

DOI: 10.13376/j.cblls/2023014

文章编号: 1004-0374(2023)01-0095-08



徐萍, 研究员, 中国科学院上海营养与健康研究所生命科学信息中心战略情报部主任, 硕士研究生导师。主要从事生命科学与生物技术领域战略情报研究。获长三角地区科技情报优秀工作者称号, 华东、上海市科技情报成果奖一等奖、二等奖。主持国家自然科学基金、科技部、上海市软科学课题、中科院相关项目多项, 近三年来发表文章 9 篇, 参编专著 3 部, 撰写调研报告多个, 相关专报获领导批示。

## 2022年基因治疗领域发展态势

杨若南, 许 丽, 李 伟, 徐 萍\*

(中国科学院上海营养与健康研究所, 中国科学院上海生命科学信息中心, 上海 200031)

**摘 要:** 基因治疗是通过修饰或操纵基因的表达, 从而改变活细胞的生物学特性, 以达到治疗疾病的目的。基因治疗已成为生物医药领域继小分子、大分子之后的一条热门新赛道。本文对 2022 年全球基因治疗领域的政策规划、研究进展进行了总结。分析发现, 载体递送及基因编辑等技术的突破加速基因治疗发展, 基因治疗应用愈加广泛, 适应证已从遗传性疾病扩展到癌症、心血管疾病等领域, 获批产品不断增多, 基因治疗产业化加速发展。此外, 本文也对基因治疗发展趋势进行了展望。

**关键词:** 基因治疗; 基因编辑疗法; 递送技术; 遗传性疾病

中图分类号: R456

文献标志码: A

## The development of gene therapy in 2022

YANG Ruo-Nan, XU Li, LI Wei, XU Ping\*

(Shanghai Information Center for Life Sciences, Shanghai Institute of Nutrition and Health,  
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** Gene therapy refers to the treatment of diseases by modifying or manipulating the expression of genes, or altering the biological characteristics of living cells. Gene therapy has become a new important research direction in the field of biomedicine and biopharmaceutical. This review summarizes the policy planning and research progress in the field of gene therapy worldwide in 2022. It shows that the breakthrough of drug delivery system and gene editing technology accelerates the development of gene therapy, and the application of gene therapy is more and

收稿日期: 2023-01-14; 修回日期: 2023-01-18

基金项目: 中国科学院重点部署项目“生命与健康战略研究”(KJZD-SW-L09); 中国科学院文献情报能力建设专项子课题“生命与健康领域科技态势战略研判”; 上海市“科技创新行动计划”软科学研究项目“上海打造双碳时代绿色技术创新策源地——生物制造发展战略研究”(22692193400)

\*通信作者: E-mail: xuping@sinh.ac.cn

more extensive. The indications have been extended from genetic diseases to cancer and cardiovascular disease and other conditions. The number of approved products is increasing, and the industrialization of gene therapy is accelerating. The development trend of gene therapy is also prospected in this review.

**Key words:** gene therapy; gene-editing therapy; drug-delivery technology; genetic disease

基因治疗是通过修饰或操纵基因的表达,从而改变活细胞的生物学特性,以治疗疾病的一种治疗手段。基因治疗萌芽于20世纪60年代,90年代开始步入临床阶段;直到21世纪初,随着基因组测序的快速发展,病毒及非病毒载体技术的进步以及基因治疗安全性的提升,基因治疗开始逐渐取得突破,进入高速发展阶段。此后,CRISPR等突破性技术的不断涌现进一步丰富了基因治疗技术体系,为基因治疗的发展带来了新契机。近年来基因治疗快速发展,已成为生物医药领域继小分子、大分子后的一条新赛道。目前全球已有10余款基因治疗产品上市,尤其是2022年,4款产品迎来全球首批,且均为相应适应证的首个基因治疗药物。基于CRISPR的基因编辑疗法在2022年也步入上市申请阶段。从疾病角度来看,2022年的多项研究进展证明了基因治疗不仅具有一次性治愈遗传性疾病的潜力,还为糖尿病、心血管疾病等提供新的治疗理念和手段。

## 1 全球基因治疗相关规划

全球生物医药产业蓬勃发展,基因治疗作为生物医药的重要新兴领域,已成为全球多个国家/地区战略规划布局的重点。2022年,美国对基因治疗进行了多方位资助。美国新成立的高级健康研究计划局(The Advanced Research Projects Agency for Health, ARPA-H)将支持提高药物或基因治疗载体靶向性的分子研究。同时,基因治疗作为美国《国家生物技术和生物制造计划》的重要组成部分被列入多个资助机构的规划中,如美国生物制药制造创新机构(National Institute for Innovation in Manufacturing Biopharmaceuticals, NIIMBL)将启动计划以促进基因疗法等相关生物制造技术的转化,美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)将支持罕见病基因治疗临床试验等。美国白宫还通过重启“癌症登月计划”支持癌症相关基因治疗研究。欧盟通过“研发框架计划”(Framework Programme, FP)、“健康欧盟计划”(EU4Health Programme 2021-2027)及

“创新药物计划”(Innovative Medicines Initiative, IMI)等长期支持基因治疗研究。法国的“生物治疗和创新治疗用生物制品”加速战略也重点部署基因治疗的研究与开发。印度科技部发布的《2021—2025年国家生物技术发展战略:知识驱动生物经济》(Nation Biotechnology Development Strategy (2021-2025))也提出对基因编辑和基因疗法等进行优先资助。巴西卫生部即将建立的科学、技术和创新机构,也将促进基因治疗、先进细胞治疗等的开发列为重要内容。

## 2 基因治疗研发进展

2022年基因治疗在不同适应证的应用研发、基于基因编辑技术的基因治疗、载体递送技术等方面持续取得重要进展。截至2023年1月,ClinicalTrials.gov数据库收录了656项正在进行或已完成的基因治疗相关临床试验<sup>1</sup>(图1)。全球已有12款产品获批上市(表1)。从临床试验及获批产品的适应证上来看,基因治疗主要在代谢、血液、眼部及神经系统等领域的遗传性疾病中取得重要进展。

### 2.1 不同适应证基因治疗研发进展

#### 2.1.1 遗传性代谢病基因治疗研发进展

从获批产品来看,针对遗传性代谢病已有4款产品上市,包括2012年欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)批准的首个基因疗法药物Glybera,以及早发型异染性脑白质营养不良(MLD)基因疗法药物Libmeldy、早期脑性肾上腺脑白质营养不良(ALD)基因疗法药物Skysona和芳香族L-氨基酸脱羧酶(AADC)缺乏症基因疗法药物Upstaza。其中,由荷兰UniQure公司研发的用于治疗家族性脂蛋白脂酶缺乏症的Glybera与美国Bluebird Bio公司研发的Skysona均由于巨额的医疗费用及市场需求等原因退出欧洲市场,但Skysona于2022年9月获得美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的批准在美国重新上市。此外,2022年7月获EMA批准上市的Upstaza是首个直接注入大脑的基因疗法,该疗法是通过AAV2载体直接向患者脑内递送缺乏的多巴脱羧酶基因DDC。

<sup>1</sup>不包括CAR-T细胞治疗及TCR-T细胞治疗等纳入免疫细胞治疗的临床试验统计数据。

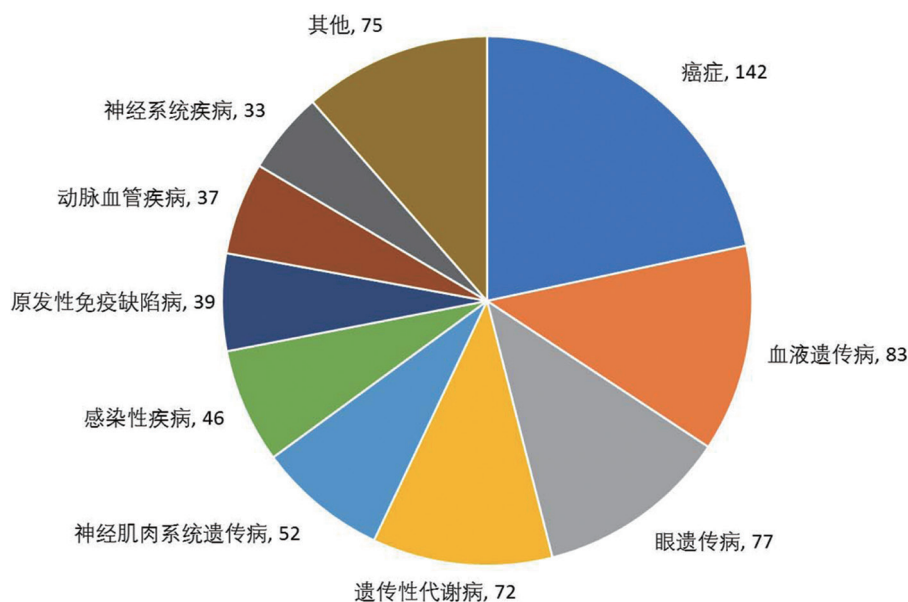


图1 基因治疗临床试验适应证分布情况

表1 全球已获批基因治疗产品

名称	研发机构	适应证	批准时间/机构	载体	给药方式
今又生	深圳赛百诺	头颈部鳞癌	2003年原CFDA	腺病毒	体内(局部)
Glybera	荷兰UniQure	家族性脂蛋白脂肪酶缺乏症	2012年EMA	腺相关病毒(AAV)	体内(肌肉)
Strimvelis	英国GSK	腺苷脱氨酶缺乏性重度联合免疫缺陷症	2016年EMA	逆转录病毒	离体
Luxturna	瑞士Roche	双等位基因RPE65突变导致的遗传性视网膜营养不良	2017年FDA	AAV	体内(视网膜)
Zolgensma	瑞士Novartis	脊髓性肌萎缩	2019年FDA	AAV	体内(静脉)
Zynteglo	美国Bluebird Bio	非 $\beta^0/\beta^0$ 基因型 $\beta$ 地中海贫血	2019年EMA、2022年FDA	慢病毒	离体
Libmeldy	英国Orchard	异染性脑白质营养不良	2020年EMA	慢病毒	离体
Skysona	美国Bluebird Bio	早期脑性肾上腺脑白质营养不良	2021年EMA (已退市)、 2022年FDA	慢病毒	离体
Upstaza	美国PTC Therapeutics	芳香族L-氨基酸脱羧酶缺乏症	2022年FDA	AAV2	体内(大脑)
Roctavian	美国BioMarin Pharmaceutical	血友病A	2022年EMA、FDA	AAV5	体内
EtranaDez	澳大利亚CSL Behring	血友病B	2022年FDA	AAV5	体内(静脉)
Adstiladrin	瑞典Ferring Pharmaceuticals	膀胱癌	2022年FDA	腺病毒	体内

注: CFDA, 原国家食品药品监督管理总局; FDA, 美国食品药品监督管理局; EMA, 欧洲药品管理局

针对其他遗传性代谢病的基因疗法也在不断开发中, 美国马萨诸塞州立大学 Chan 医学院等机构利用两种 AAV 载体将分别编码己糖胺酶 A (HexA) 两种不同亚基的基因经鞘内注射递送至 2 名患有由 HexA 酶缺乏引起的泰 - 萨克斯病 (Tay-Sachs disease) 的儿童体内, 成功改善了疾病症状<sup>[1]</sup>。2022 年, 上

海天泽云泰生物医药有限公司 (天泽云泰) 自主研发的用于治疗戊二酸血症 I 型 (GA- I) 的 VGM-R02b 和治疗神经病变型戈谢病 (nGD) 的 VGN-R08b 先后获得美国 FDA 授予的罕见儿科疾病认定 (rare pediatric disease designation, RPDD), 其中 VGM-R02b 是全球首个用于 GA- I 的基因治疗产品。



### 2.1.2 血液遗传病基因治疗研发进展

在血液遗传病领域,全球首个基因治疗药物为美国 Bluebird Bio 公司开发的 Zynteglo, 该药于 2019 年获 EMA 批准上市, 用于治疗  $\beta$  地中海贫血; 2022 年 8 月, 该产品在美国也获批上市。治疗血友病的基因疗法在 2022 年取得重要进展, 两款产品相继获批上市。8 月, 由美国 BioMarin Pharmaceutical 公司开发的基因治疗药物 Roctavian 获 EMA 有条件批准上市, 成为全球首个针对血友病 A 的基因疗法; 11 月, 全球首个血友病 B 基因治疗产品也获得美国 FDA 批准上市, 为荷兰 UniQure 公司 / 澳大利亚 CSL Behring 公司开发的药物 EtranaDez。Roctavian 和 EtranaDez 均利用 AAV5 载体向体内分别递送编码凝血因子 VIII 和 IX 的功能性基因。针对血友病 B, 我国上海信致医药科技有限公司 (信念医药科技)、天泽云泰和四川至善唯新生物科技有限公司开发的基因治疗产品已获批进入临床。其中, 信念医药科技自主研发的 BBM-H901 是我国首个获批进入临床的血友病 B 基因治疗产品。BBM-H901 的安全性和有效性已在了一项研究者发起的临床试验 (investigator-initiated clinical trial, IIT) 中得到验证<sup>[2]</sup>。随后, 另一项研究显示, 一名接受 BBM-H901 治疗的患者还成功进行了膝关节置换手术, 术中无补充外源凝血因子 IX<sup>[3]</sup>, 该研究进一步证实了 BBM-H901 对血友病治疗的有效性。基于优异的疗效, 该产品已分别获得美国 FDA 孤儿药资格认定和我国国家药品监督管理局 (National Medical Products Administration, NMPA) 突破性治疗药物资格。

### 2.1.3 眼遗传病基因治疗研发进展

由于眼部的相对免疫豁免特性及所需药量较小等原因, 眼遗传病也是基因治疗研发的一个重要方向, 目前的适应证主要包括遗传性视网膜营养不良 (IRD)、视网膜色素变性 (RP)、无脉络膜症 (CHM)、Leber 遗传性视神经病变 (LHON)、Leber 先天性黑蒙 (LCA) 等。2017 年, 美国 FDA 批准了首个用于遗传性视网膜疾病的基因治疗药物 Luxturna, 通过直接向视网膜注射 Luxturna 治疗由双等位基因 *RPE65* 突变导致的 IRD 患者。针对该适应证, 上海朗昇生物科技有限公司的 LX101 和方拓生物科技有限公司的 FT-001 于 2022 年已分别获得我国 NMPA 临床试验许可, 且 FT-001 的临床试验申请还获得了美国 FDA 许可, 目前在国内已完成首例患者给药。法国 GenSight Biologics 公司开发的 Lumevoq 是一款用于治疗由 *ND4* 线粒体基因突变引起的 LHON

的基因治疗药物, 其采用 rAAV2/2 载体向体内递送 *ND4* 基因; 最新 5 年随访结果数据显示, 患者在接受一次性治疗后, 耐受性良好且视力明显改善。目前, 该公司已向 EMA 提交上市申请, 此前 Lumevoq 已获得法国临时使用授权。武汉纽福斯生物科技有限公司开发的 NR082 也是针对该适应证, 已进入临床 III 期, 2022 年 1 月还获得了 FDA 的新药临床研究申请许可, 是我国首个获得 FDA 临床试验许可的眼科基因治疗药物。另外, 针对 *CYP4V2* 基因突变导致的结晶样视网膜膜变性, 2022 年, 天津云泰的 VGR-R01 和北京中因科技有限公司的 ZVS101e 已先后获批进入临床。除遗传性眼病外, 基因治疗也为年龄相关性黄斑变性 (AMD) 提供了新疗法, 成都弘基生物科技有限公司 (康弘药业子公司) 的 KH631 已先后获得中美临床许可用于治疗湿性 AMD (wet-AMD)。

### 2.1.4 神经肌肉系统遗传病基因治疗研发进展

在神经肌肉系统疾病领域, 目前主要针对脊髓性肌萎缩 (SMA)、进行性假肥大性肌营养不良 (DMD)、庞贝病 (Pompe disease)、肢带型肌营养不良 (LGMD) 等进行基因治疗产品的开发。2019 年, 美国第二款基因治疗药物 Zolgensma 上市, 用于治疗 2 岁以下患有由 *SMN1* 等位突变导致的脊髓性肌萎缩儿童患者。2022 年 1 月, 该产品在中国获得临床试验默示许可; 4 月, 已启动 III 期临床试验。2022 年 6 月, 我国首个针对该疾病自主研发的基因治疗产品也获得 NMPA 批准进入临床, 为杭州嘉因生物科技有限公司自主研发的 EXG001-307。此外, 北海康成制药有限公司与美国马萨诸塞州立大学 Chan 医学院正合作开发用于治疗脊髓性肌萎缩的新型第二代 AAV 基因疗法 scAAV9-SMN1p-co-hSMN1, 在 2022 年美国基因与细胞治疗学会 (ASGCT) 上公布的动物实验研究数据显示, 与基准载体基因疗法相比, 该产品表现出更好的安全性和有效性。2023 年 1 月, 北海康成制药有限公司已从美国马萨诸塞州立大学 Chan 医学院获得该疗法的全球独家授权。进行性假肥大性肌营养不良也将有望迎来首个基因治疗药物, 美国 Sarepta Therapeutics 公司 / 瑞士 Roche 公司开发的基因疗法 SRP-9001 上市申请已获得 FDA 优先审评资格, SRP-9001 以 AAVrh74 为载体将编码微营养不良蛋白 (micro-dystrophin) 的基因递送到肌肉组织细胞以达到治疗效果。此外, 美国 Solid Biosciences 公司研发的以 AAV9 为载体的 SGT-001 目前也正进行用于 DMD 的 I / II 期临床

试验。庞贝病分婴儿型庞贝病 (IOPD) 和晚发型庞贝病 (LOPD), 目前国际上主要针对 LOPD 进行基因治疗产品的临床开发, 如日本 Astellas Pharma 公司的 AT845 和瑞士 Roche 公司的 SPK-3006; 北京锦篮基因科技有限公司则开展了国际上首个 AAV 静脉注射治疗 IOPD 的临床研究, 相关产品 GC301 已完成首例患者给药。

### 2.1.5 遗传性耳聋基因治疗研发进展

遗传性耳聋也是基因治疗的潜在应用领域。OTOF 基因突变是引起遗传性耳聋的一大原因, 由于 OTOF 基因过大超过单个 AAV 载体载荷, 因此当前开发的基因疗法多采用双 AAV 载体策略。针对该疾病, 2022 年, 美国 Akouos 公司 (被美国礼来公司收购) 和 Decibel Therapeutics 公司分别开发的基因疗法 AK-OTOF 和 DB-OTO 先后获 FDA 批准进入临床, 法国 Sensorion 公司的 OTOF-GT 也获得了 FDA 孤儿药资格认定。2022 年 11 月, 上海鼎新基因科技有限公司与复旦大学附属眼耳鼻喉科医院合作启动国内首个用于治疗耳聋的基因疗法临床试验, 其开发的基因疗法 RRG-003 也采用 AAV 双载体将药物递送至耳蜗内, 恢复或改善 OTOF 突变耳聋患儿的听觉和语言功能, 目前已完成首例患者给药。

### 2.1.6 其他疾病基因治疗研发进展

除遗传性疾病外, 通过向体内递送各种功能性基因, 基因治疗逐渐在癌症、传染病及其他常见病等非遗传性疾病中开辟出新的道路, 其潜力将得到极大拓展。从适应证来看, 全球首个获批的基因治疗产品并非用于遗传病而是癌症。2003 年, 我国率先批准了世界上首个基因治疗产品——重组人 P53 腺病毒注射液 (今又生), 该药由深圳市赛百诺基因技术有限公司研发, 用于治疗头颈部鳞状细胞癌。时隔近 20 年, 另一款用于癌症的基因治疗药物 Adstiladriin 成功获 FDA 批准上市, 其由瑞士 Ferring Pharmaceuticals 公司开发用于治疗膀胱癌, 通过利用不能复制的腺病毒载体将编码干扰素  $\alpha$ -2b 的基因递送至膀胱增强机体抗肿瘤效果。另外, 美国 NIH 等机构的一项 I 期临床试验显示, 利用 AAV8 载体向 HIV 感染者体内递送表达 HIV-1 广泛中和抗体 VRC07 的基因, 可使体内持久地产生具有生物活性的难以诱导产生的广泛中和抗体, 并具有良好的安全性和耐受性<sup>[4]</sup>。英国伦敦大学学院的研究人

员发现, 在癫痫小鼠模型中, 将能对神经元刺激做出反应的 *cfos* 基因的启动子和 *KCNA1* 钾离子通道基因组合后递送至体内, 可有效降低过度活跃的脑细胞兴奋性, 持续治疗癫痫, 同时不干扰正常细胞行为, 这种活性依赖性基因治疗系统为其他神经系统疾病提供了新的治疗方法<sup>[5]</sup>。比利时鲁汶大学等机构通过递送相应基因使星形胶质细胞产生 IL-2, 增加脑内的 Treg 细胞数量, 在创伤性脑损伤 (TBI)、中风 (stroke) 和多发性硬化症 (MS) 小鼠模型中可有效改善神经炎症<sup>[6]</sup>。

## 2.2 基于基因编辑技术的基因治疗研发进展

基于基因编辑技术的基因治疗可实现对特定位点的精确编辑, 也称为基因编辑疗法。基因编辑技术主要包括 ZFN 技术、TALEN 技术及 CRISPR 技术, 其中 CRISPR 技术自 2012 年发明以来, 以其简便有效迅速风靡全球, 快速推动了基因编辑疗法的发展。截至 2023 年 1 月, ClinicalTrials.gov 数据库收录了 20 项正进行或已完成的 CRISPR 基因编辑疗法临床试验<sup>2</sup> (表 2), 目前还未有上市产品, 预计 2023 年将迎来首款 CRISPR 基因编辑治疗产品上市。从适应证来看, 基因编辑疗法目前主要用于遗传性疾病的治疗, 血液遗传病是当前最为集中的研发领域。

### 2.2.1 遗传性疾病基因编辑疗法研发进展

CRISPR 基因编辑疗法包括体内和体外基因编辑疗法, 在遗传性疾病领域均已取得多项突破性临床成果。其中, 体外基因编辑疗法将迎来首个商业化产品, 瑞士 CRISPR Therapeutics 公司和美国 Vertex Pharmaceuticals 公司已联合向 FDA 提交首个 CRISPR 基因编辑疗法 *exagamglogene autotemcel* (exa-cel, CTX001) 的上市申请, 此前该产品治疗镰刀型细胞贫血病 (SCD) 和输血依赖性  $\beta$  地中海贫血 (TDT) 的临床研究取得突破性成果, 并入选 *Science* 杂志 2020 年十大科学突破。针对该类疾病, 我国研发也取得重要进展。2022 年 8 月, 上海邦耀生物科技有限公司 (邦耀生物) 和中南大学利用 CRISPR 技术通过编辑 *BCL11A* 红系特异增强子激活  $\gamma$  珠蛋白的表达, 回输后的自体造血干细胞有效缓解了  $\beta^0/\beta^0$  型重度地中海贫血症状, 其中 2 名儿童患者已成功摆脱输血依赖长达 2 年; 基于此, 邦耀生物开发的基因编辑治疗药物 BRL-101 已获 NMPA 批准开展 I / II 期临床试验, 并于 9 月份正式启动。

<sup>2</sup>基于 CRISPR 的 CAR-T 疗法纳入 CAR-T 细胞治疗临床统计, 此处不包括 CAR-T 细胞治疗临床数据。

表2 正在开发的CRISPR基因编辑疗法举例

药物	研发机构	适应证	研发阶段	获批机构
CTX001	瑞士CRISPR Therapeutics/美国Vertex Pharmaceuticals	镰刀型细胞贫血病(SCD)/ $\beta$ 地中海贫血	临床 II / III 期	FDA
OTQ923	美国Intellia Therapeutics/瑞士Novartis	SCD	临床 I / II 期	FDA
EDIT-301	美国Editas Medicine	SCD	临床 I / II 期	FDA
GPH101	美国Graphite Bio	SCD	临床 I / II 期	FDA
CRISPR_SCD001	美国加州大学	SCD	临床 I / II 期	FDA
BEAM-101	美国Beam Therapeutics	SCD/ $\beta$ 地中海贫血	临床 I / II 期	FDA
BRL-101	上海邦耀生物	$\beta$ 地中海贫血	临床 I / II 期	NMPA
ET-01	博雅辑因(北京)	$\beta$ 地中海贫血	临床 I 期	NMPA
RM-001	广州瑞风生物	$\beta$ 地中海贫血	临床 I 期	NMPA
NTLA-2001	美国Intellia Therapeutics/美国Regeneron Pharmaceuticals	转甲状腺素蛋白淀粉样变性病	临床 I 期	FDA
NTLA-2002	美国Intellia Therapeutics	遗传性血管性水肿	临床 I / II 期	FDA
Verve-101	美国Verve Therapeutics	杂合子型家族性高胆固醇血症	临床 I 期	FDA
VCTX210	瑞士CRISPR Therapeutics/美国ViaCyte	1型糖尿病	临床 I 期	FDA
EBT-101	美国Excision BioTherapeutics	HIV-1 病毒感染	临床 I 期	FDA
BD111	上海本导基因/复旦大学	单纯疱疹病毒性角膜炎	临床 I / II 期	NMPA

注：NMPA，国家药品监督管理局；FDA，美国食品药品监督管理局。

由于基因编辑疗法在该类疾病中已展现出极大治疗潜力，全球多款基于不同靶标的产品正相继进入临床。美国 Editas Medicine 公司基于 CRISPR/Cas12a 开发的 EDIT-301 通过靶向  $\gamma$  珠蛋白基因启动子区域重新激活  $\gamma$  珠蛋白的表达，进而达到治疗的目的；该产品于 2021 年获 FDA 批准开展临床，2022 年先后获得 FDA 授予的罕见儿科疾病和孤儿药认定。我国广州瑞风生物科技有限公司也针对该靶点自主研发了  $\beta$  地中海贫血基因编辑药物 RM-001，已获批开展临床试验。

继 2020 年体外基因编辑疗法临床率先取得成功后，美国 Intellia Therapeutics 公司等联合开发的体内基因编辑药物 NTLA-2001 在 I 期临床试验中也取得突破性进展，中期数据显示单剂 NTLA-2001 可有效降低遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性伴多发性神经病 (ATTR-PN) 患者 ATTR 水平，首次证明了人体体内 CRISPR 基因编辑的安全性和有效性，并入选 *Science* 杂志 2021 年十大科学突破。2022 年，该公司开发的第二款 CRISPR 体内基因编辑疗法 NTLA-2002 也在 I 期临床试验中获得积极结果，单剂 NTLA-2002 静脉输注可将遗传性血管性水肿 (HAE) 患者血浆中的关键致病蛋白水平降低 92%。近一年来，研究人员在开发遗传性疾病的体内基因疗法上还取得多项临床前研究进展。香港中文大学等在成年和新生血友病 B 小鼠中利用低剂量 AAV

递送的 CRISPR 成功实现了有效的人源 *F9* 基因敲入和整合表达，恢复了凝血因子 IX 的表达，该研究为开发 AAV 载体介导的 CRISPR 疗法提供了支持<sup>[7]</sup>。复旦大学等机构首次利用 CRISPR/Cas9 技术，基于同源臂介导的末端接合 (HMEJ) 策略成功实现 *Klhl18* 基因的有效编辑，恢复了感受声音的内毛细胞静纤毛形态，在隐性遗传性感音神经性聋小鼠中显著改善听力长达 6 个月<sup>[8]</sup>。随着基因编辑技术的不断进步，可实现最小程度基因修饰的单碱基编辑由于更高的编辑效率和更好的安全性，在单基因遗传疾病治疗中具有巨大的潜力，目前相关产品已逐步进入临床阶段。美国 Verve Therapeutics 公司开发的碱基编辑疗法 VERVE-101 在新西兰获批开展人体临床试验，用于治疗杂合子型家族性高胆固醇血症 (FH)，这也是首个体内碱基编辑的临床试验；临床前研究显示，在非人灵长类动物中，VERVE-101 可使血液中前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 9 (PCSK9) 在蛋白质水平上平均下降 83%，低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 平均减少 69%<sup>[9]</sup>。

### 2.2.2 非遗传性疾病基因编辑疗法研发进展

除遗传性疾病外，目前体内基因编辑疗法也正因为 HIV、病毒性角膜炎、乙肝及癌症等提供新治疗方法。针对 HIV 感染，研究人员正利用 CRISPR 技术开发多种体内编辑治疗策略。美国 Excision BioTherapeutics 公司开发的体内基因编辑疗法 EBT-



101, 可利用 AAV 递送的 CRISPR-Cas9 系统对 HIV 感染者体内的 HIV 基因组进行切除, 还可最大限度地减少潜在的病毒逃逸, 目前已启动 I / II 期临床试验。以色列特拉维夫大学等机构的研究人员使用 AAV 载体递送的 CRISPR 系统成功地在小鼠体内实现了 B 细胞编辑, 并使其产生了高滴度的 HIV 中和抗体 3BNC117<sup>[10]</sup>。上海本导基因技术有限公司开发了用于治疗病毒型角膜炎的基因编辑药物 BD111, 可直接靶向切割 1 型单纯疱疹病毒 (HSV-1) 基因组, 于 2022 年 6 月获得 FDA 授予的孤儿药资格。此外, 美国 Beam Therapeutics 公司近期的临床前数据显示其开发的多重碱基编辑平台可为乙肝治疗提供潜在方法。在癌症治疗方面, 除了目前临床上主要利用 CRISPR 技术改造免疫细胞来实现肿瘤免疫治疗外, CRISPR 基因编辑直接靶向驱动癌症的基因变异也是一个充满挑战的潜在研究方向, 实现肿瘤的特异性递送以及高效率的基因编辑将进一步推动体内抗癌疗法的发展<sup>[11]</sup>。

### 2.3 载体递送技术研发进展

靶向递送是基因治疗的关键环节之一, 对载体进行优化设计以及开发新的递送系统以实现安全有效且多种特定组织的靶向递送具有重要意义。目前的递送方式主要分两种: 病毒法和非病毒法。病毒载体主要包括腺病毒、AAV、逆转录病毒、慢病毒等, 具有转染效率高、宿主细胞选择范围广、基因表达稳定及持续时间长等优势, 但同时也具有免疫原性高、生产工艺复杂、成本较高及插入突变引起安全性问题等劣势。另外, 对于 CRISPR/Cas9 系统来说, AAV 载体容量较小, 目前研究中可选择较小的 Cas 蛋白或采用双重 AAV 载体。与病毒法相比, 脂质体转染法等非病毒方法生产成本较低, 不易引起安全性问题, 但其转染效率较低且表达持续时间短, 因此在基因治疗临床试验中, 以病毒为载体的递送技术仍是主流。

在众多的病毒载体中, AAV 是目前基因治疗最常用的载体。不同血清型的 AAV 由于衣壳蛋白结构的不同, 因而具有不同的组织趋向性, 目前已有的十余种血清型的 AAV 载体可实现肝脏、肌肉及神经系统等的靶向递送, 但递送效率有限, 为实现相应的治疗效果需提高使用剂量, 因此为避免高剂量载体带来的安全性问题, 有必要进一步提高载体的靶向性及递送效率。2022 年, 研究人员在进一步改造病毒以有效靶向神经系统和肌肉方面取得了重要进展。美国哈佛大学等机构基于 AAV9 设计出

一种新变体 AAV.CPP.16, 在小鼠和非人灵长类动物中静脉注射后可更有效地跨越血脑屏障, 提高神经系统细胞的转染效率<sup>[12]</sup>。美国加州理工学院等机构也成功定向进化出新 AAV9 变体, 不仅实现了目的基因在啮齿动物和非人灵长类动物周围神经系统中的高效递送, 还可跨越血脑屏障传递至猕猴的中枢神经系统<sup>[13]</sup>。北京生命科学研究所等机构也基于 AAV9 定向进化得到两种新型 rAAV 载体 AAV-cMG 和 AAV-MG, 可在体外和体内实现小胶质细胞的有效递送<sup>[14]</sup>。德国海德堡大学等机构的研究人员开发出一种具有更高肌肉特异性的 AAV 载体, 并在 X 连锁肌管肌病 (XLMTM) 小鼠模型中证明基于该载体开发出的基因疗法可显著改善疾病症状<sup>[15]</sup>。

除病毒载体外, 其他新型载体如介于病毒载体和非病毒载体之间的类病毒体 (VLP) 递送技术也在不断开发中。美国哈佛大学等机构以逆转录病毒为基础开发出一种可递送碱基编辑器或 Cas9 核糖核蛋白的工程化病毒样颗粒 eVLPs, 在小鼠体内实现多个组织的高效基因编辑治疗, 包括降低血清中 PCSK9 蛋白浓度及部分恢复遗传性失明小鼠的视觉功能<sup>[16]</sup>。

## 3 未来展望与趋势

近十年来, 基因治疗在遗传性疾病领域取得了多项突破, 未来扩大疾病治疗范围、实现更多组织器官的靶向递送、进一步提升长期有效性和安全性以及提高可及性等将成为基因治疗的发展重点。

从研究角度来看, 在大数据时代, 充分利用人类基因组测序成果, 加强对疾病的基础性研究, 开发更多的新靶点、新机制和新治疗方法, 将极大突破当前遗传性疾病的治疗范围。作为基因治疗过程中的关键技术, 递送技术的进步将极大推动基因治疗应用范围, 高效、安全、低免疫原性的新型基因治疗载体仍需不断优化、开发。通过对 AAV 进行各种定向进化和合理设计改造, 以进一步实现除肝外向其他组织器官, 如中枢神经系统、肺、肌肉等的安全有效递送, 也将极大地扩展未来基因治疗的适应范围, 为更多疾病带来有效治疗手段; 而开发更多有效的非病毒载体, 如脂质纳米颗粒、类病毒体以及细胞外囊泡等, 还将有助于进一步降低生产成本。

此外, 基因治疗领域还要关注治疗的持久性和安全性问题以及可及性问题。目前, 基因治疗的持久性仍需长期随访证明。在安全性方面, 人类目前

对疾病基因的功能以及相关生物学机制的了解有限,使基因治疗仍面临一定风险,AAV、Cas蛋白的免疫原性及患者体内预存Cas蛋白抗体等也为基因治疗的临床应用带来挑战。加强对疾病的生物学理解将提升基因治疗的安全性,同时,提升编辑效率也将减小由于基因编辑技术的脱靶效应带来的未知安全问题。整体来看,为保证基因治疗的安全性和有效性,尚需长期、全面、深入的临床前和临床研究。在药物可及性方面,基因治疗药物牢牢占据全球最贵药物榜单,如儿童脊髓性肌萎缩基因治疗药物Zolgensma定价212.5万美元, $\beta$ 地中海贫血基因治疗药物Zynteglo定价280万美元,血友病B基因治疗药物Hemgenix定价350万美元,高昂定价已成为限制其使用的一大重要因素,多款药物面临商业化失败,如Zynteglo在欧洲的退市等。未来或可通过关键技术创新、生产技术优化等进一步降低生产成本,并探索新的支付条件及医保条件,如分期付款、按疗效付费等。

#### [参 考 文 献]

- [1] Flotte TR, Cataltepe O, Puri A, et al. AAV gene therapy for Tay-Sachs disease. *Nat Med*, 2022, 28: 251-9
- [2] Xue F, Li H, Wu X, et al. Safety and activity of an engineered, liver-tropic adeno-associated virus vector expressing a hyperactive Padua factor IX administered with prophylactic glucocorticoids in patients with haemophilia B: a single-centre, single-arm, phase 1, pilot trial. *Lancet Haematol*, 2022, 9: e504-13
- [3] Xue F, Wang P, Yuan Z, et al. Total knee arthroplasty after gene therapy for hemophilia B. *N Engl J Med*, 2022, 387: 1622-4
- [4] Casazza JP, Cale EM, Narpala S, et al. Safety and tolerability of AAV8 delivery of a broadly neutralizing antibody in adults living with HIV: a phase 1, dose-escalation trial. *Nat Med*, 2022, 28: 1022-30
- [5] Qiu Y, O'Neill N, Maffei B, et al. On-demand cell-autonomous gene therapy for brain circuit disorders. *Science*, 2022, 378: 523-32
- [6] Yshii L, Pasciuto E, Bielefeld P, et al. Astrocyte-targeted gene delivery of interleukin 2 specifically increases brain-resident regulatory T cell numbers and protects against pathological neuroinflammation. *Nat Immunol*, 2022, 23: 878-91
- [7] He X, Zhang Z, Xue J, et al. Low-dose AAV-CRISPR-mediated liver-specific knock-in restored hemostasis in neonatal hemophilia B mice with subtle antibody response. *Nat Commun*, 2022, 13: 72-5
- [8] Gu X, Hu X, Wang D, et al. Treatment of autosomal recessive hearing loss via *in vivo* CRISPR/Cas9-mediated optimized homology-directed repair in mice. *Cell Res*, 2022, 32: 699-702
- [9] Lee RG, Mazzola AM, Braun MC, et al. Efficacy and safety of an investigational single-course CRISPR base editing therapy targeting PCSK9 in non-human primate and mouse models. *Circulation*, 2023, 147: 242-53
- [10] Nahmad AD, Lazzarotto CR, Zelikson N, et al. *In vivo* engineered B cells secrete high titers of broadly neutralizing anti-HIV antibodies in mice. *Nat Biotechnol*, 2022, 40: 1241-9
- [11] Katti A, Diaz BJ, Caragine CM, et al. CRISPR in cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 259-79
- [12] Yao Y, Wang J, Liu Y, et al. Variants of the adeno-associated virus serotype 9 with enhanced penetration of the blood-brain barrier in rodents and primates. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6: 1257-71
- [13] Chen X, Ravindra Kumar S, Adams CD, et al. Engineered AAVs for non-invasive gene delivery to rodent and non-human primate nervous systems. *Neuron*, 2022, 110: 2242-57.e6
- [14] Lin R, Zhou Y, Yan T, et al. Directed evolution of adeno-associated virus for efficient gene delivery to microglia. *Nat Methods*, 2022, 19: 976-85
- [15] El Andari J, Renaud-Gabardos E, Tulalamba W, et al. Semirational bioengineering of AAV vectors with increased potency and specificity for systemic gene therapy of muscle disorders. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn4704
- [16] Banskota S, Raguram A, Suh S, et al. Engineered virus-like particles for efficient *in vivo* delivery of therapeutic proteins. *Cell*, 2022, 185: 250-65.e16