关重要，这不仅有助于确保产品质量，也能加速产品开发进程<sup>[50]</sup>。由于非病毒 DNA 载体本身具有一定可变性，控制材料杂质并确保批次间一致性成为主要挑战。同时，在制定产品放行标准时，需明确产品属性与其安全性、有效性之间的科学关联。

## 4 结语

非病毒 DNA 载体已在基因治疗中展现出多样化的应用潜力，且临床转化步伐正在加快。然而，其进一步发展仍面临从转化效率、靶向精准性到规模化生产、稳定性质控及长期安全性评估等全链条的系统性挑战。未来，通过材料科学、纳米技术、生物学与工程学的深度融合，有望设计出更高效、安全、可控的新一代递送系统。人工智能（artificial intelligence, AI）驱动的纳米载体设计与筛选策略正成为突破当前递送瓶颈的重要方向。通过机器学习模型对 LNP 组分进行高通量虚拟筛选与性能预测，可显著缩短开发周期、降低实验成本，并实现对转染效率、组织分布等关键参数的精准调控<sup>[51-52]</sup>。同时，基于器官选择性靶向的新策略（如脾脏靶向、脂肪组织选择性递送）正在拓展非病毒载体的应用边界，通过对纳米材料表面化学、蛋白冠形成机制及器官微环境的深入理解，实现对特定细胞类型的精准识别与递送<sup>[53]</sup>。AI 技术与器官选择性递送策略的协同发展，有望推动非病毒基因疗法从“经验性设计”向“智能化、精准化设计”转变，最终惠及更广泛的患者群体。

### 参考文献

- 1 李硕蕾, 杨雪华, 毛楷凡, 等. 靶向肝外器官的核酸药物研

- 究进展及前景[J]. 食品与药品, 2024, 26(6): 596–603. [Li SL, Yang XH, Mao KF, et al. Progress and prospect of extrahepatic targeting nucleic acid drugs[J]. Food and Drug, 2024, 26(6): 596–603.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-979X.2024.06.023](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-979X.2024.06.023).
- 2 Wang B, Shen B, Xiang W, et al. Advances in the study of LNPs for mRNA delivery and clinical applications[J]. Virus Genes, 2024, 60(6): 577–591. DOI: [10.1007/s11262-024-02102-6](https://doi.org/10.1007/s11262-024-02102-6).
  - 3 冯世权, 于佳岐, 董德峻, 等. 超滤离心-HPLC法测定鲁索替尼固体脂质纳米粒的封装率[J]. 药学前沿, 2024, 28(4): 585–592. [Feng SQ, Yu JQ, Dong DJ, et al. Determination of encapsulation efficiency of ruxolitinib solid lipid nanoparticles by ultrafiltration centrifugation-HPLC method[J]. Frontiers in Pharmaceutical Sciences, 2024, 28(4): 585–592.] DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202406146](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202406146).
  - 4 龙泽纯, 刘阳, 谢向阳, 等. 血小板来源外泌体作为药物递送载体的研究进展[J]. 药学前沿, 2025, 29(4): 713–720. [Long ZC, Liu Y, Xie XY, et al. Research progress of platelet-derived exosomes as drug delivery carriers[J]. Frontiers in Pharmaceutical Sciences, 2025, 29(4): 713–720.] DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202412046](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202412046).
  - 5 Kim J, Eygeris Y, Ryals RC, et al. Strategies for non-viral vectors targeting organs beyond the liver[J]. Nat Nanotechnol, 2024, 19(4): 428–447. DOI: [10.1038/s41565-023-01563-4](https://doi.org/10.1038/s41565-023-01563-4).
  - 6 Han X, Zhang H, Butowska K, et al. An ionizable lipid toolbox for RNA delivery[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 7233. DOI: [10.1038/s41467-021-27493-0](https://doi.org/10.1038/s41467-021-27493-0).
  - 7 蔡心析. 负电荷修饰的阳离子纳米载体用于 mRNA 的递送研究[D]. 江苏镇江: 江苏大学, 2024. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10299-1024747536.htm>.
  - 8 Wang C, Pan C, Yong H, et al. Emerging non-viral vectors for gene delivery[J]. J Nanobiotechnol, 2023, 21(1): 272. DOI: [10.1186/s12951-023-02044-5](https://doi.org/10.1186/s12951-023-02044-5).
  - 9 Kumar R, Santa Chalarca CF, Bockman MR, et al. Polymeric delivery of therapeutic nucleic acids[J]. Chem Rev, 2021, 121(18): 11527–11652. DOI: [10.1021/acs.chemrev.0c00997](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00997).
  - 10 韦馨悦. 基于两性离子多肽的药物递送系统的构建及其在肿瘤联合治疗中的应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2016. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10335-1025011786.htm>.
  - 11 Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, et al. Engineering precision nanoparticles for drug delivery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(2): 101–124. DOI: [10.1021/acs.chemrev.0c00997](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00997).
  - 12 Gupta R, Badhe Y, Mitragotri S, et al. Permeation of nanoparticles across the intestinal lipid membrane: dependence on shape and surface chemistry studied through molecular simulations[J]. Nanoscale, 2020, 12(11): 6318–6333. DOI: [10.1039/C9NR09947F](https://doi.org/10.1039/C9NR09947F).
  - 13 宋雅荣. 具有细胞核靶向功能的纳米药物的构建及抗肿瘤效应研究[D]. 天津: 天津工业大学, 2025. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10058-1025811054.htm>.
  - 14 Qin B, Yuan X, Jiang M, et al. Targeting DNA to the endoplasmic reticulum efficiently enhances gene delivery and therapy[J]. Nanoscale, 2020, 12(35): 18249–18262. DOI: [10.1039/D0NR03156A](https://doi.org/10.1039/D0NR03156A).
  - 15 Li XY, Qizi COT, Khamis AM, et al. Nanotechnology for enhanced cytoplasmic and organelle delivery of bioactive molecules to immune cells[J]. Pharm Res, 2022, 39(6): 1065–1083. DOI: [10.1007/s11095-022-03284-0](https://doi.org/10.1007/s11095-022-03284-0).
  - 16 Zhu X, Huang G, Zeng C, et al. Structure of the cytoplasmic ring of the *Xenopus laevis* nuclear pore complex[J]. Science, 2022, 376(6598): eabl8280. DOI: [10.1126/science.abl8280](https://doi.org/10.1126/science.abl8280).
  - 17 Karmacharya M, Kumar S, Cho YK. Tuning the extracellular vesicles membrane through fusion for biomedical applications[J]. J Funct Biomater, 2023, 14(2): 117. DOI: [10.3390/jfb14020117](https://doi.org/10.3390/jfb14020117).
  - 18 Ewunkem AJ, Agee K. Optimization of transfection methods for human lymphoblast TK6 cell line[J]. Gene Protein Dis, 2023, 2(2): 0353. DOI: [10.36922/gpd.0353](https://doi.org/10.36922/gpd.0353).
  - 19 Bao X, Zeng J, Huang H, et al. Cancer-targeted PEDF-DNA therapy for metastatic colorectal cancer[J]. Int J Pharm, 2020, 576: 118999. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2019.118999](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118999).
  - 20 Tenchov R, Sasso JM, Zhou QA. PEGylated lipid nanoparticle formulations: immunological safety and efficiency perspective[J]. Bioconjugate Chem, 2023, 34(6): 941–960. DOI: [10.1021/acs.bioconchem.3c00174](https://doi.org/10.1021/acs.bioconchem.3c00174).
  - 21 Zhu Y, Shen R, Vuong I, et al. Multi-step screening of DNA/lipid nanoparticles and co-delivery with siRNA to enhance and prolong gene expression[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4282. DOI: [10.1038/s41467-022-31993-y](https://doi.org/10.1038/s41467-022-31993-y).
  - 22 Prazeres PHDM, Ferreira H, Costa PAC, et al. Delivery of plasmid DNA by ionizable lipid nanoparticles to induce CAR expression in T cells[J]. Int J Nanomed, 2023, 18: 5891–5904. DOI: [10.2147/IJN.S424723](https://doi.org/10.2147/IJN.S424723).
  - 23 Khawar MB, Afzal A, Si Y, et al. Steering the course of CAR T cell therapy with lipid nanoparticles[J]. J Nanobiotechnol, 2024, 22(1): 380. DOI: [10.1186/s12951-024-02630-1](https://doi.org/10.1186/s12951-024-02630-1).
  - 24 Algarni A, Pilkington EH, Suys EJA, et al. *In vivo* delivery of plasmid DNA by lipid nanoparticles: the influence of ionizable cationic lipids on organ-selective gene expression[J]. Biomater Sci, 2022, 10(11): 2940–2952. DOI: [10.1039/d2bm00168c](https://doi.org/10.1039/d2bm00168c).
  - 25 Van Den Berg AIS, Yun CO, Schifflers RM, et al. Polymeric delivery systems for nucleic acid therapeutics: approaching the clinic[J]. J Controlled Release, 2021, 331: 121–141. DOI: [10.1016/j.jconrel.2021.01.014](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.01.014).
  - 26 Mandal H, Katiyar SS, Swami R, et al.  $\epsilon$ -poly-L-lysine/plasmid DNA nanoplexes for efficient gene delivery *in vivo*[J]. Int J Pharm, 2018, 542(1–2): 142–152. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2018.03.021](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.03.021).
  - 27 Harguindey A, Domaille DW, Fairbanks BD, et al. Synthesis and assembly of click-nucleic-acid-containing PEG-PLGA nanoparticles for DNA delivery[J]. Adv Mater, 2017, 29(24): 1700743. DOI: [10.1002/adma.201700743](https://doi.org/10.1002/adma.201700743).
  - 28 Qiu N, Liu X, Zhong Y, et al. Esterase-activated charge-reversal polymer for fibroblast-exempt cancer gene therapy[J]. Adv Mater, 2016, 28(48): 10613–10622. DOI: [10.1002/adma.201603095](https://doi.org/10.1002/adma.201603095).
  - 29 Sun Z, Li W, Lenzo JC, et al. The potential of calcium phosphate nanoparticles as adjuvants and vaccine delivery vehicles[J]. Front

- Mater, 2021, 8: 788373. DOI: [10.3389/fmats.2021.788373](https://doi.org/10.3389/fmats.2021.788373).
- 30 Bisso S, Mura S, Castagner B, et al. Dual delivery of nucleic acids and PEGylated-bisphosphonates via calcium phosphate nanoparticles[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2019, 142: 142–152. DOI: [10.1016/j.ejpb.2019.06.013](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.06.013).
- 31 Mostafavi E, Zare H. Carbon-based nanomaterials in gene therapy[J]. OpenNano, 2022, 7: 100062. DOI: [10.1016/j.onano.2022.100062](https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100062).
- 32 Jiang S, Eltoukhy AA, Love KT, et al. Lipidoid-coated iron oxide nanoparticles for efficient DNA and siRNA delivery[J]. Nano Lett, 2013, 13(3): 1059–1064. DOI: [10.1021/nl304287a](https://doi.org/10.1021/nl304287a).
- 33 Cheng D, Theivendran S, Tang J, et al. Surface chemistry of spiky silica nanoparticles tailors polyethyleneimine binding and intracellular DNA delivery[J]. J Colloid Interface Sci, 2022, 628 (Pt B): 297–305. DOI: [10.1016/j.jcis.2022.08.038](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.08.038).
- 34 Hadianamrei R, Zhao X. Current state of the art in peptide-based gene delivery[J]. J Control Release, 2022, 343: 600–619. DOI: [10.1016/j.jconrel.2022.02.010](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.02.010).
- 35 Nam SH, Park J, Koo H. Recent advances in selective and targeted drug/gene delivery systems using cell-penetrating peptides[J]. Arch Pharmacol Res, 2023, 46(1): 18–34. DOI: [10.1007/s12272-023-01427-3](https://doi.org/10.1007/s12272-023-01427-3).
- 36 Ma H, Cao M. Designed peptide assemblies for efficient gene delivery[J]. Langmuir, 2022, 38(45): 13627–13634. DOI: [10.1021/acs.langmuir.2c02197](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02197).
- 37 Neves AR, Sousa A, Faria R, et al. Cancer gene therapy mediated by RALA/plasmid DNA vectors: nitrogen to phosphate groups ratio (N/P) as a tool for tunable transfection efficiency and apoptosis[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2020, 185: 110610. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2019.110610](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110610).
- 38 Lee YM, Lee D, Kim J, et al. RPM peptide conjugated bioreducible polyethyleneimine targeting invasive colon cancer[J]. J Control Release, 2015, 205: 172–180. DOI: [10.1016/j.jconrel.2015.01.020](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.01.020).
- 39 Thodikayil AT, Sharma S, Saha S. Engineering carbohydrate-based particles for biomedical applications: strategies to construct and modify[J]. ACS Appl Bio Mater, 2021, 4(4): 2907–2940. DOI: [10.1021/acsabm.0c01656](https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01656).
- 40 Khan IN, Navaid S, Waqar W, et al. Chitosan-based polymeric nanoparticles as an efficient gene delivery system to cross blood brain barrier: in vitro and in vivo evaluations[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(2): 169. DOI: [10.3390/ph17020169](https://doi.org/10.3390/ph17020169).
- 41 Saitani EM, Selianitis D, Pippa N, et al. Cyclodextrins-block copolymer drug delivery systems: from design and development to preclinical studies[J]. Nanotechnol Rev, 2024, 13(1): 20230204. DOI: [10.1515/ntrev-2023-0204](https://doi.org/10.1515/ntrev-2023-0204).
- 42 Ooi YJ, Wen Y, Zhu J, et al. Codelivery of doxorubicin and p53 gene by  $\beta$ -cyclodextrin-based supramolecular nanoparticles formed via host-guest complexation and electrostatic interaction[J]. Biomacromolecules, 2024, 25(5): 2980–2989. DOI: [10.1021/acs.biomac.4c00123](https://doi.org/10.1021/acs.biomac.4c00123).
- 43 Li J, Lu Z, Xu L, et al. Poly (ethyleneimine)-cyclodextrin-based cationic polymer mediated HIF-1 $\alpha$  gene delivery for hindlimb ischemia treatment[J]. ACS Appl Bio Mater, 2024, 7(2): 1081–1094. DOI: [10.1021/acsabm.3c01020](https://doi.org/10.1021/acsabm.3c01020).
- 44 Guan X, Pei Y, Song J, et al. DNA-based nonviral gene therapy—challenging but promising[J]. Mol Pharmaceutics, 2024, 21(2): 427–453. DOI: [10.1021/acs.molpharmaceut.3c00907](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.3c00907).
- 45 Dholakia J, Cohen AC, Leath III CA, et al. Development of delivery systems for local administration of cytokines/cytokine gene-directed therapeutics: modern oncologic implications[J]. Curr Oncol Rep, 2022, 24(4): 389–397. DOI: [10.1007/s11912-022-01221-3](https://doi.org/10.1007/s11912-022-01221-3).
- 46 Subramaniam KS, Antoniou MN, McGrath JA, et al. The potential of gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa[J]. Br J Dermatol, 2022, 186(4): 609–619. DOI: [10.1111/bjd.20910](https://doi.org/10.1111/bjd.20910).
- 47 Bueter CL, Lee CK, Wang JP, et al. Spectrum and mechanisms of inflammasome activation by chitosan[J]. J Immunol, 2014, 192(12): 5943–5951. DOI: [10.4049/jimmunol.1301695](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301695).
- 48 Pandey RK, Prajapati VK. Molecular and immunological toxic effects of nanoparticles[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 107: 1278–1293. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2017.09.110](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.110).
- 49 Crommelin DJA, Mastrobattista E, Hawe A, et al. Shifting paradigms revisited: biotechnology and the pharmaceutical sciences[J]. J Pharm Sci, 2020, 109(1): 30–43. DOI: [10.1016/j.xphs.2019.08.010](https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.08.010).
- 50 胡雪丹, 李菁, 孙敏捷. 质量源于设计与高端制剂的开发和质量控制[J]. 药学进展, 2024, 48(2): 134–142. [Hu XD, Li J, Sun MJ. Development and quality control of high-end pharmaceutical Preparations through quality by design[J]. Advances in Pharmaceutical Sciences, 2024, 48(2): 134–142.] DOI: [10.20053/j.issn1001-5094.2024.02.007](https://doi.org/10.20053/j.issn1001-5094.2024.02.007).
- 51 Witten J, Raji I, Manan RS, et al. Artificial intelligence-guided design of lipid nanoparticles for pulmonary gene therapy[J]. Nat Biotechnol, 2025, 43(11): 1790–1799. DOI: [10.1038/s41587-024-02490-y](https://doi.org/10.1038/s41587-024-02490-y).
- 52 Xu Y, Ma S, Cui H, et al. AGILE platform: a deep learning powered approach to accelerate LNP development for mRNA delivery[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 6305. DOI: [10.1038/s41467-024-50619-z](https://doi.org/10.1038/s41467-024-50619-z).
- 53 Lu X, Zhu Y, Wei C, et al. A multistep platform identifies spleen-tropic lipid nanoparticles for *in vivo* T cell-targeted delivery of gene-editing proteins[J]. Sci Ad, 2025, 11(43): eady5579. DOI: [10.1126/sciadv.ady5579](https://doi.org/10.1126/sciadv.ady5579).

收稿日期: 2026 年 01 月 19 日 修回日期: 2026 年 03 月 09 日  
本文编辑: 马琳璐 钟巧妮