

本期导读主题：4D 打印技术、mRNA 疫苗、T 细胞受体免疫治疗、微生物被膜、CRISPR 基因组编辑和纳米医学等技术与方法。

3D 打印可以精准制造复杂的生物材料，是生物医学工程的革命性技术突破。在再生医学中，可以用 3D 打印技术为病人特制种植体、假体甚至活体组织。但 3D 打印的产品是静态的，还是模仿不了生物活体的动态变化。正因为如此，在 3D 打印的基础上加入时间维度发展而成的 4D 打印技术，成为生物医学工程的又一个技术飞跃。4D 打印的产品由具有形状记忆功能的智能材料制成，可以随时间对光、热、磁、水、离子及酸碱度等外部刺激作出响应而改变形状或特性，在组织工程、药物递送、医疗器械及医学诊断等方面都有广阔的应用前景。黄宇翔等<sup>[1]</sup>作者有关 4D 打印的综述，在概述 4D 打印的基本技术要素的前提下，着重介绍了其在心血管组织工程方面的研究及应用进展。具体而言，该文对 4D 打印在心脏支架介入、类血管组织的构建、药物筛选、心血管组织的驱动、心血管打印及复杂手术等方面的应用都进行了比较详细的举例和说明。通过这些例子，读者可以大致领略 4D 打印的应用范围及发展趋势。除心血管组织工程以外，4D 打印在骨科、口腔科及肿瘤科等领域也有重要的研究进展，有兴趣的读者可以参考近期文献。3D 和 4D 打印仍有很大的发展余地，在技术上继续提高打印的分辨率、形状保真度及打印速度，并综合运用新的制造技术和智能材料，正是本

领域的重要发展方向。

疫苗学中有一个重要的观点就是，最好的疫苗可能类似于无症状感染或症状极轻微的感染。在新冠病毒全球大流行期间，针对新冠病毒纤突蛋白的 mRNA 疫苗得到紧急批准用于人体，之后又通过了更严格的评审获正式批准使用。mRNA 疫苗并非横空出世，其成功应用是多年来在 mRNA 免疫及脂质纳米颗粒递送技术等方面持续积累和突破的必然结果。新冠病毒 mRNA 疫苗相比其他类型疫苗的一个优势是，疫苗在体内发挥作用的全过程十分类似于病毒自然感染中的一个步骤。换言之，在疫苗接种后及病毒感染周期中，都会大量产生编码纤突蛋白的 mRNA，并因此表达大量具有完全生物活性并呈现融合前构象的纤突蛋白。一方面，此疫苗可以激发针对纤突蛋白的较强的保护性免疫，特别是中和抗体。另一方面，此疫苗会产生一定的因纤突蛋白而引起的毒副作用。能够同时刺激抗体和细胞免疫，是 mRNA 疫苗的重要特点及优点。采用 mRNA 疫苗进行序贯免疫或以其作为免疫加强剂，也可以取得较好的效果。新冠病毒 mRNA 疫苗的成功，为研发其他人类与动物疾病及其他病原体的 mRNA 疫苗开辟了新的路向。秦凤铭等<sup>[2]</sup>作者关于传染病 mRNA 疫苗的综述，比较全面地介绍了 mRNA 疫苗的原理及应用，并在此基础上对有关新冠、

猴痘、流感、寨卡、狂犬等病毒性传染病及鼠疫、肺结核、疟疾等非病毒性传染病的 mRNA 疫苗的研制进行了深入探讨。除以上一些重要的传染病之外, mRNA 疫苗也可以为解决病毒疫苗的一些老大难问题提供新的思路。例如 EB 病毒(Epstein-Barr virus)、呼吸道合胞病毒、登革病毒及艾滋病毒的 mRNA 疫苗,也有很强的研发价值。值得注意的是, mRNA 疫苗的研发对象最初主要是针对肿瘤。在新冠病毒 mRNA 疫苗获得成功后,如果重新聚焦于肿瘤 mRNA 疫苗,取得较大突破的前景仍然值得期待。

肿瘤免疫治疗在近年取得很大进展,其中嵌合抗原受体-T 细胞(CAR-T)疗法是一项突破。CAR 由免疫球蛋白 V 结构域与 T 细胞受体的不变区 CD3 $\zeta$  嵌合而成,可以突破主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性让 T 细胞获得抗体的抗原识别特性,甚至不经抗原加工就可以直接与肿瘤细胞表面的任何抗原相结合。目前已有多项 CAR-T 产品成功应用于血液系统肿瘤的免疫治疗,其中最为经典的就是急性淋巴母细胞白血病的 CAR-T 细胞免疫治疗,所针对的肿瘤抗原是 CD19。世界上最早接受 CAR-T 治疗的小女孩 Emily Whitehead 愈后 11 年仍然健康地活着。在 CAR-T 免疫治疗取得重大成功的基础上,近期又发展出 T 细胞受体-T 细胞(TCR-T)疗法。TCR-T 疗法是靠由  $\alpha$  或  $\beta$  亚基异源二聚体组成的 T 细胞受体识别肿瘤细胞表面的肽-MHC 复合物而实现的,其抗原要经过细胞内加工, T 细胞内负责信号转导的 CD3 复合体则由  $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\zeta$  和  $\epsilon$  亚基组成。CAR-T 和 TCR-T 疗法各有特点和优势。2022 年初, TCR-T 治疗方案首次获

FDA 批准用于特定类型恶性黑色素瘤的治疗,其 TCR 所针对的是由 MHC 所提呈的肿瘤抗原 gp100。陈缘等<sup>[3]</sup>作者有关 T 细胞受体免疫疗法研究进展的综述,对相关的新兴领域进行了比较系统的介绍。他们在概述 T 细胞信号转导并对 CAR-T 和 TCR-T 进行详细比较的前提下,罗列了目前正在进行的有关 TCR-T 免疫治疗的临床试验的基本情况,又对针对肿瘤相关抗原及新抗原的 TCR-T 疗法的设计及研究进展进行了较深入的分析。最后,他们在总结和展望中提出了 TCR-T 研发的 5 项新挑战,希望了解本领域发展现状、方向及困难的读者可以从中得到一些启迪。肿瘤免疫治疗亟需基础与临床的密切合作,这也是我国医学研究的短板之一,我们十分期待我国医学界能够以创新思维在加强基础与临床的合作及创制新的肿瘤免疫疗法方面有更大作为。

细菌及真菌等微生物可在一定条件下群聚在一起,并包埋在自我产生的细胞外基质之中形成生物被膜,一个简单的例子就是牙菌膜。微生物被膜的形成可以视作微生物在宿主及环境中存活并持续生长继而传播到新位置的自我保护机制,可以显著提高其对抗生素及免疫反应的耐受性,也为新型和高效抗菌药物的研制带来极大的挑战。处于生物被膜之中的细菌对抗生素的耐受性可提高上千倍。为应对生物被膜的形成,可以采用植物提取物、纳米颗粒、抗微生物肽、噬菌体及来源于植物的抗菌化合物等具有抗生物被膜活性的物质。孙蕊婕等<sup>[4]</sup>作者采用壳聚糖与螺旋藻形成的复合物来抑制微生物被膜形成的论著,为此类研究提供了新思路。他们通过静电吸附法制备了壳聚糖与螺

旋藻复合物,并对其特征进行了分析,发现其可显著增强对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的生物被膜的抑制作用,又通过共聚焦显微镜观察表明抑制效果主要是通过深入生物被膜内部、破坏细胞结构而实现。他们的研究是创制新型抗生物被膜剂的有益尝试。

2020年德国马普病原学研究机构的Emmanuelle Charpentier和美国加州大学伯克利分校Jennifer A. Doudna两位女科学家获得诺贝尔化学奖,是对她们创立CRISPR基因组编辑技术的重要肯定。CRISPR技术不仅深刻影响生物医学研究,也正在走入临床。全世界第一个利用CRISPR进行基因组编辑治疗镰状细胞贫血及地中海贫血的基因治疗方案,有望分别在2023年底及2024年初得到FDA正式批准。马宝霞等<sup>[5]</sup>作者试图利用细菌乳糖操纵子提高真核细胞中同源重组效率,可以说是CRISPR技术改进之一例;而杨花等<sup>[6]</sup>作者利用CRISPR/Cas9将特定基因敲入绵羊细胞,则是CRISPR技术应用于经济动物基因工程的另一个实例。除此之外,赵无迪等<sup>[7]</sup>作者还对利用碱基编辑技术进行猪遗传改良的研究进展进行了综述。碱基编辑是CRISPR技术之一类,主要通过无切割活性的Cas9蛋白融合的胞嘧啶脱氨酶、腺嘌呤脱氨酶及尿嘧啶DNA糖基化酶进行单碱基的修饰,其精准性有所提高。作者对此技术及其在猪遗传改良方面的一些应用实例进行了介绍,可以为希望了解此领域进展的读者提供参考。CRISPR基因组编辑技术在多方面仍有继续深入发展的空间,会随着时间的推移更加成熟也得到更广泛的应用。除单碱基编辑以外,以Cas12、Cas3和Cas13为基础的编辑、RNA编

辑以及被称为引发编辑(prime editing)的几种新技术都值得注意。引发编辑主要通过逆转录酶与无切割活性的Cas9组成的融合蛋白来实现,是较有代表性的新一代CRISPR技术。

纳米医学就是将纳米生物技术应用于医学,是近年得到蓬勃发展的一个新技术领域。有关纳米医学的学术论文总数,几乎每两年就翻一番,而目前所有有关纳米医学的论文,多半都是在近5年内发表,都说明本领域十分活跃,知识更新也很快。纳米药物的物理化学特性决定了其对人体病变组织的穿透性和留置性俱强。如何使纳米药物的合成达到可控、可重复及可规模化,如何确保纳米药物的安全有效,是本领域的主要挑战。陈鹤鸣等<sup>[8]</sup>作者对HeLa细胞耐受纳米银的机制进行了研究,发现超高浓度的 $\alpha$ -酮戊二酸和谷胱甘肽可协同破坏纳米银的胶体稳定性,从而对纳米银的抗癌作用出现逃逸。他们的工作为纳米银用于肿瘤治疗提供了重要基础资料。前面介绍mRNA疫苗时已提到脂质纳米颗粒递送技术的重要性,显然此技术也可用于递送其他的RNA药物及蛋白质药物与疫苗。白鹭等<sup>[9]</sup>作者利用脂质体纳米颗粒制备结核分枝杆菌EsxV亚单位疫苗,正是另一个应用实例。该疫苗采用鼻黏膜接种,结果发现小鼠呼吸道黏膜分泌性IgA水平增加,黏膜免疫和记忆性T细胞免疫应答都有所增强。此外,本期的另一篇论著也与纳米技术和纳米医学有关。在该文中,刘宇晴等<sup>[10]</sup>作者优化了果蝇视黄素蛋白的表达并将之用于羊毛脂纳米乳液的制备,取得抗反射性能较佳的纳米涂层。某些昆虫的角膜表面覆盖了可以减少光反射的纳米涂层,其中含有视黄素蛋白。通过

仿生学制成类似的纳米涂层，在生物医药及其他领域都有广泛用途。例如在涂层中加入镍、银及铜等离子，就可赋予其抗细菌及抗病毒活性。以上作者的论著，正是优化相关生产流程的一种尝试。

## REFERENCES

- [1] 黄宇翔, 李琪, 叶武, 黄子鸣, 秦涵潇, 赵明, 刘明. 生物 4D 打印技术在心血管组织工程中的研究及应用进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4046-4056.  
HUANG YX, LI Q, YE W, HUANG ZM, QIN HX, ZHAO M, LIU M. 4D bioprinting technology and its application in cardiovascular tissue engineering[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4046-4056 (in Chinese).
- [2] 秦凤铭, 任宁, 成温玉, 魏恒. 传染病 mRNA 疫苗的研究进展及应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 3966-3984.  
QIN FM, REN N, CHENG WY, WEI H. mRNA vaccines for infectious diseases: research progress and applications[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 3966-3984 (in Chinese).
- [3] 陈缘, 高福, 谭曙光. 以 T 细胞受体为基础的免疫疗法研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4004-4028.  
CHEN Y, GAO George F., TAN SG. T cell receptor-based immunotherapy: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4004-4028 (in Chinese).
- [4] 孙蕊婕, 徐童, 刘杨洋, 张黎明, 焦思明, 张毓宸, 高晓冬, 王倬, 杜昱光. 螺旋藻-壳寡糖生物被膜抑制剂的制备、表征及活性评价[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4135-4149.  
SUN RJ, XU T, LIU YY, ZHANG LM, JIAO SM, ZHANG YC, GAO XD, WANG Z, DU YG. Preparation, characterization and activity evaluation of *Spirulina*-chitooligosaccharides capable of inhibiting biofilms[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4135-4149 (in Chinese).
- [5] 马宝霞, 崔婕妤, 钱泓润, 张潇筠, 杨森, 张骐镜, 韩艺帆, 张智英, 王建刚, 徐坤. 一种新型的 CRISPR/Cas9-hLacI 双链 DNA 供体适配基因编辑系统[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4204-4218.  
MA BX, CUI JY, QIAN HR, ZHANG XJ, YANG S, ZHANG QJ, HAN YF, ZHANG ZY, WANG JG, XU K. A novel CRISPR/Cas9-hLacI donor adapting system for dsDNA-templated gene editing[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4204-4218 (in Chinese).
- [6] 杨花, 刘孜斐, 吕文莉, 王锋, 张艳丽. 基于 CRISPR/Cas9 系统构建绵羊 VASA 基因敲入载体及验证[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4219-4233.  
YANG H, LIU ZF, LV WL, WANG F, ZHANG YL. Construction and validation of sheep VASA gene knock-in vector based on CRISPR/Cas9 system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4219-4233 (in Chinese).
- [7] 赵无迪, 黄国斌, 朱向星, 毕延震, 唐冬生. 碱基编辑技术在猪遗传改良中的应用研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 3936-3947.  
ZHAO WD, HUANG GB, ZHU XX, BI YZ, TANG DS. Application of single base editing technique in pig genetic improvement: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 3936-3947 (in Chinese).
- [8] 陈鹤鸣, 何雨婧, 陈学情, 邓富昌, 鲁志松, 刘英帅, 杜华茂. 超高含量的  $\alpha$ -酮戊二酸和谷胱甘肽促成 HeLa 细胞耐受纳米银[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4189-4203.  
CHEN HM, HE YJ, CHEN XQ, DENG FC, LU ZS, LIU YS, DU HM. Silver nanoparticles-resistance of HeLa cell associated with its unusually high concentration of  $\alpha$ -ketoglutarate and glutathione[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4189-4203 (in Chinese).
- [9] 白鹭, 路延之, 宁唤唤, 康亚莉, 谢燕玲, 康健, 李雪, 崔若囡, 韦垠, 刘月芹, 柏银兰. 结核分枝杆菌 EsxV 脂质体纳米颗粒亚单位疫苗的制备及免疫学特性[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4085-4097.  
BAI L, LU YZ, NING HH, KANG YL, XIE YL, KANG J, LI X, CUI RN, WEI Y, LIU YQ, BAI YL. Preparation of *Mycobacterium tuberculosis* EsxV lipid nanoparticles subunit vaccine and its immunological characteristics[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4085-4097 (in Chinese).
- [10] 刘宇晴, 夏媛媛, 沈微, 杨海泉, 陈献忠. 视黄素蛋白的表达优化及其与蜡乳液在纳米涂层中的应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4258-4274.  
LIU YQ, XIA YY, SHEN W, YANG HQ, CHEN XZ. Optimization of retinin expression and the application with wax emulsion in nanocoatings[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4258-4274 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)