DOI: 10.48305/jims.v41.i730.0658

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۳۰/هفته‌ی دوم مهر ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۰ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۶ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۲/۱۴

واکسن‌های مبتنی بر mRNA و کاربرد آن برای مقابله با بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها: یک مطالعه‌ی مروری

محمود فدائی[۱]، حسین خان احمد[۲]

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: طی چند دهه‌ی گذشته، تلاش‌های بسیاری برای توسعه‌ی داروهای مبتنی بر mRNA صورت گرفت که ماحصل آن پیشرفت یک ایده‌ی خام و تبدیل آن به یک واقعیت بالینی بود. پس از همه‌گیری کووید-۱۹ سریع‌ترین توسعه واکسن در تاریخ ثبت شد که در این بین واکسن‌های mRNA در خط مقدم این تلاش‌ها قرار داشتند.

روش‌ها: با جستجو در پایگاه‌های ISI Web of Science، Science Direct، Scopus، PubMed و Google Scholar و استفاده از کلیدواژه‌های (mRNA vaccine, Cancer, Infectious disease) و مترادف‌های آن‌ها مقالات مناسب وارد مطالعه‌ی حاضر شد.

یافته‌ها: در این مطالعه‌ی مروری، فناوری‌هایی که زیربنای واکسن‌های mRNA هستند، با تأکید بر نانوذرات لیپیدی و سایر حامل‌های تحویل غیر ویروسی توصیف شده‌اند. همچنین پیشرفت‌های بالینی در درمان با واکسن‌های مبتنی بر mRNA برای مقابله با بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها مرور شده و یک نمای کلی و چشم‌انداز از آینده در ارتباط با فناوری تحول‌آفرین پشت این نوع واکسن‌ها ارائه شده است.

نتیجه‌گیری: اگرچه اکنون واضح است که واکسن‌های mRNA می‌توانند به سرعت و با ایمنی مناسب از بیماران در برابر بیماری‌های عفونی محافظت کنند، همچنان تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی طراحی mRNA، تحویل درون سلولی و کاربردهای فراتر از پیشگیری SARS-CoV-2 مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: واکسن مبتنی بر mRNA؛ نانوذرات لیپیدی؛ بیماری‌های عفونی؛ کووید-۱۹؛ سرطان

ارجاع: فدائی محمود، خان احمد حسین. **واکسن‌های مبتنی بر mRNA و کاربرد آن برای مقابله با بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها: یک مطالعه‌ی مروری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۳۰): ۶۷۳-۶۵۸

مقدمه

در اواخر سال ۱۹۸۷ رابرت مالون آزمایشی مهم را انجام داد. طی این آزمایش او رشته‌های mRNA را با قطرات چربی مخلوط کرد تا نوعی خورش مولکولی ایجاد کند. سلول‌های انسانی غوطه ور شده در این خورش ژنتیکی mRNA را جذب کرده و شروع به تولید پروتئین از آن کردند. مالون با درک اینکه این کشف ممکن است پتانسیل گسترده‌ای در پزشکی داشته باشد، بعداً یادداشت‌هایی به همراه امضا و تاریخ ثبت کرد. او در ۱۱ ژانویه ۱۹۸۸ نوشت، اگر سلول‌ها بتوانند پروتئین‌هایی را از mRNA تحویل داده شده به خود بسازند، شاید بتوان به کمک RNA به عنوان یک دارو برای بیماری‌های مختلف تداخلات درمانی صورت گیرد. در اواخر همان سال آزمایش‌های مالون نشان داد که جنین‌های قورباغه چنین mRNA را جذب می‌کنند. این اولین بار بود که کسی از قطرات چربی برای تسهیل انتقال mRNA به یک موجود زنده استفاده کرد (۱). این آزمایش‌ها پله‌ای به سوی دو مورد از مهم‌ترین و سودآورترین واکسن‌های تاریخ بود؛ واکسن‌های مبتنی بر mRNA برای کووید-۱۹ که به صدها میلیون نفر در سراسر جهان داده شد.

اما مسیر موفقیت برای تولید چنین واکسنی مستقیم نبود. برای سال‌ها پس از آزمایش‌های مالون، که خود بر اساس کار محققان دیگر انجام شده بود، mRNA آنقدر ناپایدار و گران بود که نتواند به عنوان دارو یا واکسن استفاده شود. ده‌ها آزمایشگاه و شرکت دانشگاهی روی این ایده کار کردند و برای یافتن فرمول مناسب چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک، اجزای سازنده‌ی واکسن‌های mRNA، در تلاش بودند. تکنولوژی امروزی دارای نوآوری‌هایی هستند که سال‌ها پس از زمان مالون در آزمایشگاه اختراع شدند، از جمله RNA اصلاح شده‌ی

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

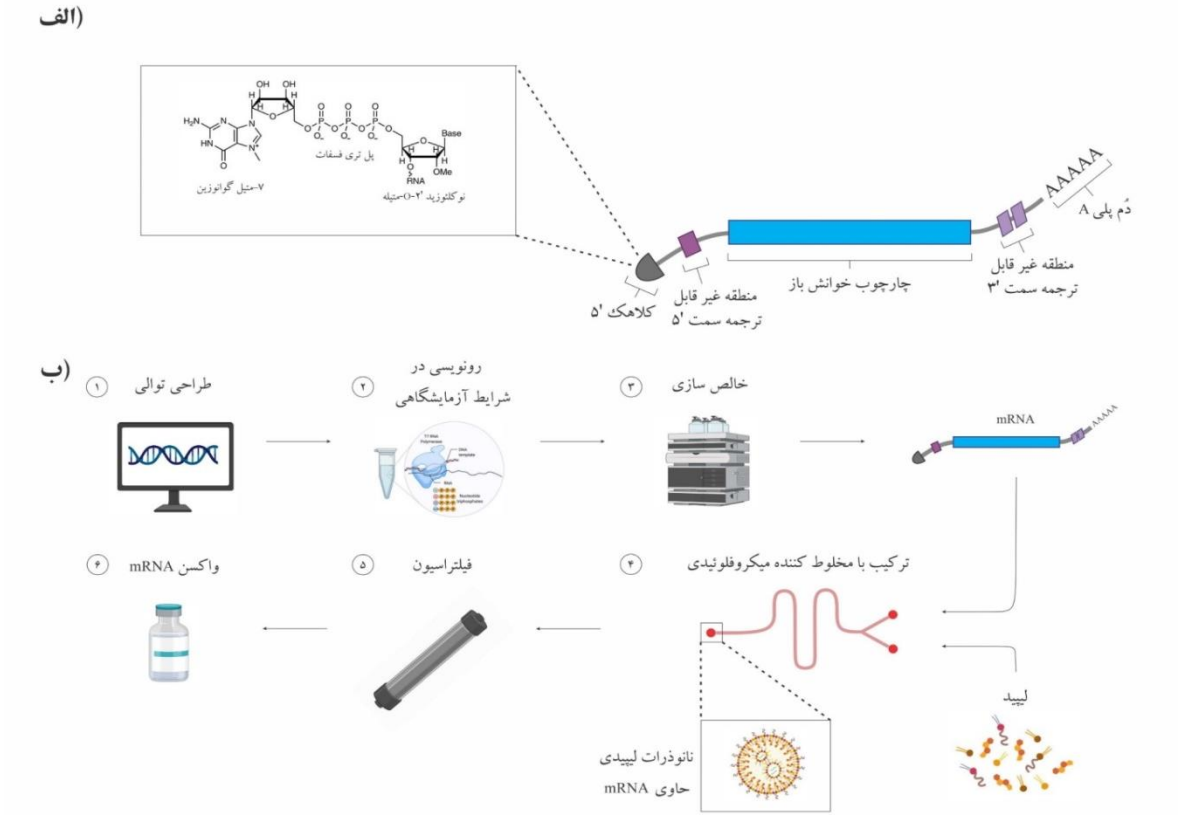
نویسنده‌ی مسؤول: حسین خان احمد: استاد، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: h_khanahmad@med.mui.ac.ir

شیمیایی و انواع مختلف حباب‌های چربی برای انتقال آن‌ها به سلول‌ها. در حقیقت مسیر رسیدن به واکسن‌های mRNA بر اساس کار صدها محقق در بیش از ۳۰ سال است (۱).

اصول طراحی و سنتز mRNA

واکسن‌های مبتنی بر mRNA شامل مولکول‌های mRNA سنتز شده هستند که در نهایت منتهی به تولید آنتی‌ژن ایجادکننده‌ی پاسخ ایمنی می‌شود. mRNA رونویسی شده در آزمایشگاه (in vitro transcribed) از ساختار mRNA طبیعی تقلید می‌کند که به ترتیب از سمت '۵ به '۳ شامل پنج بخش می‌باشد: کلاهک '۵، مناطق غیرقابل ترجمه سمت '۵ (5′ UTR)، یک چارچوب خوانش باز (Open reading frame, ORF) کد کننده‌ی آنتی‌ژن، مناطق غیرقابل ترجمه سمت '۳ و دُم پلی A (شکل ۱). RNA به راحتی با رونویسی آزمایشگاهی با استفاده از اجزای سیستم‌های باکتریوفاژ سنتز می‌شود. سیستم‌های پرکاربرد در این رابطه سیستم‌های T3، T7 و SP6 هستند. RNA پلیمراز فاژی یک زیرواحد منفرد با وزن مولکولی حدود ۱۰۰ کیلو دالتون است که برای توالی پروموتر ۲۳ جفت بازی خود بسیار اختصاصی است. با این دو جزء ساده، می‌توان رونوشت‌هایی در اندازه‌های کمتر از ۳۰ نوکلئوتید تا بیش از 10^4 نوکلئوتید را در مقیاس‌هایی از میکروگرم تا میلی‌گرم تهیه کرد. این روش بر اساس مهندسی یک الگو است که شامل یک توالی پروموتر باکتریوفاژ (به عنوان مثال از فاژ T7) در بالادست توالی مورد نظر و سپس رونویسی با استفاده از RNA پلیمراز مربوطه است (۲).



شکل ۱. mRNA رونویسی شده در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از یک خط تولید بدون نیاز به سلول درون نانوذرات لیپیدی فرموله می‌شود. (الف) mRNA رونویسی شده در آزمایشگاه حاوی پنج عنصر ساختاری است: یک کلاهک '۵ حاوی ۷-متیل گوانوزین که از طریق یک پل تری فسفات به یک نوکلئوزید ۲-O-متیله متصل شده، نواحی UTRهای '۵ و '۳، یک ORF و یک دُم پلی A. (ب) mRNA به صورت مصنوعی تولید و به واکسن فرموله می‌شود. (۱) هنگامی که ژنوم یک پاتوژن توالی یابی شد، یک توالی برای آنتی‌ژن هدف طراحی شده و در ساختار DNA پلاسمیدی قرار داده می‌شود. (۲) DNA پلاسمیدی توسط پلیمرازهای باکتریوفاژ در شرایط آزمایشگاهی به mRNA رونویسی می‌شود و (۳) رونوشت‌های mRNA توسط کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (High performance liquid chromatography) با حذف آلاینده‌ها و واکنش‌دهنده‌ها خالص می‌شوند. (٤) mRNA خالص با لیپیدها در یک مخلوط‌کننده‌ی میکروفلوئیدی ترکیب می‌شود تا نانوذرات لیپیدی تشکیل شود. مخلوط شدن سریع باعث می‌شود که لیپیدها به صورت آنی mRNA را در خود محصور و سپس رسوب کنند. (۵) محلول نانوذرات دیالیز یا فیلتر می‌شود تا حلال‌های غیر آبی و هر گونه mRNA کپسوله نشده حذف شود و (٦) محلول واکسن mRNA فیلتر شده در ویال‌های استریل شده ذخیره می‌شود.

نوع mRNA خود تکثیرشونده، علاوه بر این پنج بخش حاوی ژن‌های رپلیکاز است که RNA پلیمراز وابسته به RNA را کد می‌کند. این پلیمراز مشتق شده از ویروس، رونوشت‌های mRNA را به صورت داخل سلولی تکثیر کرده و بیان مقادیر زیادی آنتی‌ژن را با ژن‌های کاهش یافته‌ی mRNA ممکن می‌سازد (۳). ساختار کلاهک '۵، مانند mRNAهای یوکاریوتی طبیعی، حاوی یک نوکلئوزید ۷-متیل گوانوزین است که از طریق یک پل تری فسفات به انتهای '۵ mRNA متصل می‌شود. همانند پستانداران نوکلئوتید اول یا دوم از انتهای '۵ بر روی '۲ هیدروکسیل ریبوز متیله می‌شود، که از تشخیص RNA ویروس توسط حسگرهای سیتوزولی جلوگیری می‌کند و از این‌رو مانع پاسخ‌های ایمنی ناخواسته می‌شود (٤). علاوه بر این، کلاهک '۵ در برابر تخریب توسط اگزونوکلئازها از mRNA محافظت کرده و در کنار دُم پلی A، پروتئین‌های اتصال‌دهنده‌ی پلی A و فاکتورهای پروتئینی شروع ترجمه باعث حلقوی شدن mRNA و فراخوانی ریبوزوم‌ها برای شروع ترجمه می‌شود (٤، ٥). طول دُم پلی A به طور غیرمستقیم هم ترجمه mRNA و هم نیمه عمر آن را تنظیم می‌کند. یک دُم به اندازه‌ی کافی بلند (۱۵۰–۱۰۰ جفت باز) برای برهمکنش با پروتئین‌های اتصال‌دهنده‌ی پلی A و ایجاد کمپلکس‌های لازم برای شروع ترجمه و محافظت از کلاهک در برابر تخریب توسط آنزیم‌ها، ضروری است (٦).

UTRهای '۵ و '۳ که در کنار منطقه کدکننده قرار دارند، ترجمه mRNA، نیمه عمر و قرارگیری درون‌سلولی را تنظیم می‌کنند (۷). UTRهای طبیعی از ژن‌های با بیان بالا، مانند ژن‌های آلفا و بتا گلوبین، برای mRNAهای سنتز شده ترجیح داده می‌شوند (۸). با این حال از آن‌جا که عملکرد UTR می‌تواند بر اساس نوع سلول متفاوت باشد، توالی‌های جایگزین آن می‌توانند استفاده شوند که برای کاربرد و هدف سلولی مورد نظر بهینه شده باشند. این توالی‌های مهندسی شده UTR با حذف سایت‌های اتصال به miRNA و مناطق غنی از AU در ′3 UTR، تخریب mRNA را به حداقل می‌رسانند. علاوه بر این، آن‌ها مناطقی را که از اسکن رونوشت mRNA توسط ریبوزوم‌ها جلوگیری می‌کنند، مانند توالی‌های با ساختار ثانویه (به عنوان مثال ساختار سنجاق سری) در ′5 UTR به حداقل می‌رسانند (۹).

ORF واکسن mRNA مهم‌ترین جزء آن است زیرا حاوی توالی کدکننده‌ای است که به پروتئین ترجمه می‌شود. اگرچه ORF به اندازه‌ی نواحی غیر کدکننده تغییرپذیر نیست، اما می‌توان آن را برای افزایش ترجمه بدون تغییر توالی پروتئین با جایگزین کردن کدون‌های نادر با کدون‌های متداول‌تر کدکننده‌ی همان اسید آمینه بهینه کرد. به عنوان مثال شرکت داروسازی زیستی CureVac AG کشف کرد که کدون‌های mRNA انسانی به ندرت دارای A یا U در موقعیت سوم هستند و راهبردی را به ثبت رساند که A یا U را در موقعیت سوم در ORF با G یا C جایگزین می‌کند (۱۰). CureVac از این استراتژی بهینه‌سازی برای واکسن SARS-CoV-2 خود (با نام CVnCoV)، که اکنون در مرحله‌ی آزمایشی فاز III است، استفاده کرد. اگرچه جایگزینی کدون‌های کمیاب یک استراتژی بهینه‌سازی جذاب است، اما باید با احتیاط از آن استفاده نمود. این به دلیل آن است که در مورد برخی از پروتئین‌ها، سرعت ترجمه آهسته‌تر برای کدون‌های نادر در تاخوردگی مناسب پروتئین ضرورت دارد (۱۱) (شکل ۱).

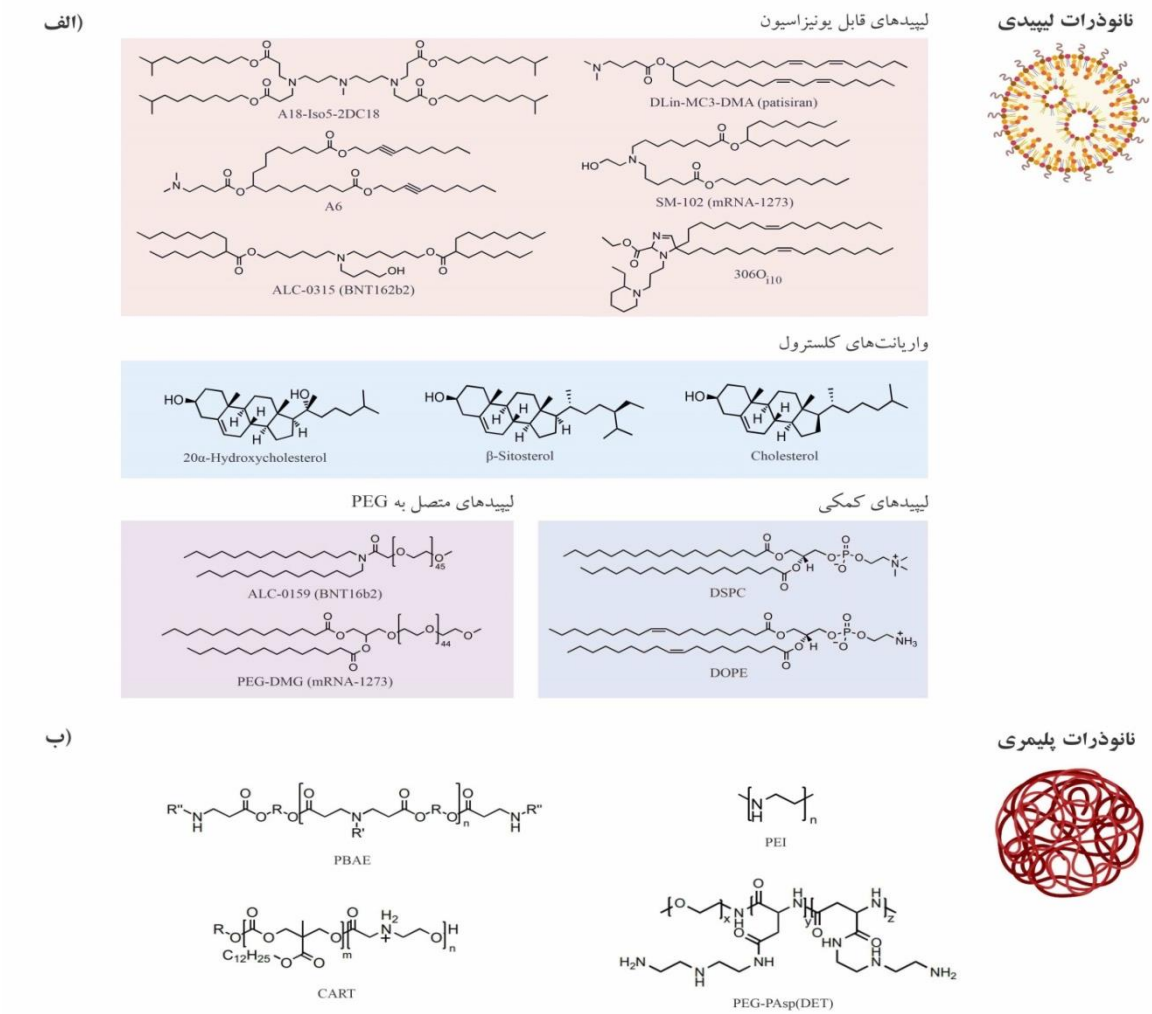
برای به حداکثر رساندن ترجمه، توالی mRNA معمولاً نوکلئوزیدهای اصلاح شده مانند سودویوریدین، N1–متیل سودویوریدین یا سایر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی را در خود جای می‌دهد (۱۲). از آن‌جایی که همه‌ی mRNAهای طبیعی شامل نوکلئوزیدهای اصلاح شده هستند، سیستم ایمنی به گونه‌ای تکامل یافته است که RNA تک رشته‌ای اصلاح نشده را که مشخصه عفونت ویروسی است، غیر خودی تشخیص می‌دهد. به طور خاص mRNA اصلاح نشده توسط گیرنده‌های تشخیص الگو (Pattern recognition receptors)، مانند TLR3، TLR7 و TLR8 شناسایی می‌شود. گیرنده‌های TLR7 و TLR8 به مناطق غنی از گوانوزین یا یوریدین در mRNA متصل می‌شوند و باعث تولید اینترفرون‌های نوع ۱ مانند IFN-α شده که می‌توانند از ترجمه‌ی mRNA جلوگیری کنند (۱۳). هر دو واکسن مدرنا (Moderna) و فایزر–بیونتک (Pfizer-BioNTech) برای SARS-CoV-2 که در آزمایش‌های بالینی فاز سه کارآیی بیش از ۹٤ درصد داشتند، حاوی mRNAهای اصلاح شده با نوکلئوزید هستند (۱٤). استراتژی دیگر برای جلوگیری از تشخیص توسط گیرنده‌های تشخیص الگو، که توسط CureVac بکار گرفته شده است، از مهندسی توالی و بهینه‌سازی کدون برای تخلیه‌ی یوریدین‌ها با افزایش محتوای گوانین و سیتوزین واکسن مبتنی بر mRNA استفاده می‌کند (۱۵).

علاوه بر بهبود توالی mRNA، پیشرفت‌های قابل توجهی نیز برای ساده‌سازی تولید mRNA صورت گرفته است. mRNA سنتز شده مورد استفاده‌ی بالینی در شرایط آزمایشگاهی از یک DNA پلاسمیدی با استفاده از RNA پلیمراز باکتریوفاژ T7 رونویسی می‌شود (پلیمرازهای T3 و SP6 نیز می‌توانند استفاده شوند). به این mRNA به صورت همزمان با رونویسی کلاهک '۲-O-متیله اضافه می‌شود (CleanCap، توسعه یافته توسط TriLink BioTechnologies) و برای حذف آلاینده‌های RNA دو رشته‌ای، واکنش‌دهنده‌ها و رونوشت‌های ناقص خالص‌سازی صورت می‌گیرد (۱٦). روش‌های دیگر کلاهک را پس از رونویسی با استفاده از واکنش آنزیم‌های capping و '۲-O-متیل ترانسفراز مشتق شده از ویروس واکسینیا اضافه می‌کنند. دُم پلی A در DNA الگو

کدگذاری شده است که زمان کلی تولید و از دست دادن مواد را کاهش می‌دهد (۱۷). گنجاندن دُم پلی A در DNA پلاسمیدی همچنین بر تنوع طول دُم ناشی از پلی آدنیلاسیون آنزیمی با استفاده از پلی A پلیمراز غلبه می‌کند. دُم‌های پلی A بیش از ۱۰۰ جفت باز برای mRNAهای درمانی بهینه هستند. با این حال توالی‌های DNA که این رشته‌های طولانی پلی A را کد می‌کنند، می‌توانند DNAهای پلاسمیدی مورد استفاده برای رونویسی را بی‌ثبات کنند. یک راه‌حل برای غلبه بر این مشکل، گنجاندن یک لینکر کوتاه UGC در دُم پلی A است (۱۸). واکسن فایزر علیه SARS-CoV-2 از این استراتژی استفاده می‌کند. این نوآوری‌ها در کنار هم بر چالش‌های قابل توجهی در تولید واکسن غلبه کرده و باعث تسهیل توسعه‌ی یک فرایند سنتز mRNA یک مرحله‌ای ساده، مقرون به صرفه و منعطف شده‌اند.

حامل‌های تحویل mRNA واکسن‌ها

از آن‌جایی که mRNA بزرگ (10^4–10^6 دالتون) و دارای بار منفی است، نمی‌تواند از دولایه لیپیدی آنیونی غشای سلولی عبور کند. علاوه بر این، در داخل بدن توسط سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی احاطه شده و توسط نوکلئازها تخریب می‌شود. تکنیک‌های مختلف از جمله الکتروپوریشن، تفنگ‌های ژنی و ترانسفکشن ex vivo می‌توانند mRNA را به داخل سلول در شرایط آزمایشگاهی تحویل دهند (۱۲). با این حال کاربرد درون‌تنی به استفاده از ناقل‌های تحویل mRNAای نیاز دارد که سلول‌های ایمنی را بدون ایجاد سمیت یا ایمنی‌زایی ناخواسته ترانسفکت کنند (شکل ۲). خوشبختانه تعدادی راه‌حل مبتکرانه مبتنی بر مواد مختلف برای این منظور توسعه یافته است که دو گروه اصلی آن‌ها در ادامه معرفی شده است.



شکل ۲. همه‌ی ناقل‌های تحویل mRNA حاوی مولکول‌های کاتیونی یا قابل یونیزاسیون هستند. a) نانوذرات لیپیدی mRNA را در هسته‌ی خود محصور می‌کنند. آن‌ها از چهار جزء تشکیل شده‌اند: لیپیدهای قابل یونیزاسیون مانند DLin-MC3-DMA، SM-102، ALC-0315، A18-Iso5-2DC18، A6 و $306O_{i10}$؛ کلسترول یا انواع آن، بتا-سیتوسترول و ۲۰آلفا-هیدروکسی کلسترول؛ لیپیدهای کمکی مانند DSPC و DOPE؛ و لیپیدهای متصل به PEG، مانند ALC-0159 و PEG-DMG. b) پلیمرها مانند PEI، PBAE، PEG-PAsp (DET) و CART کمپلکس‌های پلیمر-mRNA را تشکیل می‌دهند (۱۰).

الف- نانوذرات بر پایه‌ی لیپید: نانوذرات لیپیدی از نظر بالینی پیشرفته‌ترین ناقل‌های mRNA هستند. همه‌ی mRNA واکسن‌های SARS-CoV-2 در حال توسعه یا تأیید شده برای استفاده‌ی بالینی از ژوئن ۲۰۲۱، از نانوذرات لیپیدی (Lipid nanoparticles) استفاده می‌کنند. نانوذرات لیپیدی مزایای بی‌شماری، از جمله سهولت فرمولاسیون، زیست‌سازگاری و ظرفیت بارگذاری بالا را برای تحویل mRNA ارائه می‌دهند. جدای از داروی از جنس RNA، نانوذرات لیپیدی معمولاً شامل چهار جزء هستند که هر کدام در زیر توضیح داده شده است: یک لیپید قابل یونیزاسیون، کلسترول، یک فسفولیپید کمکی و یک لیپید متصل به PEG که باهم mRNA شکننده را کپسوله کرده و محافظت می‌کنند (۱۹). لیپید کاتیونی DOTMA و آنالوگ سنتزی آن DOTAP اولین لیپیدهایی بودند که mRNA را در سال ۱۹۸۹ تحویل دادند. آمین‌های با بار مثبت در این لیپیدها کپسوله کردن RNA با بار منفی را تسهیل می‌کند. بسیاری از لیپیدهای کاتیونی دیگر نیز از آن زمان تابه حال برای تحویل RNA استفاده شده‌اند، از جمله لیپوفکتامین (۲۰). متأسفانه، اگرچه لیپیدهای کاتیونی در تحویل mRNA بسیار مؤثر هستند، اما پاسخ‌های سمی پیش آپوپتوتیک و پیش‌التهابی را نیز تحریک می‌کنند (۲۱). در ادامه لیپیدهای قابل یونیزاسیون برای غلبه بر این مسائل ایجاد شدند. این لیپیدها هنگامی که در pH فیزیولوژیک به جریان خون تزریق می‌شوند خنثی هستند، که ایمن بودن آن‌ها را بهبود بخشیده و زمان گردش در خون برای آن‌ها در مقایسه با لیپیدهای کاتیونی افزایش می‌یابد. لیپیدهای قابل یونیزاسیون با mRNA در بافر اسیدی به صورت نانوذرات فرموله می‌شوند به طوری که لیپیدها دارای بار مثبت بوده و محموله‌ی RNA را جذب می‌کنند. علاوه بر این، آن‌ها در محیط اسیدی داخل اندوزوم‌ها دارای بار مثبت هستند که باعث همجوشی آن‌ها با غشای اندوزومی و آزادسازی آن‌ها در سیتوپلاسم می‌شود (۲۲، ۲۳). 1,2-dioleoyl-3-dimethylammonium propane (DODAP) و 1,2-dioleyloxy-3-dimethylaminopropane (DODMA) اولین لیپیدهای قابل یونیزاسیون بودند که برای تحویل RNA مورد استفاده قرار گرفتند. تلاش برای افزایش کارایی DODMA از طریق طراحی منطقی (Rational design) منجر به ایجاد DLinDMA و در نهایت DLin-MC3-DMA شد. دومی به عنوان لیپید قابل یونیزاسیون در اولین فرمولاسیون نانوذرات لیپیدی مورد تایید سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا تاریخ ساز شد: داروی patisiran (یک داروی Small interfering RNA یا siRNA) (۲۴). علاوه بر انتقال قدرتمند و ایمن siRNA، DLin-MC3-DMA برای تحویل mRNA نیز استفاده شده است (۲۵).

اگرچه رویکرد طراحی منطقی (یک استراتژی برای ایجاد مولکول‌های جدید با عملکرد خاص بر اساس توانایی پیش‌بینی چگونگی تأثیر ساختار مولکول بر عملکرد آن) لیپید در زمینه‌های خاص موفق بوده است، اما نسبتاً کند است. برای تسریع در کشف مواد، بسیاری از گروه‌ها در دانشگاه و صنعت از طرح‌های واکنش ترکیبی (Combinatorial reaction schemes) برای سنتز کتابخانه‌های بزرگ مواد دارای پتانسیل برای تحویل استفاده کرده‌اند. این رویکرد لیپیدهای قوی متعددی از جمله C12-200، $503O_{13}$، $306O_{i10}$، OF-02، TT3، 5A2-SC8، SM-102 (مورد استفاده در واکسن مدرنا mRNA-1273 علیه SARS-CoV-2) و ALC-0315 (مورد استفاده در واکسن فایزر–بیونتک BNT162b2) را تولید کرده است (۱۴، ۲۶).

اگرچه لیپیدهای قابل یونیزاسیون، مسلماً مهم‌ترین جزء نانوذرات لیپیدی هستند، سه جزء چربی دیگر یعنی کلسترول، لیپید کمکی و لیپید متصل شده به PEG نیز باعث تشکیل و عملکرد نانوذرات می‌شوند. کلسترول، یک لیپید طبیعی، با پر کردن شکاف بین لیپیدها، پایداری نانوذرات را افزایش می‌دهد و به همجوشی با غشای اندوزومی در طول ورود به سلول کمک می‌کند (۲۷).

لیپیدهای کمکی سیالیت نانوذرات را تنظیم کرده و کارآیی را با کمک به همجوشی غشاء با اندوزوم افزایش می‌دهند. انتخاب یک لیپید کمکی بهینه به مواد لیپیدی قابل یونیزاسیون و محموله RNA بستگی دارد. به عنوان مثال برای مواد لیپیدوئیدی، لیپیدهای کمکی اشباع (به عنوان مثال DSPC) در تحویل RNAهای کوتاه (به عنوان مثال siRNA) و لیپیدهای غیر اشباع (مثلاً DOPE) برای تحویل mRNA بهترین هستند. با این حال، DSPC در واکسن‌های mRNA-1273 و BNT162b2 تأیید شده توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا گنجانده شده است. این امکان وجود دارد که DSPC از DOPE برای این لیپیدهای قابل یونیزاسیون بهتر عمل کند. مطالعه‌ی لیپیدهای کمکی به طراحی لیپیدهای غیراشباع قابل یونیزاسیون قوی، مانند A6 و 4A3-Cit که همجوشی وزیکول را افزایش می‌دهند و لیپیدهای zwitterionic، مانند 9A1P9 که فرار اندوزومی را بهبود می‌بخشد، منجر شد (۲۸). علاوه بر قابلیت بهبود همجوشی غشاء، لیپیدهای کمکی بر اختصاصیت هدف‌گیری اندام مورد نظر نیز تأثیر می‌گذارند؛ لیپیدهای کاتیونی فرمولاسیون‌های هدفمند برای کبد را با تغییر هدف به سمت ریه‌ها هدایت می‌کنند، در حالی‌که لیپیدهای آنیونی آن‌ها را به سمت طحال هدایت می‌کنند (۲۹، ۳۰).

جزء لیپیدی متصل شده به PEG در نانوذرات لیپیدی شامل پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) است که به یک لنگر لیپیدی مانند DMPE یا DMG کونژوگه شده است. پلی اتیلن گلیکول آبدوست نانوذرات

لیپیدی را پایدار می‌کند، اندازه نانوذرات را با محدود کردن همجوشی لیپیدی تنظیم می‌کند و با کاهش برهمکنش‌های غیر اختصاصی با ماکروفاژها، نیمه عمر نانوذرات را افزایش می‌دهد (۳۱). هم وزن مولکولی پلی اتیلن گلیکول و هم طول لنگر لیپیدی را می‌توان تنظیم کرد تا کارآیی، زمان گردش خون و جذب سلول‌های ایمنی را بسته به کاربرد تغییر دهد. وزن مولکولی پلی‌اتیلن گلیکول می‌تواند از ۳۵۰ تا ۳۰۰۰ دالتون و طول دُم لنگر لیپیدی می‌تواند از ۱۰ تا ۱۸ کربن متغیر باشد. وزن‌های مولکولی بزرگ‌تر و طول‌های بیشتر منجر به نانوذرات با زمان گردش طولانی‌تر و کاهش جذب توسط سلول‌های ایمنی می‌شوند (۳۲، ۳۳) (شکل ۲).

ب- پلی‌پلکس‌ها و نانوذرات پلیمری: اگرچه از نظر بالینی کمتر از نانوذرات لیپیدی پیشرفته هستند، اما پلیمرها مزایای مشابهی داشته و می‌توانند به طور مؤثر mRNA را تحویل دهند (۳٤). پلیمرهای کاتیونی اسیدهای نوکلئیک را متراکم کرده و کمپلکس‌هایی به نام پلی‌پلکس (Polyplex) را ایجاد می‌کنند که اشکال و اندازه‌های مختلفی داشته و می‌توانند توسط اندوسیتوز به داخل سلول‌ها وارد شوند. مکانیسم‌هایی که توسط آن پلی‌پلکس‌ها از اندوزوم‌ها فرار می‌کنند نامشخص هستند. یک مکانیسم ممکن این است که بافرینگ پروتون توسط پلیمر منجر به تورم اسمزی و پارگی اندوزوم‌ها می‌شود (فرضیه‌ی اسفنج پروتون یا Proton sponge) (۳۵، ۳٦).

پلی‌اتیلن ایمین PEI (Polyethylenimine) پرکاربردترین پلیمر مورد مطالعه برای تحویل اسید نوکلئیک است. اگرچه کارآیی آن عالی است، اما کاربرد آن به دلیل سمیت ناشی از چگالی بار بالای آن محدود شده است (۳۷). استفاده از ترکیب با وزن مولکولی پایین، مشارکت PEG در فرمولاسیون، کونژوگه شدن به سیکلودکسترین و پیوند دی سولفید می‌تواند سمیت پلی‌اتیلن ایمین را کاهش دهد (۱۰). علاوه بر این، چندین پلیمر زیست تخریب‌پذیر جایگزین توسعه یافته‌اند که سمیت کمتری دارند. به عنوان مثال، پلی (بتا-آمینو استر)ها که در تحویل mRNA به ویژه به ریه برتری دارند (۳۸). از آن‌جا که آن‌ها به راحتی توسط واکنش Michael (به دسته‌ای از واکنش‌های پرکاربرد در تشکیل پیوندهای کربن-کربن گویند که شامل پروتون‌گیری از ترکیب کربونیل آلفا-بتا بوسیله یک باز است) سنتز می‌شوند، کتابخانه‌های پلی (بتا-آمینو استر) بزرگ ایجاد شده‌اند که مطالعات ساختار-عملکرد را تسهیل می‌کنند (۳۹).

مشابه پلی (بتا-آمینو استر)، پلی (آمیدوآمین)ها پلیمرهای زیست تخریب‌پذیری هستند که توسط واکنش Michael سنتز می‌شوند و اجازه می‌دهند تغییرات به آسانی در هسته و حاشیه آن‌ها ایجاد شود (٤۰). پلی (آمیدوآمین)ها دندریمرهای کروی شکل درخت مانند چندشاخه‌ای را تشکیل می‌دهند که به دلیل چگالی آمین بالا در حاشیه‌شان، کمپلکس‌های حاوی mRNA را تشکیل می‌دهند. اگرچه چگالی بار برای کمپلکس شدن mRNA مطلوب است، بار بیش از حد می‌تواند باعث سمیت شود. خوشبختانه این مسائل را می‌توان با معرفی پیوندهای دی سولفیدی یا مشارکت پلی اتیلن گلیکول در هسته‌ی دندریمر کاهش داد (۳۷، ٤۱).

مانند لیپیدهای قابل یونیزاسیون در نانوذرات لیپیدی، پلیمرهای پاسخ دهنده به pH نیز برای تحویل mRNA استفاده شده است. پلی (آسپارتامید)های کونژوگه شده به زنجیره‌های جانبی قابل یونیزاسیون آمینواتیلن در pH اسیدی داخل اندوزوم‌ها پروتونه می‌شوند و تحویل RNA را تسهیل می‌کنند. آبگریزی و طول زنجیره جانبی بر پروتونه شدن پلی (آسپارتامید) و اثربخشی تحویل تأثیر می‌گذارد. بعنوان مثال، پلی (آسپارتامید) متصل شده به پلی اتیلن گلیکول با یک زنجیره‌ی جانبی اتیلن دی‌آمین mRNA را به کبد، مغز، نخاع، مفصل زانو و اعصاب بویایی می‌رساند (٤۲).

علاوه بر این دو گروه اصلی حامل‌های تحویل مبتنی بر لیپید و پلیمر، دیگر سیستم‌های تحویل نیز توسعه پیدا کرده‌اند. در این میان می‌توان از پپتیدها نام برد که می‌توانند mRNA را به سلول‌ها تحویل بدهند. این امر به لطف گروه‌های آمینی کاتیونی یا آمفی‌پاتیک (مثلاً آرژنین) در زنجیره‌ی اصلی و زنجیره‌های جانبی آن‌ها بوده که به صورت الکترواستاتیکی به mRNA متصل شده و تشکیل نانوکمپلکس‌ها را می‌دهند. به عنوان مثال، یک پپتید نافذ سلولی (Cell-penetrating peptide) حاوی موتیف تکراری آرژنین-آلانین-لوسین-آلانین (RALA) ساختارش در pH اندوزوم تغییر کرده و تشکیل منافذ در غشاء و فرار اندوزومی را تسهیل می‌کند. RALA می‌تواند mRNA را به سلول‌های دندریتیک (سلول‌های ارائه‌دهنده‌ی آنتی‌ژن حرفه‌ای سیستم ایمنی) برای ایجاد ایمنی با واسطه‌ی سلول T تحویل دهد (٤۳، ٤٤).

mRNA واکسن‌ها برای بیماری‌های عفونی

در حال حاضر پیشرفته‌ترین کاربرد mRNA درمانی واکسن‌ها برای بیماری‌های عفونی هستند. تا پایان سال ۲۰۱۹ تعدادی mRNA واکسن کاندید وجود داشت که در برابر انواع بیماری‌های عفونی وارد کارآزمایی‌های بالینی شده بود که هیچ کدام در کارآزمایی‌های فاز ۳ نبودند. این واکسن‌ها علیه عوامل بیماری‌های عفونی از جمله ویروس‌های آنفولانزا A، هاری، CMV، RSV و Zika ساخته شده بودند (٤۵). در آن زمان تصور می‌شد که حداقل ۵ تا ٦ سال دیگر طول می‌کشد تا mRNA واکسن تأییدیه نظارتی را دریافت کند. زمانی که همه‌گیری کووید-۱۹ جهان را فرا گرفت، این انتظارات از بین رفت. در طی ماه‌های بعد، توسعه، ساخت و استقرار واکسن

mRNA وارد آزمایش‌های نهایی شد.

الف- mRNA واکسن‌ها در درمان سندرم حاد تنفسی شدید (SARS-CoV-2): در اواخر سال ۲۰۱۹، یک عضو جدید از خانواده‌ی Coronaviridae به سرعت ظهور و گسترش یافت. شیوع بیماری کووید-۱۹ با نرخ بالایی از مرگ و میر در سراسر جهان همراه بود و در مارس ۲۰۲۰ توسط سازمان بهداشت جهانی به عنوان یک پاندمی اعلام شد. درک مکانیسم‌های مولکولی درگیر در پاتوژنز کووید-۱۹ به کمک طراحی هر چه بهتر واکسن آمد (٤٦). اکثر واکسن‌های SARS-CoV-2 یک پاسخ ایمنی به پروتئین اسپایک روی سطح ویروس القا می‌کنند. معمولاً آنتی‌ژن کدگذاری شده توسط mRNA واکسن یا پروتئین اسپایک کامل یا دُمین اتصال به گیرنده (RBD) پروتئین اسپایک است. تا ۱۸ ژوئن ۲۰۲۱، ۱۸۵ نامزد واکسن کووید-۱۹ در حال توسعه‌ی پیش‌بالینی بودند و ۱۰۲ تای دیگر وارد آزمایشات بالینی شده بودند. از میان واکسن‌هایی که در کارآزمایی‌های بالینی شرکت کردند، ۱۹ mRNA واکسن حضور داشتند که تعدادی از برجسته‌ترین آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. در ۱۱ دسامبر ۲۰۲۰، واکسن فایزر-بیونتک با نام BNT162b2 مجوز اضطراری را از FDA دریافت کرد و اولین داروی mRNA مورد تأیید برای استفاده در انسان شد. یک هفته بعد، واکسن مدرنا با نام mRNA-1273 نیز برای استفاده در ایالات متحده مجاز شد. در نهایت آن‌ها اولین واکسن‌های SARS-CoV-2 بودند که در ایالات متحده آمریکا، بریتانیا، کانادا و چندین کشور دیگر مجاز شدند. فایزر و بیونتک پنج mRNA واکسن را باهم توسعه دادند که انواع آنتی‌ژن پروتئین اسپایک را کدگذاری می‌کند (٤٧). دو کاندید اصلی، یعنی BNT162b1 و BNT162b2، از نوعی نانوذرات لیپیدی بهره می‌برند که با استفاده از لیپید قابل یونیزاسیون ALC-0315 و یک mRNA با نوکلئوزید اصلاح شده فرموله شده‌اند. در این mRNA برای افزایش ترجمه، همه یوریدین‌ها با N1-methylpseudouridine جایگزین می‌شوند. BNT162b1 یک نسخه‌ی ترشحی و سه‌تایی از دُمین اتصال به گیرنده‌ی پروتئین اسپایک را کدگذاری می‌کند، در حالی‌که BNT162b2 گلیکوپروتئین اسپایک کامل SARS-CoV-2 را با دو جایگزینی پرولین در زیرواحد S2 کدگذاری می‌کند، که پروتئین را در کانفورماسیون قبل از فیوژن (prefusion) خود حفظ می‌نماید (٤٨، ٤٩) (جدول ۱).

در مطالعات پیش‌بالینی روی میمون‌های رزوس، دو دُز ۱۰۰ میکروگرمی BNT162b2 با فاصله‌ی ۲۱ روز از هم، باعث ایجاد تیتر آنتی‌بادی خنثی‌کننده‌ی ۱۸-۱۰/۲ برابر بیشتر از سرم بیماران در حال نقاهت و همچنین پاسخ‌های قوی سلولی مرتبط با $T\ CD4^+$ و $CD8^+$ شد (۵۰). در کارآزمایی‌های بالینی فاز اول روی دو کاندید، دو دُز ۳۰ میکروگرمی با فاصله‌ی ۲۱ روز از هم، باعث ایجاد تیترهای بالای آنتی‌بادی خنثی کننده و پاسخ قوی $CD4^+$ و $CD8^+$ با عوارض جانبی خفیف تا متوسط شد. هر دو کاندید به خوبی قابل تحمل و کارآمد بودند، اما تنها واکسن BNT162b2 به دلیل واکنش‌های جانبی سیستمیک و موضعی خفیف‌تر، به آزمایش‌های بالینی فاز ۳/۲ ارتقا یافت (۵۱، ۵۲). در کارآزمایی‌های بالینی فاز ۳ که شامل ٤٣٥٤٨ شرکت‌کننده بود، واکسن BNT162b2 توانست ۹۵ درصد اثربخشی کلی در پیشگیری از کووید-۱۹ و ۱۰۰-۹۰ درصد اثربخشی را در میان زیرگروه‌های تعریف شده بر اساس سن، جنس، نژاد، قومیت و شاخص توده‌ی بدنی پایه نشان داد (۵۳).

جدول ۱. کارآزمایی‌های بالینی mRNA واکسن‌های علیه SARS-CoV-2

نام/منبع تامین مالی	نوع mRNA	آنتی‌ژن	فاز بالینی	نتایج کارآزمایی بالینی	منبع
BNT162b2/ BioNTech, Pfizer	نوکلئوزید اصلاح شده	اسپایک prefusion گذرنده از غشا	۳	مجوز استفاده اضطراری در چندین کشور؛ ۹۵٪ اثربخشی کلی در کارآزمایی‌های فاز ۳	(۵۳)
mRNA-1273/Moderna	نوکلئوزید اصلاح شده	اسپایک prefusion گذرنده از غشا	۳	مجوز استفاده اضطراری در چندین کشور؛ ۹۴/۱٪ اثربخشی کلی در کارآزمایی‌های فاز ۳	(۵۸)
CVnCoV/ CureVac	اصلاح نشده	اسپایک prefusion گذرنده از غشا	۳	۴۸٪ اثربخشی کلی در کارآزمایی‌های فاز ۳	(۸۱)
BNT162b1/ BioNTech, Pfizer	نوکلئوزید اصلاح شده	RBD ترشحی پروتئین اسپایک	۲/۱	۸ تا ۵۰ برابر IgG ضد RBD بالاتر و ۱/۹ تا ۴/۶ برابر بیشتر از سرم دوران نقاهت. احتمال بالاتر تب، خستگی و لرز در شرکت‌کنندگان نسبت به BNT162b2	(۵۲ ,۵۱)
mRNA-1273.351/ Moderna	نوکلئوزید اصلاح شده	اسپایک prefusion گذرنده از غشا	۱	تفاوت در خنثی‌سازی سرم بین سویه اجدادی نوع وحشی و B.1.351 از ۷/۷ برابر به ۲/۱ برابر کاهش یافت، ۱۴ روز پس از دُز یادآور mRNA-1273.351	(۸۲)

در یک کمپین واکسیناسیون انبوه شامل ۳،۱۵۹،۱۳۶ شرکت‌کننده در اسرائیل، دو دُز BNT162b2 توانست ۹۴ درصد در پیشگیری از کووید-۱۹ علامت‌دار، ۸۷ درصد در پیشگیری از بستری شدن در بیمارستان و ۹۲ درصد در پیشگیری از شروع کووید-۱۹ شدید مؤثر باشد (۵۴).

مدرنا mRNA-1273 را با همکاری مؤسسه ملی آلرژی و بیماری‌های عفونی توسعه داد. این واکسن از لیپید قابل یونیزاسیون SM-102 برای فرموله کردن نانوذرات لیپیدی استفاده می‌کند که mRNA اصلاح شده با N1-methylpseudouridine را کپسوله می‌نماید. این mRNA توالی پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 را با دو جایگزینی پرولین کدگذاری می‌کند که ترکیب پری‌فیوژن را ایجاد می‌نماید. در کارآزمایی پیش‌بالینی دو دُز ۱ میکروگرمی واکسن (یک دُز اولیه و یک یادآور) تزریقی به عضله‌ی موش به فعالیت قوی خنثی‌کننده‌ی ویروس و همچنین پاسخ‌های قوی سلولی $CD4^+$ و $CD8^+$ منجر شد (۵۵). میمون‌های رزوس که دو دُز ۱۰۰ میکروگرمی از واکسن را دریافت کردند نیز پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی قوی داشتند. در مقایسه با سرم بیماران بهبود یافته از کووید-۱۹، سرم میمون واکسینه شده حاوی ۱۵ برابر تیتر آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده، ۳۴۸ برابر فعالیت مهاری قوی‌تر برای اتصال اسپایک به آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین ۲ و ۱۲ برابر فعالیت خنثی‌کننده‌ی ویروس بیشتر بود. میمون‌های واکسینه شده همچنین آنتی‌بادی‌های IgG و IgA اختصاصی پروتئین اسپایک را ایجاد کردند، که نشان می‌دهد واکسیناسیون عضلانی با mRNA-1273 هم ایمنی سرم و هم مخاط را ایجاد می‌کند (۵۶، ۵۷).

خوشبختانه این نتایج پیش‌بالینی دلگرم کننده به کارآزمایی‌های بالینی که در آن‌ها mRNA-1273 فوق‌العاده مؤثر بود و به خوبی تحمل می‌شد، گسترش یافت. در آزمایشات فاز ۳ که شامل ۳۰۴۲۰ داوطلب بود، دو دُز واکسن ۱۰۰ میکروگرمی ۹۴/۱ درصد در جلوگیری از شروع کووید-۱۹ مؤثر بود. درد موضعی در محل تزریق شایع‌ترین عارضه‌ی جانبی بود. پس از دُز دوم، نیمی از داوطلبان عوارض جانبی سیستمیک متوسط تا شدید (به عنوان مثال خستگی، درد عضلانی و درد مفاصل) را گزارش کردند که در عرض ۴۸ ساعت برطرف شد (۵۸). اگرچه واکسن‌های فایزر-بیونتک و مدرنا کارآیی و ایمنی بسیار خوبی را نشان داده‌اند، نیاز آن‌ها به زنجیره‌ی سرد برای ذخیره‌سازی مشکلات لجستیکی ایجاد می‌کند. طبق داده‌های ارائه شده توسط شرکت‌های مدرنا و فایزر-بیونتک به سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا واکسن mRNA-1273 را می‌توان در دمای منفی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تا ۶ ماه، در دمای ۴ تا ۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک ماه و ۱۲ ساعت در دمای اتاق ذخیره کرد، در حالی‌که BNT162b2 به ذخیره‌سازی در دمای منفی ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نیاز دارد (۵۹، ۶۰).

ب- mRNA واکسن‌ها در درمان سایر بیماری‌های عفونی: پس از تأییدیه‌های سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا برای واکسن‌های کووید-۱۹، mRNA به عنوان یک نگرش تولید واکسن با پتانسیل بالا در بیماری‌های عفونی شناخته شده است. در این زمینه باید منتظر تأییدیه‌های بیشتر علیه پاتوژن‌هایی غیر از SARS-CoV-2 باشیم. دیگر پاتوژن‌هایی که تابه حال با استفاده از تکنولوژی mRNA علیه آن‌ها واکسن طراحی شده و در حال تکمیل مطالعات بالینی هستند شامل ویروس‌های آنفولانزا A، HIV (Human immunodeficiency virus)، CMV (Cytomegalovirus)، RSV (respiratory syncytial virus) و Zika می‌باشند (جدول ۲).

جدول ۲. کارآزمایی‌های بالینی mRNA واکسن‌های علیه سایر بیماری‌های عفونی

نام/منبع تامین مالی	پاتوژن	آنتی‌ژن	فاز بالینی	جمعیت مورد مطالعه	مسیر تجویز	شناسه‌ی کارآزمایی بالینی
mRNA-1851/ Moderna	آنفولانزا A (H7N9)	پروتئین‌های هماگلوتینین H7N9	۱	بزرگسالان سالم ۱۸ تا ۴۹ سال	داخل عضلانی	NCT03345043
mRNA-1440/ Moderna	آنفولانزا A (H10N8)	پروتئین‌های هماگلوتینین H10N8	۱	بزرگسالان سالم ۱۸ تا ۶۴ سال	داخل عضلانی	NCT03076385
mRNA-1893/Moderna	ویروس Zika	پروتئین‌های ساختاری ویروس Zika	۲	بزرگسالان در مناطق اندمیک و غیر اندمیک flavivirus	داخل عضلانی، دو دُز با فاصله ۲۸ روز	NCT04917861
mRNA-1647/Moderna	ویروس CMV	آنتی‌ژن پنتامر و پروتئین gB از CMV	۳	بزرگسالان سالم سرم منفی و سرم مثبت برای CMV	داخل عضلانی	NCT05085366
mRNA-1345/Moderna	ویروس RSV	پروتئین prefusion F پایدار شده	۳/۲	بزرگسالان بیش از ۶۰ سال	داخل عضلانی	NCT05127434
iHIVARNA-01/Hivarna consortium, Etherna	ویروس HIV	یک ایمونوژن HIV القاکننده پاسخ سلولی T به نام HTI	۲	بزرگسالان دارای HIV	داخل گره لنفاوی	NCT02888756

یکی از مهم‌ترین واکسن‌های در حال توسعه مبتنی بر تکنولوژی mRNA علیه ویروس RSV است که در فاز ۳/۲ مطالعات بالینی به سر می‌برد. ویروس RSV عامل اصلی عفونت حاد تنفسی تحتانی در سطح جهان است. این بیماری سالانه مسؤول حدود ۶۰۰۰۰ مرگ در کودکان زیر ۵ سال و بیش از ۱۴۰۰۰ مرگ در افراد بالای ۶۵ سال می‌باشد (۶۱). اگرچه مشکلات RSV بر سلامت جوامع به خوبی شناخته شده است، هنوز به دلیل چالش‌های متعدد واکسن تأیید شده RSV تولید نشده است. به عنوان مثال در سال ۱۹۶۸، یک واکسن کاندید غیرفعال شده با فرمالین RSV باعث یک پاسخ مخرب در کودکان شد. این پاسخ باعث نفوذ بیش از حد ائوزینوفیل و نوتروفیل در ریه‌ها شد که منجر به برونشیولیت شدید یا ذات‌الریه در ۸۰ درصد از کودکان واکسینه شده و دو مورد مرگ و میر شد (۱۰). کاندیدهای فعلی واکسن RSV روی هدف قرار دادن پروتئین F بسیار حفاظت شده تمرکز می‌کنند که همجوشی ویروسی را تسهیل می‌کند. اگرچه برخی از کاندیداها به دلیل ناکافی بودن تیتر آنتی‌بادی خنثی‌کننده، در آزمایش‌های بالینی شکست خورده‌اند، اما بینش‌های ساختاری جدید در مورد ترکیب پروتئین F نشان داده‌اند که واکسیناسیون علیه ترکیب prefusion پاسخ آنتی‌بادی خنثی‌کننده‌ی بهتری را ایجاد می‌کند (۶۲، ۶۳).

با این کشف امیدوار است طراحی واکسن در آینده بهبود یابد. خوشبختانه، واکسن‌های mRNA را می‌توان به گونه‌ای طراحی کرد که با مهندسی توالی کدکننده، ترکیبات پروتئین F پایدار شده را کدگذاری کنند. مدرنا در حال ارزیابی واکسنی تک دُز (mRNA-1345) است که پروتئین prefusion F را کد می‌کند. این مطالعه در ۲ مرحله انجام می‌شود: فاز ۲ و فاز ۳. در بخش فاز ۲، حداکثر ۲۰۰۰ شرکت کننده به طور تصادفی برای دریافت یک تزریق واکسن mRNA-1345 در دُز انتخابی یا دارونما و در بخش فاز ۳، تقریباً ۳۵۰۰۰ شرکت‌کننده به طور تصادفی برای دریافت یک تزریق واکسن mRNA-1345 در دُز انتخابی یا دارونما اختصاص داده می‌شوند (NCT05127434). این مطالعه و دیگر مطالعات امیدوارکننده مانند واکسن mRNA-1647 علیه عفونت CMV هنوز در حال اجرا بوده و نتایجی از آن منتشر نشده است.

mRNA واکسن‌ها در درمان سرطان

پیشرفت اخیر و موفقیت ایمونوتراپی سرطان، علاقه به استفاده از درمان‌های مبتنی بر mRNA را برای این کاربرد افزایش داده است (جدول ۳).

جدول ۳. خلاصه مطالعات بالینی فاز ۲ یا ۳ با mRNA واکسن‌ها برای سرطان.

نام محصول	محموله (آنتی‌ژن یا پروتئین)	بیماری	مسیر تجویز	فاز	وضعیت آزمایش	منبع تأمین مالی	توضیحات	شناسه‌ی کارآزمایی بالینی
BNT122	تا ۲۰ نئوآنتی‌ژن اختصاصی بیمار	ملانوما	داخل وریدی	۲	فعال، در حال بیمارگیری	BionTech-Genentech	Pembrolizumab به تنهایی در مقابل BNT122 بعلاوه pembrolizumab	NCT03815058
BNT122	تا ۲۰ نئوآنتی‌ژن اختصاصی بیمار	سرطان روده بزرگ	داخل وریدی	۲	فعال، در حال بیمارگیری	BionTech		NCT04486378
mRNA-4157	قابلیت کدگذاری تا ۳۴ نئوآنتی‌ژن	ملانوما	داخل عضلانی	۲	فعال، در حال بیمارگیری	Moderna–Merck	ترکیب با pembrolizumab	NCT03897881
BNT111	ترکیبی از چهار آنتی‌ژن مرتبط با ملانوما	ملانوما	داخل وریدی	۲	فعال، در حال بیمارگیری	BionTech	BNT111 و cemiplimab به صورت ترکیبی یا به صورت تکی	NCT04526899
BNT113	آنتی‌ژن‌های توموری مشتق از HPV16 (انکوپروتئین‌های ویروسی E6 و E7)	کارسینوما ی سر و گردن با HPV16 مثبت	داخل وریدی	۲	فعال، در حال بیمارگیری	BionTech	Pembrolizumab به تنهایی در مقابل BNT113 بعلاوه pembrolizumab	NCT04534205
CV9202	NY-ESO-1, MAGE C1, MAGE C2, TPBG (5T4), survivin, MUC1	NSCLC	داخل پوستی	۲/۱	فعال، عدم بیمارگیری	CureVac, Ludwig Institute		NCT03164772

برای ایمونوتراپی‌های مبتنی بر mRNA در سرطان، یک رویکرد اصلاح ریزمحیط سرکوب‌کننده سیستم ایمنی تومور از طریق بیان پروتئین سرکوب‌گر تومور ناقص یا تغییر یافته است. با این حال روش‌های تحویل mRNA فعلی بعید است که به هر سلول سرطانی در بیمار برسد. در عوض تمرکز فزاینده‌ای بر روی استفاده از mRNA به عنوان یک واکسن درمانی برای آموزش سیستم ایمنی بدن برای جستجو و کشتن سلول‌های سرطانی وجود دارد. ویژگی‌های کلیدی mRNA واکسن‌ها که موفقیت آن‌ها را به عنوان واکسن SARS-CoV-2 ممکن ساخت، از جمله توانایی توسعه و ساخت سریع داروی mRNA و همچنین توانایی mRNA برای کدگذاری آنتی‌ژن‌های کامل، استفاده از آن به عنوان واکسن سرطان را بسیار امیدوارکننده کرده است. علاوه بر این بسیاری از بیماران دارای تومورهایی هستند که به داروهای فعلی هدف‌گیری سیستم ایمنی مقاوم هستند که فرصت جدیدی برای رویکردهای مبتنی بر mRNA ایجاد می‌کند (٦٤، ٦٥).

توسعه‌ی واکسن‌های درمانی سرطان، صرف نظر از روش، با تعدادی چالش مواجه است که باید برای کاربرد بالینی موفق مورد توجه قرار گیرد. برخلاف واکسن‌های پیشگیرانه برای بیماری‌های عفونی که محافظت در برابر عفونت عمدتاً توسط یک پاسخ هومورال قوی داده می‌شود (به استثنای پاتوژن‌های عفونت‌زای درون سلولی) (٦٦)، واکسن‌های سرطان درمانی همچنین باید اطمینان حاصل کنند که یک پاسخ سیتوتوکسیک سلول $CD8^+$ T برای ریشه‌کن کردن سلول‌های سرطانی ایجاد می‌شود. اگرچه واکسن‌های پیشگیری کننده برای سرطان‌ها امکان‌پذیر است، در حال حاضر تنها دو واکسن مرتبط با سرطان و مورد تأیید FDA وجود دارد که هر دو علیه ویروس‌هایی هستند که باعث سرطان می‌شوند (ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) و ویروس هپاتیت B). به دلیل تنوع بالای آنتی‌ژن‌ها در افراد مختلف، چالش دیگر انتخاب آنتی‌ژن‌های مناسب است که قادر به القای پاسخ‌های ایمنی بسیار اختصاصی تومور باشند. گرایش به سمت نئوآنتی‌ژن‌های خاص بیمار، با هدف رسیدگی به این چالش است (٦٧، ٦٨). در نهایت حتی اگر یک آنتی‌ژن بتواند پاسخ ایمنی سلولی را القا کند، ریزمحیط سرکوب‌گر تومور می‌تواند از نفوذ سلول‌های T به تومورها جلوگیری کرده و منجر به فرسودگی سلول‌های T شود. بنابراین واکسن‌های درمانی ممکن است برای غلبه بر ریزمحیط سرکوب‌کننده تومور نیاز به تجویز در ترکیب با روش درمانی دیگری مانند مهارکننده‌های نقطه وارسی ایمنی (Immune checkpoint inhibitors) داشته باشند (٦٩، ٧٠).

آنتی‌ژن‌های مرتبط با تومور (Tumor-associated antigens) TAAs ترجیحاً بر روی سطح سلول‌های تومور بیان می‌شوند و اهدافی را برای کشتن سلول‌های تومور از طریق ایمنی ایجاد می‌کنند. واکسن‌های سرطانی که TAA را هدف قرار می‌دهند، قادر به تولید TAAهای آماده برای انواع تومورها هستند. پیشرفته‌ترین آن‌ها، BNT111، ترکیبی از چهار آنتی‌ژن مرتبط با ملانوما (NY-ESO-1، تیروزیناز، MAGE A3 و TPTE) که در یک کارآزمایی فاز ۱-۲ یا به صورت تک درمانی یا در ترکیب با یک مهارکننده نقطه وارسی در حال ارزیابی است. این واکسن به صورت تزریق داخل وریدی مکرر، شروع با یک سلسله تزریق هشت‌تایی و با پتانسیل تزریق ماهانه اضافی، داده می‌شود و اکنون در ترکیب با Cemiplimab برای ملانوم پیشرفته به فاز ۲ بالینی رسیده است (NCT04526899). توالی mRNA برای هر یک از چهار TAA برای ترجمه در DCهای نابالغ بهینه شده است. هر توالی همچنین حاوی یک پپتید سیگنال و اپی‌توپ‌های P2 و P16 توکسوئید کزاز و همچنین دمین مرتبط با مسیر MHC کلاس I برای افزایش ارائه‌ی آنتی‌ژنی و ایمنی‌زایی است (٧١). مثال دیگر شامل BNT113 می‌باشد که آنتی‌ژن‌های توموری E6 و E7 مشتق شده از HPV16 (انکوپروتئین‌های ویروسی) را کد می‌کند.

CureVac مطالعات اولیه‌ای را با انواع mRNA اصلاح نشده کدکننده‌ی TAA، از جمله mRNA برهنه که شش آنتی‌ژن مرتبط با سرطان کلیه را کد می‌کند و mRNA پایدار شده با پروتامین برای شش آنتی‌ژن مختلف مرتبط با ملانوم، انجام داد. این مطالعات عمدتاً اطلاعات ایمنی و تحمل‌پذیری را در مورد فرمولاسیون‌های مورد استفاده ارائه کردند. سایر مطالعاتی که آنتی‌ژن‌های مرتبط با تومور را بررسی می‌کنند شامل CV9103 (مخلوطی از چهار آنتی‌ژن برای سرطان پروستات)، CV9104 (مخلوط شش آنتی‌ژن مختلف برای سرطان پروستات کدگذاری شده توسط شش گونه مختلف mRNA) و CV9201 (مخلوط پنج آنتی‌ژن سرطان NSCLC) است. طبق گزارشات شرکت CureVac به نظر می‌رسد که توسعه همه این پروژه‌ها و/یا کاندیدهای دارویی متوقف شده‌اند (٧٢). CV9202 حاوی شش گونه mRNA است که شش آنتی‌ژن مختلف (NY-ESO-1، MAGE C1، MAGE C2، گلیکوپروتئین تروفوبلاست (TPBG (5T4))، Survivin و Mucin-1 را کد می‌کند و هنوز در یک مطالعه فعال در حال ارزیابی است (NCT03164772) (٧٣).

در طول سرطان‌زایی، سلول‌های بدخیم طی ایجاد جهش‌های سوماتیک تولید توالی‌های پروتئینی می‌کنند که توسط سلول‌های طبیعی بیان نمی‌شوند. این پروتئین‌ها از طریق پروتئازوم به پپتیدهایی تبدیل شده که روی سطح سلول بر روی گیرنده‌های MHC-I به گیرنده‌های سلول T عرضه می‌شوند. این نئوآنتی‌ژن‌ها معمولاً برای هر بیمار منحصر به فرد هستند و بنابراین هم فرصت و هم چالش‌های فنی مرتبط با ایمونوتراپی اختصاصی تومور و بیمار را نشان می‌دهند (٦٧).

برای تولید واکسن مبتنی بر mRNA علیه نئوآنتی‌ژن‌های اختصاصی بیمار، تومور یک بیمار جدا شده و نئوآنتی‌ژن‌های خاص بیمار با توالی‌یابی نسل جدید شناسایی می‌شوند. mRNA کدکننده‌ی این نئوآنتی‌ژن‌ها سپس به همان بیمار تزریق می‌شود، با این انتظار که پاسخ ایمنی را برای حمله به تومور بیمار القا کند (۷٤). البته ضروری است که کل این پروسه در حداقل زمان ممکن صورت گیرد تا بیمار بتواند قبل از پیشرفت سرطان تحت درمان قرار گیرد. بدین صورت چالش‌های بیشتری را برای تولید ایجاد می‌کند و باید معیارهای استفاده انسانی از محصولات تحقیقاتی را برآورده کند.

تاکنون اکثر کارها در واکسن‌های نئوآنتی‌ژن شخصی‌سازی شده، به جای واکسن‌های mRNA، شامل بکارگیری واکسن‌های نئوآنتی‌ژن مبتنی بر پپتید بوده است. به طور کلی این رویکردها موفقیت محدودی داشته‌اند. تومورهایی با بیشترین بار جهش (Mutational burden)، که در تئوری بهترین کاندیدها برای این نوع رویکرد نئوآنتی‌ژن هستند، نیز به احتمال زیاد مقاومت به درمان را ایجاد می‌کنند (۷۵). در مقایسه با واکسن‌های پپتیدی، ما فرض می‌کنیم که واکسن‌های نئوآنتی‌ژن کدگذاری شده با mRNA، با تحریک ایمنی مناسب ممکن است پاسخ ایمنی قوی‌تر و مزایای بالینی بیشتری را ارائه دهند. برخلاف واکسن‌های مبتنی بر پپتید، mRNA می‌تواند آنتی‌ژن کامل را کدگذاری کند، در نتیجه ارائه‌ی اپی‌توپ‌های متعدد را بدون محدود شدن به یک نوع HLA مشخص تضمین می‌کند. علاوه بر این mRNA را می‌توان برای بیان چند نئوآنتی‌ژن، یا به عنوان مولکول‌های جداگانه یا به صورت الحاق چندین توالی کد کننده، سنتز کرد. انواع خاصی از تومورها می‌توانند تا چند ده نئوآنتی‌ژن تولید کنند. از منظر القای یک پاسخ ایمنی گسترده، بیان اپی‌توپ‌های متعدد تحریک‌کننده‌ی پاسخ سلول T مطلوب است (۷٦).

BioNTech چندین واکسن نئوآنتی ژن بالینی را برای درمان سرطان ایجاد کرده است. BNT121 از طریق تجویز مکرر در غدد لنفاوی اینگوینال ۱۳ بیمار مبتلا به ملانوم متاستاتیک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از آن مطالعه، با پاسخ‌های ایمنی قوی و برخی شواهد از فعالیت بالینی، دلگرم کننده در نظر گرفته شد. BNT122، که می‌تواند تا ۲۰ نئو اپی‌توپ اختصاصی بیمار را شامل شود، به صورت داخل وریدی تجویز می‌شود و در حال حاضر در چهار مطالعه در حال ارزیابی است (جدول ۳). نتایج اولیه نشان داد که BNT122، هم با و هم بدون آنتی‌بادی ضد PD-L1 به نام atezolizumab، دارای مشخصات ایمنی قابل قبولی با عوارض جانبی عمدتاً گذرا مانند تب و لرز می‌باشد (۷۷). BNT122 همچنین در یک مطالعه فاز ۱ سرطان پانکراس در حال ارزیابی است (NCT04161755) و انتظار می‌رود که مطالعه در مورد سرطان NSCLC به زودی آغاز شود (NCT04267237). mRNA-4157 یکی دیگر از واکسن‌های سرطان شخصی‌سازی شده است که می‌تواند حاوی حداکثر ۳٤ نئوآنتی‌ژن کدگذاری شده بر روی یک رشته mRNA (نئوآنتی‌ژن Concatemer) باشد و در یک LNP فرموله شده و به صورت داخل عضلانی تجویز شود. این دارو در حال حاضر در یک مطالعه فاز ۱ بر روی بیماران مبتلا به تومورهای جامد اولیه برداشته شده (مونوتراپی) و بیماران با تومورهای متاستاتیک برداشته نشده است. تا فوریه ۲۰۲۰، در مجموع ۷۱ بیمار حداقل یک دُز mRNA-4157 را دریافت کرده‌اند. بیشترین عوارض جانبی ذکر شده خستگی، درد در محل تزریق، کولیت و میالژی بود. به موازات آن، یک مطالعه فاز ۲ بعنوان ادجوانت در ترکیب با pembrolizumab برای بیماران مبتلا به ملانوم نیز در حال انجام است (NCT03897881).

واکسن‌های نئوآنتی‌ژن قطعاً از انعطاف‌پذیری و سرعت ذاتی در پلتفرم mRNA-LNP بهره می‌برند. در نهایت انواع روش‌های تجویز در انکولوژی شایان ذکر است: داخل توموری، داخل گره لنفاوی، داخل عروقی و داخل عضلانی؛ بطوری‌که برخی از نانوذرات لیپیدی برای بیش از یک مسیر تجویز قابلیت استفاده دارند. این نشان‌دهنده‌ی کاربردهای گسترده برای یک داروی کاندید است؛ توموری که با تزریق مستقیم داخل توموری قابل دسترسی نیست یا جایی که غدد لنفاوی قابل دسترسی وجود ندارد ممکن است همچنان به تجویز داخل وریدی یا داخل عضلانی mRNA واکسن مربوطه پاسخ دهد. چالش‌ها شناسایی مؤثرترین پروتئین یا ترکیبی از پروتئین‌ها برای کدگذاری در هدایت سیستم ایمنی برای حمله به سرطان‌ها، فعال کردن سیستم ایمنی برای نفوذ به عمق تومورها و شخصی‌سازی درمان‌ها برای هر بیمار است.

نتیجه‌گیری

چندین دهه پیشرفت در طراحی mRNA و فناوری تحویل اسید نوکلئیک، همراه با کشف اهداف آنتی‌ژنی جدید، mRNA واکسن‌ها را به ابزاری فوق‌العاده برای مبارزه با بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها تبدیل کرده است. دو واکسن اول mRNA که با سرعت انقلابی برای مبارزه با SARS-CoV-2 ساخته شده‌اند، فراتر از انتظارات بوده‌اند و در به پایان رسیدن همه‌گیری کووید-۱۹ کمک شایان توجهی کردند. همچنین این واکسن‌ها درمان با نانوذرات لیپیدی و RNA را از محصولات با بازار کوچک برای بیماری‌های خاص به یک درمان پیشگیرانه ارتقا داده‌اند که با موفقیت در بخش‌های بزرگی از جمعیت به کار گرفته شده است. دانشمندان بر این باورند که گستره‌ی آینده درمان بر پایه‌ی mRNA به پیشرفت در تکنولوژی نانوذرات حامل گره خورده است. شواهد

فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد نانوذرات مختلف می‌توانند برای رساندن به طیف وسیعی از بافت‌های بدن از جمله مغز، کبد، اندوتلیوم، ریه و چندین عنصر از سیستم ایمنی مهندسی شوند (۷۸). پیشرفت‌های بیشتر در هدف‌گیری بافت با استفاده از حامل‌های تحویل بهبود یافته و گنجاندن عناصر هدف‌گیری اضافی، همچنین درها را به روی کاربردهای درمانی جدید برای درمان mRNA باز خواهد کرد. همچنین تجربه‌ی ما با واکسن‌های کووید-۱۹ یکی از محدودیت‌های فعلی این فناوری را برجسته می‌کند: وابستگی به ذخیره‌سازی و حمل و نقل با زنجیره سرد. فریزرهایی با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تجهیزاتی تخصصی هستند و به راحتی در هر داروخانه یا محل کارآزمایی بالینی در دسترس نیستند. برای درمان‌هایی که برای خود تجویزی در خانه بیمار در نظر گرفته شده است، حتی نگهداری در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد هم می‌تواند چالش‌برانگیز باشد. تلاش برای حل این چالش در داروهای بر پایهmRNA متوجه علم فرمولاسیون خواهد بود. از دیگر چالش‌های مهم این فناوری عوارض جانبی خطرناکی است که در بین دریافت‌کنندگان مشاهده شده است. از زمان انتشار نتایج کارآزمایی بالینی موفقیت‌آمیز واکسن‌های mRNA بیماری کووید-۱۹ در دسامبر ۲۰۲۰، گزارش‌های متعددی در مورد عوارض قلبی-عروقی و مغزی-عروقی شامل ایسکمی و ترومبوز پس از واکسیناسیون منتشر شده است. این عوارض اغلب حاد و گذرا هستند، اما در موارد معدودی می‌توانند شدید و حتی کشنده باشند (۷۹، ۸۰). به طور کلی، داده‌های ایمنی و اثربخشی مثبت، همراه با یک مسیر مشخص برای تأیید نظارتی، ما را خوش‌بین می‌کند که درمان‌های بر پایه mRNA رویکرد پزشکی مدرن به واکسیناسیون، ایمونوتراپی سرطان و فراتر از آن را متحول خواهد کرد.

References

1. Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. Nature 2021; 597(7876): 318-24.
2. Beckert B, Masquida B. Synthesis of RNA by in vitro transcription. Methods Mol Biol 2011; 703: 29-41.
3. Bloom K, van den Berg F, Arbuthnot P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. Gene Ther 2021; 28(3-4): 117-29.
4. Wadhwa A, Aljabbari A, Lokras A, Foged C, Thakur A. Opportunities and challenges in the delivery of mRNA-based vaccines. Pharmaceutics 2020; 12(2): 102.
5. Linares-Fernández S, Lacroix C, Exposito JY, Verrier B. Tailoring mRNA vaccine to balance innate/adaptive immune response. Trends Mol Med 2020; 26(3): 311-23.
6. Mugridge JS, Coller J, Gross JD. Structural and molecular mechanisms for the control of eukaryotic 5′-3′ mRNA decay. Nat Struct Mol Biol 2018; 25(12): 1077-85.
7. Berkovits BD, Mayr C. Alternative 3′ UTRs act as scaffolds to regulate membrane protein localization. Nature 2015; 522(7556): 363-7.
8. Weng Y, Li C, Yang T, Hu B, Zhang M, Guo S, et al. The challenge and prospect of mRNA therapeutics landscape. Biotechnol Adv 2020; 40: 107534.
9. Leppek K, Das R, Barna M. Functional 5′ UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them. Nat Rev Mol Cell Biol 2018; 19(3): 158-74.
10. Chaudhary N, Weissman D, Whitehead KA. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation. Nat Rev Drug Discov 2021; 20(11): 817-38.
11. Spencer PS, Siller E, Anderson JF, Barral JM. Silent substitutions predictably alter translation elongation rates and protein folding efficiencies. J Mol Biol 2012; 422(3): 328-35.
12. Hajj KA, Whitehead KA. Tools for translation: non-viral materials for therapeutic mRNA delivery. Nat Rev Mater 2017; 2(10): 1-17.
13. Vaidyanathan S, Azizian KT, Haque AKM, Henderson JM, Hendel A, Shore S, et al. Uridine depletion and chemical modification increase Cas9 mRNA activity and reduce immunogenicity without HPLC purification. Mol Ther Nucleic Acids 2018; 12: 530-42.
14. Buschmann MD, Carrasco MJ, Alishetty S, Paige M, Alameh MG, Weissman D. Nanomaterial delivery systems for mRNA vaccines. Vaccines (Basel) 2021; 9(1): 65.
15. Thess A, Grund S, Mui BL, Hope MJ, Baumhof P, Fotin-Mleczek M, et al. Sequence-engineered mRNA without chemical nucleoside modifications enables an effective protein therapy in large animals. Mol Ther 2015; 23(9): 1456-64.
16. Sahin U, Muik A, Vogler I, Derhovanessian E, Kranz LM, Vormehr M, et al. BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. Nature 2021; 595(7868): 572-7.
17. Pardi N, Hogan MJ, Weissman D. Recent advances in mRNA vaccine technology. Curr Opin Immunol 2020; 65: 14-20.
18. Eberle F, Sahin U, Kuhn A, Vallazza B, Diken M. Stabilization of poly (A) sequence encoding Dna sequences. Google Patents; 2020.
19. Kim J, Eygeris Y, Gupta M, Sahay G. Self-assembled mRNA vaccines. Adv Drug Deliv Rev 2021; 170: 83-112.
20. Kauffman KJ, Webber MJ, Anderson DG. Materials for non-viral intracellular delivery of messenger RNA therapeutics. J Control Release 2016; 240: 227-34.
21. Cui S, Wang Y, Gong Y, Lin X, Zhao Y, Zhi D, et al. Correlation of the cytotoxic effects of cationic lipids with their headgroups. Toxicol Res (Camb) 2018; 7(3): 473-9.
22. Cullis PR, Hope MJ. Lipid nanoparticle systems for enabling gene therapies. Mol Ther 2017; 25(7): 1467-75.
23. Sahay G, Alakhova DY, Kabanov AV. Endocytosis of nanomedicines. J Control Release 2010; 145(3): 182-95.
24. Jayaraman M, Ansell SM, Mui BL, Tam YK, Chen J,

Du X, et al. Maximizing the potency of siRNA lipid nanoparticles for hepatic gene silencing in vivo. Angew Chem Int Ed Engl 2012; 51(34): 8529-33.
25. Hajj KA, Melamed JR, Chaudhary N, Lamson NG, Ball RL, Yerneni SS, et al. A potent branched-tail lipid nanoparticle enables multiplexed mRNA delivery and gene editing in vivo. Nano Lett 2020; 20(7): 5167-75.
26. Sabnis S, Kumarasinghe ES, Salerno T, Mihai C, Ketova T, Senn JJ, et al. A novel amino lipid series for mRNA delivery: improved endosomal escape and sustained pharmacology and safety in non-human primates. Mol Ther 2018; 26(6): 1509-19.
27. Yang ST, Kreutzberger AJB, Lee J, Kiessling V, Tamm LK. The role of cholesterol in membrane fusion. Chem Phys Lipids 2016; 199: 136-43.
28. Cheng X, Lee RJ. The role of helper lipids in lipid nanoparticles (LNPs) designed for oligonucleotide delivery. Adv Drug Deliv Rev 2016; 99(Pt A): 129-37.
29. Liu S, Cheng Q, Wei T, Yu X, Johnson LT, Farbiak L, et al. Membrane-destabilizing ionizable phospholipids for organ-selective mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing. Nat Mater 2021; 20(5): 701-10.
30. Cheng Q, Wei T, Farbiak L, Johnson LT, Dilliard SA, Siegwart DJ. Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue-specific mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing. Nat Nanotechnol 2020; 15(4): 313-20.
31. Kulkarni JA, Darjuan MM, Mercer JE, Chen S, Van Der Meel R, Thewalt JL, et al. On the formation and morphology of lipid nanoparticles containing ionizable cationic lipids and siRNA. ACS Nano 2018; 12(5): 4787-95.
32. Oberli MA, Reichmuth AM, Dorkin JR, Mitchell MJ, Fenton OS, Jaklenec A, et al. Lipid nanoparticle assisted mRNA delivery for potent cancer immunotherapy. Nano Lett 2017; 17(3): 1326-35.
33. Zhu X, Tao W, Liu D, Wu J, Guo Z, Ji X, et al. Surface De-PEGylation controls nanoparticle-mediated siRNA delivery in vitro and in vivo. Theranostics 2017; 7(7): 1990-2002.
34. Kowalski PS, Rudra A, Miao L, Anderson DG. Delivering the messenger: advances in technologies for therapeutic mRNA delivery. Mol Ther 2019; 27(4): 710-28.
35. Bus T, Traeger A, Schubert US. The great escape: how cationic polyplexes overcome the endosomal barrier. J Mater Chem B 2018; 6(43): 6904-18.
36. Tavazohi N, Mirian M, Varshosaz J, Shirani-Bidabadi S, Mir Mohammad Sadeghi H, Khanahmad H. Fabrication and evaluation of a dual-targeting nanoparticle mediated CRISPR/Cas9 delivery to combat drug resistance in breast cancer cells. J Drug Deliv Sci Technol 2023; 86: 104628.
37. Ulkoski D, Bak A, Wilson JT, Krishnamurthy VR. Recent advances in polymeric materials for the delivery of RNA therapeutics. Expert Opin Drug Deliv 2019; 16(11): 1149-67.
38. Kaczmarek JC, Kauffman KJ, Fenton OS, Sadtler K, Patel AK, Heartlein MW, et al. Optimization of a degradable polymer-lipid nanoparticle for potent systemic delivery of mRNA to the lung endothelium and immune cells. Nano Lett 2018; 18(10): 6449-54.
39. Lynn DM, Langer R. Degradable poly (β-amino esters): synthesis, characterization, and self-assembly with plasmid DNA. J Am Chem Soc 2000; 122(44): 10761-8.
40. Zhou K, Nguyen LH, Miller JB, Yan Y, Kos P, Xiong H, et al. Modular degradable dendrimers enable small RNAs to extend survival in an aggressive liver cancer model. Proc Natl Acad Sci U S A 2016; 113(3): 520-5.
41. Mintzer MA, Simanek EE. Nonviral vectors for gene delivery. Chem Rev 2009; 109(2): 259-302.
42. Kim HJ, Ogura S, Otabe T, Kamegawa R, Sato M, Kataoka K, et al. Fine-tuning of hydrophobicity in amphiphilic polyaspartamide derivatives for rapid and transient expression of messenger RNA directed toward genome engineering in brain. ACS Cent Sci 2019; 5(11): 1866-75.
43. McCarthy HO, McCaffrey J, McCrudden CM, Zholobenko A, Ali AA, McBride JW, et al. Development and characterization of self-assembling nanoparticles using a bio-inspired amphipathic peptide for gene delivery. J Control Release 2014; 189: 141-9.
44. Udhayakumar VK, De Beuckelaer A, McCaffrey J, McCrudden CM, Kirschman JL, Vanover D, et al. Arginine-rich peptide-based mRNA nanocomplexes efficiently instigate cytotoxic T cell immunity dependent on the amphipathic organization of the peptide. Adv Healthc Mater 2017; 6(13): 1601412.
45. Gómez-Aguado I, Rodríguez-Castejón J, Vicente-Pascual M, Rodríguez-Gascón A, Solinís MÁ, Del Pozo-Rodríguez A. Nanomedicines to deliver mRNA: state of the art and future perspectives. Nanomaterials (Basel) 2020; 10(2): 364.
46. Kouhpayeh S, Shariati L, Boshtam M, Rahimmanesh I, Mirian M, Esmaeili Y, et al. The molecular basis of COVID-19 pathogenesis, conventional and nanomedicine therapy. Int J Mol Sci 2021; 22(11): 5438.
47. Knezevic I, Liu MA, Peden K, Zhou T, Kang HN. Development of mRNA vaccines: scientific and regulatory issues. Vaccines (Basel) 2021; 9(2): 81.
48. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020; 367(6483): 1260-3.
49. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. Cell 2020; 181(2): 281-92. e6.
50. Vogel AB, Kanevsky I, Che Y, Swanson KA, Muik A, Vormehr M, et al. BNT162b vaccines protect rhesus macaques from SARS-CoV-2. Nature 2021; 592(7853): 283-9.
51. Walsh EE, Frenck Jr RW, Falsey AR, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med 2020; 383(25): 2439-50.
52. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. Nature 2020; 586(7830): 589-93.

53. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Engl J Med 2020; 383(27): 2603-15.
54. Dagan N, Barda N, Kepten E, Miron O, Perchik S, Katz MA, et al. BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine in a nationwide mass vaccination setting. N Engl J Med 2021; 384(15): 1412-23.
55. Corbett KS, Edwards DK, Leist SR, Abiona OM, Boyoglu-Barnum S, Gillespie RA, et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. Nature 2020; 586(7830): 567-71.
56. Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, et al. Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. N Engl J Med 2020; 383(16): 1544-55.
57. Corbett KS, Nason MC, Flach B, Gagne M, O'Connell S, Johnston TS, et al. Immune correlates of protection by mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. Science 2021; 373(6561): eabj0299.
58. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. N Engl J Med 2021; 384(5): 403-16.
59. Moderna. Moderna announces longer shelf life for its COVID-19 vaccine candidate at refrigerated temperatures. [Online]. [cited 16 Nov 2020]; Available from: URL: https://investors.modernatx.com/news/news-details/2020/Moderna-Announces-Longer-Shelf-Life-for-its-COVID-19-Vaccine-Candidate-at-Refrigerated-Temperatures/default.aspx
60. Pfizer. Pfizer and BioNTech submit COVID-19 vaccine stability data at standard freezer temperature to the U.S. FDA. [Online]. [cited 19 Feb 2021]; Available from: URL: https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-submit-covid-19-vaccine-stability-data
61. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EA, Madhi SA, Gessner BD, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. Lancet 2017; 390(10098): 946-58.
62. Mazur NI, Higgins D, Nunes MC, Melero JA, Langedijk AC, Horsley N, et al. The respiratory syncytial virus vaccine landscape: lessons from the graveyard and promising candidates. Lancet Infect Dis 2018; 18(10): e295-e311.
63. Crank MC, Ruckwardt TJ, Chen M, Morabito KM, Phung E, Costner PJ, et al. A proof of concept for structure-based vaccine design targeting RSV in humans. Science 2019; 365(6452): 505-9.
64. Mortezaee K. Immune escape: A critical hallmark in solid tumors. Life Sci 2020; 258: 118110.
65. Haibe Y, El Husseini Z, El Sayed R, Shamseddine A. Resisting resistance to immune checkpoint therapy: a systematic review. Int J Mol Sci 2020; 21(17): 6176.
66. Sarmadi M, Gheibi A, Khanahmad H, Khorramizadeh MR, Hejazi SH, Zahedi N, et al. Design and characterization of a recombinant brucella abortus RB51 vaccine that elicits enhanced T cell-mediated immune response. Vaccines (Basel) 2022; 10(3): 388.
67. Blass E, Ott PA. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines. Nat Rev Clin Oncol 2021; 18(4): 215-29.
68. Rahimmanesh I, Esmaili Y, Ghafouri E, Hejazi SH, Khanahmad H. Enhanced in vivo anti-tumor efficacy of whole tumor lysate in combination with whole tumor cell-specific polyclonal antibody. Res Pharm Sci 2023; 18(2): 138-48.
69. Zahm CD, Moseman JE, Delmastro LE, G. Mcneel D. PD-1 and LAG-3 blockade improve anti-tumor vaccine efficacy. Oncoimmunology 2021; 10(1): 1912892.
70. Mohammadzadeh S, Andalib A, Khanahmad H, Esmaeil N. Human recombinant soluble PD1 can interference in T cells and Treg cells function in response to MDA-MB-231 cancer cell line. Am J Clin Exp Immunol 2023; 12(2): 11-23.
71. Sahin U, Oehm P, Derhovanessian E, Jabulowsky RA, Vormehr M, Gold M, et al. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma. Nature 2020; 585(7823): 107-12.
72. CureVac. CureVac B.V. Securities and exchange commission filing. [Online] [cited 24 July 2020]; Available from: URL: https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1809122/000110465920086354/tm2016252-11_f1.htm
73. Gandhi L, Aufiero Ramirez K, Schwarzenberger P, Ricciardi T, Macri MJ, Ryan A, et al. Phase 1/2 study of mRNA vaccine therapy+ durvalumab (durva)±tremelimumab (treme) in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). J Clin Oncol 2018; 36(15): TPS9107.
74. Esprit A, de Mey W, Bahadur Shahi R, Thielemans K, Franceschini L, Breckpot K. Neo-antigen mRNA vaccines. Vaccines 2020; 8(4): 776.
75. Yarchoan R, Uldrick TS. HIV-associated cancers and related diseases. N Engl J Med 2018; 378(11): 1029-41.
76. Diken M, Kranz LM, Kreiter S, Sahin U. mRNA: a versatile molecule for cancer vaccines. Curr Issues Mol Biol 2017; 22(1): 113-28.
77. BioNTech. Securities and exchange commission filing. [Online]. [cited 03 Feb 2020]; Available from: URL: https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1776985/000119312520022991/d838504df1.htm
78. Barbier AJ, Jiang AY, Zhang P, Wooster R, Anderson DG. The clinical progress of mRNA vaccines and immunotherapies. Nat Biotechnol 2022; 40(6): 840-54.
79. Hosseini R, Askari N. A review of neurological side effects of COVID-19 vaccination. Eur J Med Res 2023; 28(1): 1-8.
80. Yasmin F, Najeeb H, Naeem U, Moeed A, Atif AR, Asghar MS, et al. Adverse events following COVID-19 mRNA vaccines: A systematic review of cardiovascular complication, thrombosis, and thrombocytopenia. Immun Inflamm Dis 2023; 11(3): e807.
81. Kremsner PG, Guerrero RAA, Arana-Arri E,

Martinez GJA, Bonten M, Chandler R, et al. Efficacy and safety of the CVnCoV SARS-CoV-2 mRNA vaccine candidate in ten countries in Europe and Latin America (HERALD): a randomised, observer-blinded, placebo-controlled, phase 2b/3 trial. Lancet Infect Dis 2022; 22(3): 329-40.

82. Wu K, Choi A, Koch M, Ma L, Hill A, Nunna N, et al. Preliminary analysis of safety and immunogenicity of a SARS-CoV-2 variant vaccine booster. MedRxiv 2021.

DOI: *10.48305/jims.v41.i730.0658*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 730, 2nd Week, October 2023**

Received: 10.06.2023 Accepted: 28.08.2023 Published: 06.10.2023

The mRNA Vaccines and Their Application to Combat Infectious Diseases and Cancers: A Review Article

Mahmood Fadaie[1], Hossein Khanahmad[2]

Review Article

Abstract

Background: In the last several decades, numerous attempts have been made to develop medications based on mRNA. These efforts have been able to take a crude idea and evolve it into a clinical reality, which is a significant accomplishment. After the COVID-19 pandemic, the fastest-ever known development of a vaccine in history was recorded, with mRNA vaccines leading the way.

Methods: By searching the ISI Web of Science, Science Direct, Scopus, PubMed, and Google Scholar databases and using the keywords (mRNA vaccine, Cancer, Infectious disease) as well as their synonyms, appropriate articles were included in the present study.

Findings: This review article describes the technology that is used to develop mRNA vaccines, focusing on lipid nanoparticles and other non-viral delivery carriers. In addition, recent developments in the clinical application of mRNA vaccines for the treatment of infectious diseases and cancers are reviewed, and a future outlook for this revolutionary technology is provided.

Conclusion: Even though it has been shown that mRNA vaccines effectively protect patients from infectious diseases, further study is needed to improve mRNA design, intracellular delivery, and applications other than the prevention of SARS-CoV-2.

Keywords: mRNA vaccine; Lipid nanoparticles; Infectious diseases; COVID-19; Cancer

Citation: Fadaie M, Khanahmad H. **The mRNA Vaccines and Their Application to Combat Infectious Diseases and Cancers: A Review Article.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(730): 658-73.

1- PhD, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Khanahmad, Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: h_khanahmad@med.mui.ac.ir