



袁慧军, 研究员、博士生导师, 四川大学华西医院罕见病研究院院长。国家杰出青年基金获得者。中国遗传学会常务理事, 中国遗传学会罕见病专业委员会主任委员, 中华医学会医学遗传学分会常务委员, 中国医师协会医学遗传医师分会常务委员/人类遗传学与基因组医学学组组长, *J Genet Genomics* 副主编。长期从事聋病分子遗传学研究, 在 *Sci Adv*、*Am J Hum Genet*、*Adv Sci*、*Mol Biol Evol*、*Sci China Life Sci* 等期刊发表 SCI 论文百余篇。在国际上首次发现了 3 个耳聋致病新基因 *PCDH15*、*PRPS1* 和 *DIABLO* (*Hum Mol Genet*; *Am J Hum Genet*; *Am J Hum Genet*)。获第五届“全国优秀科技工作者”称号。

罕见病基因治疗研究进展: 从技术突破到临床转化

张英杰, 袁慧军*

(四川大学华西医院罕见病研究院, 成都 610041)

摘要: 罕见病(rare diseases)单一病种患病率虽低, 但全球累计患者规模庞大, 其中约 80% 由单基因遗传缺陷所致, 使其成为基因治疗技术最具可行性和示范意义的优先应用场景, 也是医学创新的重要前沿。长期以来, 罕见病患者普遍面临诊断延迟、治疗选择匮乏甚至“无药可医”的临床困境。近年来, 随着腺相关病毒载体和非病毒递送系统的工程化迭代和成熟, 以及治疗策略从基因替代向基因编辑乃至基因组层级重塑的跨越式演进, 罕见病治疗范式正由终身对症管理逐步迈向潜在的“一次性治愈”干预。基于当前不断积累的罕见病临床前与临床研究证据, 本文系统综述了基因治疗的关键技术图谱; 重点分析了治疗策略、递送载体、安全性风险、规模化制造瓶颈以及高昂定价所引发的多维挑战; 探讨了基因治疗从“通用型平台化策略”向个体化定制方案并行发展的双轨路径; 并阐明了罕见病研究如何通过显著的“科学溢出效应”推动相关技术向常见病治疗领域拓展。总体而言, 罕见病基因治疗不仅正在重塑罕见病研究与临床实践本身, 也将持续引领医学向精准化和根本性疾病干预的长期目标迈进。

关键词: 罕见病; 基因治疗; 基因编辑; 腺相关病毒; 脂质纳米颗粒; 临床转化; 精准医学

中图分类号: R450; R596.2; Q789

文献标识码: A

Gene therapy for rare diseases: technological innovation and clinical translation

ZHANG Ying-Jie, YUAN Hui-Jun*

(Institute of Rare Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

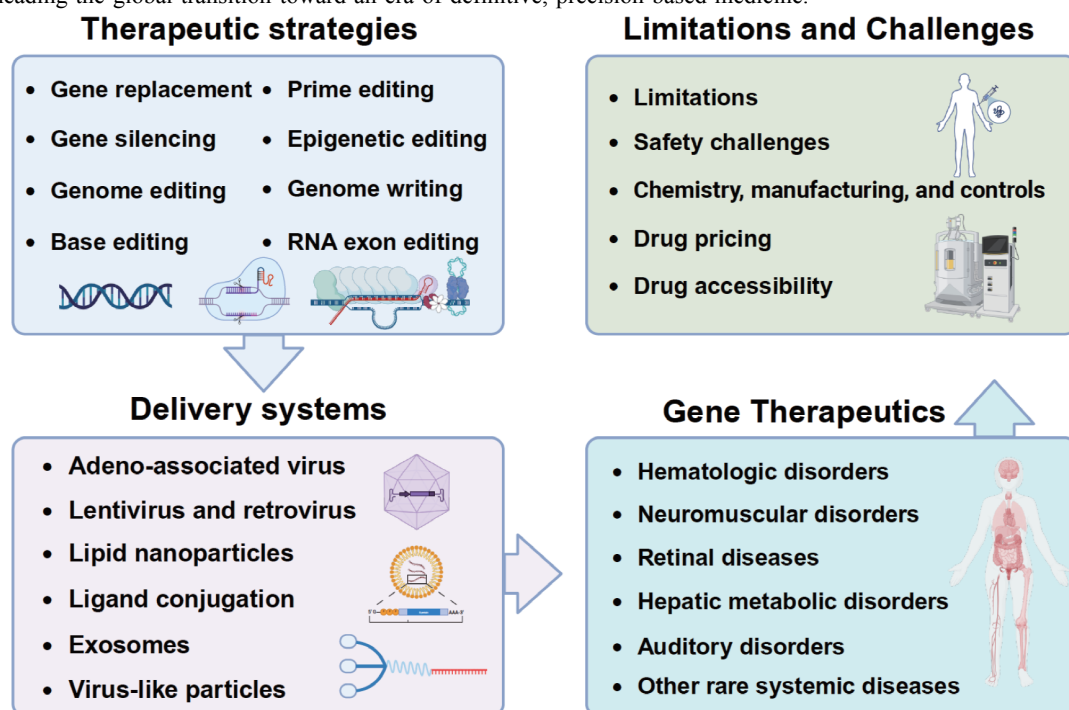
Abstract: Rare diseases, though individually infrequent, collectively affect a substantial global population, with approximately 80% of these conditions arising from monogenic defects. This unique genetic architecture makes rare diseases the most viable and paradigmatic application areas for gene therapy, positioning the field at the forefront of modern biomedical innovation. For decades, the rare disease community has faced the daunting reality of delayed diagnosis and a profound lack of disease-modifying treatments, often leaving many patients without effective treatment options. This review aims to systematically delineate the rapid technological evolution in the field and discuss the critical transition from laboratory breakthroughs to successful clinical translation. The manuscript provides a comprehensive mapping of the key technological landscapes, beginning with a detailed categorization of the rapid progression in therapeutic strategies. It discusses the

收稿日期: 2026-01-30; 修回日期: 2026-04-01

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(82030030, 82530036); 四川大学华西医院学科卓越发展 1·3·5 工程项目(ZYJC20002)

*通信作者: E-mail: yuanhj301@wchscu.cn

transition from traditional gene replacement—providing functional copies of defective genes—to precise gene editing using CRISPR-based tools, and even genome-level reprogramming. These advancements are driving a fundamental shift in the treatment paradigm from lifelong symptom management toward potential “one-time curative” interventions. Following this, the review evaluates the current state of delivery systems, focusing on the engineering iterations of adeno-associated virus (AAV) vectors optimized for enhanced tissue specificity and reduced immunogenicity, as well as the rising prominence of non-viral platforms such as lipid nanoparticles. Building on these technical foundations, the article systematically summarizes the latest clinical landscape, including approved therapies and promising clinical trial progress across various organ systems, such as hematological, neurological, and neuromuscular disorders, highlighting the real-world impact of these technologies. Beyond technical milestones, the article delves into the multi-dimensional challenges hindering widespread adoption, including complex safety risks like immunogenicity and insertional mutagenesis, the bottlenecks in large-scale GMP manufacturing, and the socio-economic pressures exerted by exorbitant pricing. Based on current clinical evidence, we propose a “dual-track” developmental roadmap that advocates for the parallel advancement of “universal platform-based” strategies and “individualized, customized” solutions for ultra-rare conditions. We also emphasize the “scientific spillover effect,” where technological maturity in rare disease research serves as a catalyst for expanding gene therapy into more prevalent chronic conditions. Ultimately, gene therapy is not only reshaping the framework of rare disease research but is also spearheading the global transition toward an era of definitive, precision-based medicine.



Key words: rare diseases; gene therapy; gene editing; adeno-associated virus; lipid nanoparticle; clinical translation; precision medicine

世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将罕见病定义为患病率不超过0.65‰~1‰的疾病,欧盟的界定标准为患病率低于1/2 000,而美国则以患者人数少于20万作为判定依据。中国近年来也逐步建立了符合本国国情的罕见病界定与管理体系统,其最新定义要求至少满足以下三项标准之一:新生儿发病率低于1/10 000、总体患病率低于1/10 000或受影响人群总数少于14万。与此同时,中国已先后发布两批《罕见病目录》,共纳入207种罕见病,标志着罕见病从概念界定走向以目录为基础的规

范化管理与政策支持阶段。迄今为止,全球定义了6 000~8 000种罕见病,其中绝大多数仍缺乏有效治疗手段^[1]。据估算,罕见病可影响全球2.63亿~4.46亿人^[2-5]。其中,中国患病人数约为1 680万,已构成显著的公共卫生、经济与社会负担^[6]。

约80%的罕见病由单基因遗传缺陷导致^[7],常表现出高度的临床异质性,可累及全身多系统,形成典型的“临床诊断困境”。尽管二代测序技术的广泛应用显著提升了分子诊断率^[7,8],但仍有大量变异被归类为“意义不明确变异”,其致病性亟需进一步

的功能验证^[9,10]。因此,整合基因组学数据与功能研究,构建从变异到表型的证据链,是提升罕见病诊断准确性和临床可解释性的关键路径^[11]。OMIM、Orphanet、ClinVar等罕见病数据库,以及来源于临床队列和患者组织的高质量自然病史数据,为临床诊断、临床试验设计和疗效评估提供了不可或缺的基础支撑^[12-17],多方协作是推动罕见病研究和治疗进展的核心策略。

罕见病基因治疗的独特价值在于其对“治疗范式”的定义作用。罕见病所具有的“单基因-单疾病”特征,使其成为解析基因功能和探索基因治疗策略的理想切入点。基因功能的高度保守性使罕见病动物模型相对易于构建。罕见病致病机制研究、疗法策略转化预测价值和成功率也显著高于复杂疾病^[18-20],使其成为验证新兴基因治疗策略的理想探索对象。早期罕见病治疗主要依赖酶替代疗法、小分子药物或器官移植,但通常疗效有限且患者依从性差。相比之下,基因治疗为实现潜在的“一次性治愈(one-and-done)”提供了全新的可能性^[21]。无论是功能缺失性(Loss-of-function)还是功能获得性(Gain-of-function)突变,只要致病基因明确且存在可干预的治疗窗口,理论上均可通过基因治疗策略实现长期甚至根本性的疾病控制。此外,对于累及多系统的复杂综合征,基因治疗提供了“一源多效”的可能性,即通过纠正源头突变实现系统性获益,而传统小分子药物通常难以实现。尽管基因治疗的研究和生产成本高昂,但其长期卫生经济学价值突出。研究显示,细胞和基因疗法的质量调整生命年(quality-adjusted life-years, QALYs)获益约为传统疗法的4倍^[22],提示罕见病领域的颠覆性疗法具有显著的健康回报,使其成为前沿技术治疗应用与医学伦理矛盾平衡的“突破口”。此外,系统解析突变基因与临床表型之间的关联,也为基因功能研究和新型药物靶点的发现提供了重要资源,使罕见病研究能够产生广泛的医学“溢出效应”^[23,24]。

尽管基因治疗在多种罕见病中取得突破,但科学可行性不等于临床可及性。高昂的研发与生产成本、复杂的给药流程、对专科机构的高度依赖以及长期安全性和真实疗效数据的缺乏,使部分获批或临床后期产品实际应用受限。罕见病患者数量有限且病程异质性显著,叠加药物定价与支付模式、地区医疗资源分布不均等因素,进一步加剧了治疗可及性

的差异^[25-27]。因此,未来罕见病基因治疗的发展亟须从疾病负担、卫生经济学价值与真实世界转化潜力等多维度出发,系统性提升治疗的安全性、疗效与可及性,实现患者的长期和持续获益。

1 罕见病基因治疗策略及相关技术

罕见病多由单基因缺陷或高度聚焦的分子通路异常引起,其治疗策略需具备高度的靶向性和精准性^[28],并考虑自然病史的异质性及长期疗效评估。相较于长期反复给药,一次性或有限次数给药并实现持久治疗效果,不仅有助于提高患者依从性,也可显著降低个体和社会医疗负担。许多罕见病在婴幼儿期起病,早期干预对改善预后具有决定性意义。这对治疗技术提出了更高要求,需同时兼顾发育中器官的生物学适配性与长期安全性^[29]。随着技术进步,基因治疗已从早期的“基因替代”策略,发展至能实现精准基因改写的“基因编辑”技术,显著拓展了罕见病干预的治疗边界(图1)。

1.1 基因替代

基因替代和补充定义了早期的基因治疗概念,是目前最成熟的策略,主要针对Loss-of-function和单倍剂量不足突变。该策略通过导入功能性基因恢复蛋白表达,而无需移除突变基因。如全球首个AAV药物Glybera(治疗家族性脂蛋白脂酶缺乏症)^[21],美国食品药品监督管理局(FDA)批准的首个AAV药物LUXTURN A(治疗Leber先天性黑蒙)^[30],和国家药品监督管理局(NMPA)批准的首个AAV药物信玖凝(治疗血友病B)^[31]等,均采用AAV载体*In Vivo*持续表达的治疗模式。而Zynteglo(治疗输血依赖型 β -地中海贫血)^[32]和Lenmeldy(治疗异染性脑白质营养不良)^[33]等药物则采用对自体造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)进行慢病毒整合功能基因后回输患者的*Ex Vivo*治疗策略。基因替代是目前罕见病基因治疗药物研发中管线最多且已获批药物数量最多的治疗策略。

此外,mRNA疗法通过脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)等载体递送化学修饰的mRNA,提高了mRNA分子稳定性,降低了免疫原性并实现高效递送,在细胞内无需基因组整合,即可快速、剂量可控地直接翻译治疗蛋白,实现了蛋白替代^[34]和细胞因子治疗^[35]等应用。此外,COVID-19疫苗的成功也显著推动了mRNA疗法在流行病疫苗^[36]、癌

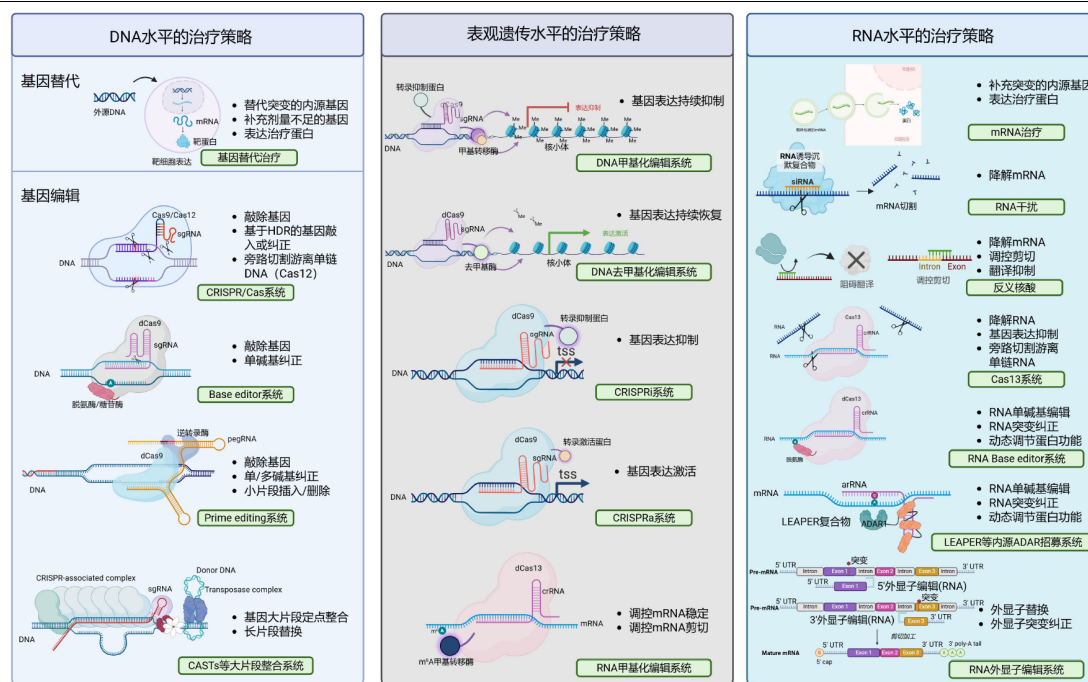


图1 基因治疗策略示意图

目前基因治疗策略可分为DNA水平的治疗策略、表观遗传水平的治疗策略、RNA水平的治疗策略。DNA水平的治疗策略包括:基因替代和基因编辑。表观遗传水平的治疗策略包括:DNA甲基化编辑、DNA去甲基化编辑、CRISPRi和CRISPRa、RNA甲基化编辑等。RNA水平的治疗策略包括:mRNA治疗、RNA干扰、反义核酸药物、CRISPR/Cas13 RNA编辑、RNA碱基编辑、内源ADAR招募的RNA碱基编辑、RNA外显子编辑等。

Figure 1 Schematic diagram of gene therapy strategies

Current gene therapy strategies can be categorized into three levels: DNA, epigenetic, and RNA. DNA-level strategies include gene replacement and gene editing. Epigenetic-level strategies encompass DNA methylation editing, DNA demethylation editing, CRISPR interference (CRISPRi), CRISPR activation (CRISPRa), and RNA methylation editing. RNA-level strategies comprise mRNA therapy, RNA interference (RNAi), antisense oligonucleotides (ASOs), CRISPR/Cas13-mediated RNA editing, RNA base editing, RNA base editing through recruitment of endogenous ADAR, and RNA exon editing.

症疫苗^[37]、细胞疗法^[38]及基因编辑^[39]等方面的临床药物开发。

1.2 基因沉默

对于Gain-of-function或显性负效应突变,单纯基因替代治疗理论上无效,需要抑制突变基因表达。反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs)和RNA干扰(RNA interference, RNAi)通过靶向mRNA降低致病基因表达或调控剪接,严格意义上虽不完全属于基因治疗,但作为发展较早的治疗策略,在杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)^[40]、脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)^[41]、血友病^[42]、遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性^[43]等罕见病治疗中均有药物获批。新型RNA靶向CRISPR/Cas技术(如Cas13)同样可在转录水平调控mRNA剪切或在转录后水平特异性破坏mRNA,但其旁路RNA切割效应是临床

转化的主要挑战^[44,45]。

1.3 基因编辑技术

基因编辑从锌指核酸酶(ZFNs)和转录激活因子样效应物核酸酶(TALENs)发展至目前广泛使用的CRISPR/Cas系统,包括常用的DNA编辑(Cas9和Cas12等)和RNA编辑(Cas13等)工具。Cas9/Cas12通过产生DNA双链断裂(double-strand break, DSB),经细胞内源修复途径,如非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)或同源重组(homology-directed repair, HDR)实现基因敲除、基因敲入或精准编辑。相较于早期的编辑工具,CRISPR/Cas系统具有高效率、低脱靶、易构建等优势^[46,47]。2023年,首个CRISPR/Cas9疗法Casgevy获批^[48],推动了基因编辑技术在疾病治疗中的应用。但DSB可能引发大片段缺失、染色体易位及p53介导的细胞周期停滞等风险^[47,49],推动了更精准的

编辑技术的发展。

1.4 新兴技术

1.4.1 碱基编辑(base editing, BE)

BE是在CRISPR/Cas基础上发展出的精确碱基编辑技术^[50]。研究人员将脱氨酶/糖苷酶与Cas9切口酶融合,先后开发了CBE、ABE、CGBE等多个版本;此类技术无需DSB,理论上已可以实现全部类型的碱基替换^[51-55]。基于突变纠正的治疗策略理论上适用于各种致病机制的罕见病。BE的优势在于其高效率、高特异性、低脱靶特性,目前针对家族性高胆固醇血症等罕见病的BE疗法的I期临床试验结果已发布^[56]。此外,针对各类罕见病的临床前研究则是目前的研究热点^[57,58]。但是,目前BE仍存在旁观者编辑(bystander editing)和RNA A→I脱靶等问题^[50,59]。

值得注意的是,治疗性RNA碱基编辑的概念远早于BE。1995年,Ribozyme Pharmaceuticals公司就提出利用互补的RNA寡核苷酸招募内源的双链RNA腺苷脱氨酶(adenosine deaminase acting on RNA, ADAR)可实现RNA A→I的单碱基编辑^[60]。近几年开发的RESTORE^[61]、CLUSTER^[62]、LEAPER^[63]等内源ADAR招募系统实现了高水平的RNA A→I编辑,并在小鼠疾病模型和非人灵长类模型中展现出显著的治疗潜力^[63]。此外,构建的RNA Base editor融合蛋白则可在不改变DNA序列的前提下,在RNA水平实现A→I、C→U等更丰富的单碱基编辑^[64]。首个RNA单碱基编辑药物WVE-006目前已启动治疗 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症的临床试验^[65]。

1.4.2 先导编辑(prime editing, PE)

PE将逆转录酶与Cas9切口酶融合,利用携带编辑信息的pegRNA模板,同样在不产生DSB的情况下,实现任意碱基替换及小片段插入/删除^[66]。早期PE系统编辑效率和产物纯度相对有限,后续通过优化pegRNA结构、优化逆转录酶及核定位信号、抑制错配修复、招募辅助蛋白以及成对pegRNA策略等,显著提高了编辑效率和特异性^[67]。目前针对慢性肉芽肿病,利用PE纠正自体HSC突变的*Ex Vivo*治疗方案已进入临床试验^[68],多个罕见病候选疗法处于临床前研究阶段^[69,70],展现出广阔的应用前景。

1.4.3 表观编辑(epigenome editing)

基于CRISPR/Cas的表观编辑技术能够在不改变DNA序列的前提下,实现甲基化编辑,从而稳定

抑制基因表达^[71]。将KRAB等转录抑制结构域、dCas9以及 Dnmt3a-Dnmt3L等DNA甲基转移酶复合体融合表达,可在体内外建立持久且可遗传的转录沉默。同时,这种甲基化抑制状态又可通过dCas9-TET去甲基化系统实现完全可逆的恢复^[72-74]。这种可逆性、可编程性以及不改变DNA序列的特性,使表观编辑成为罕见病治疗的一种极具前景的策略。此外,针对RNA的表观遗传修饰编辑技术也取得了一定的突破。通过将dCas13与METTL3/14等甲基转移酶或ALKBH5等去甲基化酶融合,可在不改变mRNA序列的前提下调控mRNA的m⁶A甲基化,改变mRNA稳定性和翻译效率,从而影响生理或疾病进程^[75,76]。

1.4.4 基因组编写 (genome writing)

BE和PE虽然适用于突变纠正,但对散在分布的罕见病突变只能单个或少量突变逐一纠正,使得单一突变的纠正疗法对实际的患者受众范围有限。为实现定点大片段整合而开发的eePASSIGE^[77]、PASTE^[78]、CAST^[79]系统,通过PE或CRISPR/Cas结合整合酶/转座子,实现了数十kb级别的DNA插入。而PCE/RePCE系统结合PE和Lox-Cre重组,可实现kb级别甚至Mb级别的无痕DNA整合和操作^[80]。此外,合成染色体/合成基因组则不仅是“修改”,而是从头设计并构建整条染色体或整个基因组^[81,82]。虽然基因组编写技术目前还在探索和发展阶段,但后续有望为医学、工业、农业及基础研究带来前所未有的新机遇。

1.4.5 RNA外显子编辑(RNA exon editing)

RNA外显子编辑通过AAV递送RNA分子,诱导其与内源性前体mRNA(pre-mRNA)反式剪接形成功能性mRNA。在不改变DNA序列的前提下,单一RNA外显子编辑可进行kb级外显子替换,适用于纠正多种致病突变;并可实现对内源基因表达的精确调控,对剂量敏感疾病尤为适合。目前首个RNA外显子编辑策略已进入临床试验阶段^[83,84]。

2 基因递送系统(delivery systems)

递送系统是基因治疗成功的关键影响因素之一。无论是基因替代、基因沉默还是基因编辑治疗,均依赖安全、高效的载体将治疗分子递送至特定靶器官或靶细胞,并在控制脱靶效应的同时实现短期或长期干预。载体的组织靶向性、免疫原性、稳定性

和组织渗透能力,直接影响治疗的有效性与安全性,因此递送系统的选择和优化与治疗策略本身同等重要(图2)。

2.1 病毒载体

2.1.1 腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV)

AAV是一类小型无包膜单链DNA病毒,有多种天然血清型,各血清型具有相对明确的组织嗜性^[85]。通过血清型筛选、衣壳工程化改造、特异性启动子和调控元件的使用、工程化反向末端重复序

列(inverted terminal repeats, ITRs)改造、密码子优化等策略,其靶向性、表达特异性及免疫原性均得到显著优化。AAV的主要限制在于其装载能力有限(<4.7 kb)和生产成本较高,前者可通过双AAV或多AAV重组策略部分解决,后者则随着生产工艺优化逐步改善。此外,AAV偶发的随机整合风险及患者体内预存抗体仍是影响疗效与安全性的的重要因素^[85,86]。目前,AAV已广泛用于体内基因替代、基因沉默和基因编辑治疗,在多种罕见病治疗中取得

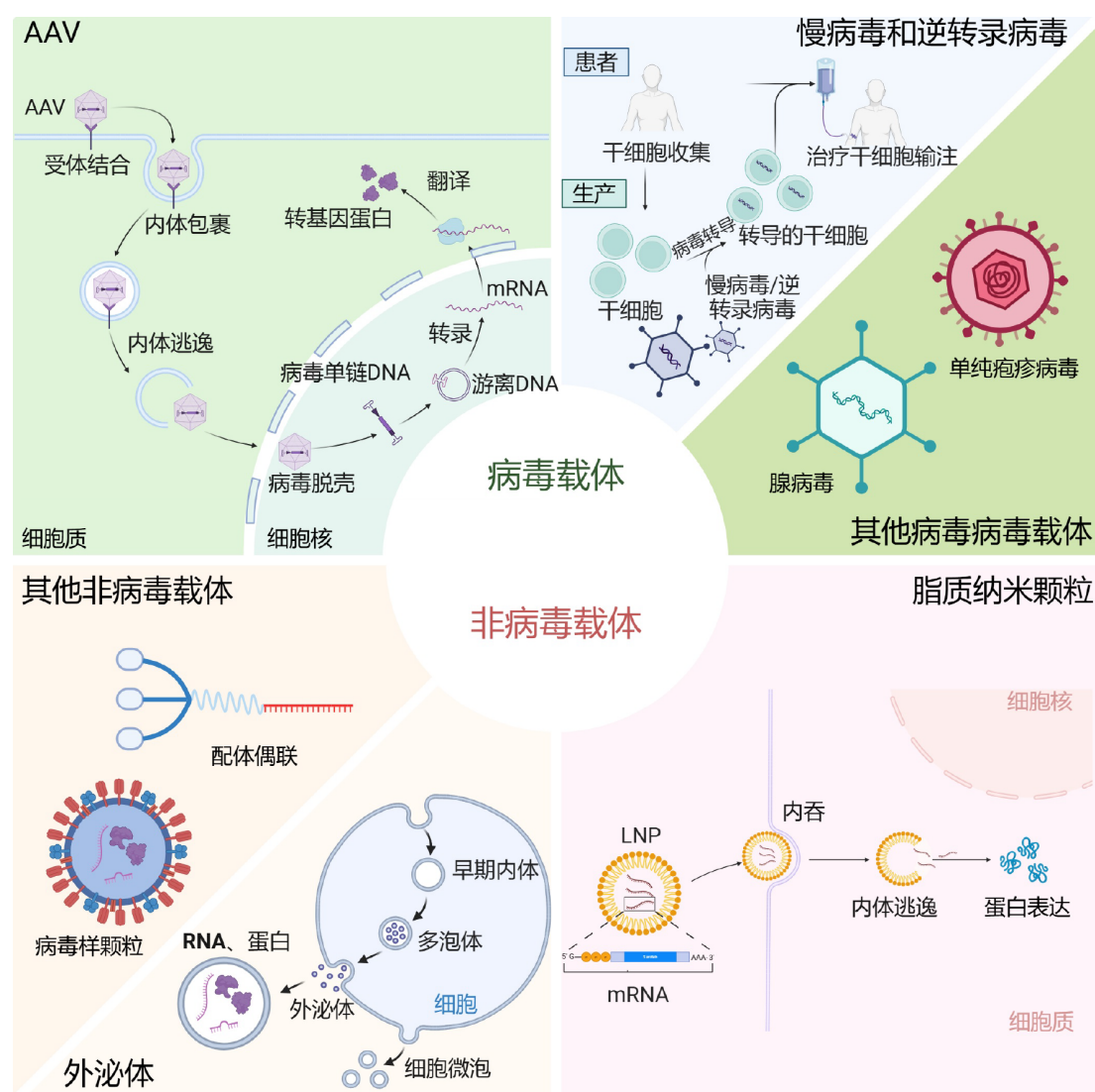


图2 基因治疗递送体系

基因治疗递送体系包括病毒递送载体和非病毒递送载体。常用的病毒递送载体包括: AAV载体、慢病毒和逆转录病毒载体、腺病毒载体、单纯疱疹病毒载体等。常用的非病毒载体包括: 脂质纳米颗粒载体、外泌体、配体偶联载体、病毒样颗粒载体等。

Figure 2 Gene therapy delivery systems

Gene therapy delivery systems consist of viral delivery vectors and non-viral delivery vectors. Commonly used viral delivery vectors include adeno-associated virus (AAV) vectors, lentiviral and retroviral vectors, adenoviral vectors, and herpes simplex virus (HSV) vectors. Frequently utilized non-viral vectors include lipid nanoparticles (LNPs), exosomes, ligand-conjugated carriers, and virus-like particles (VLPs).

突破性进展。

2.1.2 慢病毒(lentivirus, LV)与逆转录病毒(retrovirus, RV)

LV与RV为整合型病毒载体,可将外源基因稳定整合入宿主基因组,因而在*Ex Vivo*治疗中占据核心地位,尤其是可应用于HSC基因治疗和CAR-T细胞疗法^[32,87]。通过去除复制相关基因并引入安全元件(如绝缘子、自我失活及优化的启动子组合),插入突变相关的致癌风险显著降低^[88]。此外,LV对非分裂细胞亦具转导能力,使其在多种细胞治疗策略中展现出持久、稳定的治疗优势。

2.1.3 其他病毒载体

除AAV和LV/RV外,其他病毒载体在特定疾病场景中同样具有独特的优势。腺病毒具有较大的装载容量和高效瞬时表达能力,适用于肿瘤治疗和疫苗开发,但其免疫原性较强,不适合长期体内治疗^[89]。单纯疱疹病毒具有超大基因装载能力及天然神经嗜性,在中枢神经系统疾病和溶瘤病毒治疗中显示出独特优势^[90]。上述载体在装载容量、组织嗜性和免疫特性方面与AAV和LV形成互补,为不同疾病场景提供了技术储备。

2.2 非病毒载体

2.2.1 脂质纳米颗粒(lipid nanoparticles, LNP)

LNP由可电离脂质、磷脂、胆固醇及PEG脂质自组装形成,是当前mRNA疗法和体内基因编辑最具临床转化潜力的递送平台。COVID-19 mRNA疫苗的成功应用,推动了LNP在配方优化、规模化生产及安全性验证方面的成熟。LNP可高效递送mRNA、siRNA及基因编辑工具,具有非整合性、瞬时表达、递送容量大及生产标准化程度高等优势。此外,通过修饰和调整配方,LNP可突破天然肝脏趋向性,实现肝外靶向递送^[91,92]。目前,LNP递送的CRISPR/Cas9基因编辑工具在遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性、遗传性血管性水肿等疾病中均已启动临床试验^[93,94]。

2.2.2 配体偶联技术(ligand conjugation)

除了传统的病毒载体与LNP递送策略外,基于配体偶联的递送技术在肝靶向罕见病治疗中展现出卓越的精准度。其中,N-乙酰半乳糖胺(N-acetylgalactosamine, GalNAc)偶联技术是该领域的成功典范。借助GalNAc与肝细胞表面去唾液酸糖蛋白受体的高亲和力,与GalNAc偶联的siRNA或

ASOs药物可通过内吞作用一起进入细胞内,随后GalNAc糖基及其分支结构被迅速裂解,从而实现肝脏siRNA药物和ASOs药物的高效靶向递送。相较于LNP,GalNAc偶联物具有分子量小、免疫原性低、支持皮下给药等显著优势,极大地提升了罕见病药物的临床可及性与患者依从性^[95]。多种基于GalNAc偶联技术的罕见病核酸药物已获批上市^[96,97]。

2.2.3 外泌体(exosomes)

外泌体是来源于细胞的内源性囊泡,具有良好的生物相容性、低免疫原性和跨生物屏障能力,其起源赋予了其对特定器官、组织或细胞的特定嗜性。通过供体细胞工程化改造或主动装载策略,外泌体已被用于递送siRNA、ASOs、mRNA及CRISPR/Cas编辑组分,在多种疾病模型中显示出治疗潜力。然而,其在规模化生产、纯化标准化、装载效率及异质性控制方面仍面临挑战^[28,98,99]。目前,用于治疗肌萎缩侧索硬化等运动障碍疾病的间充质干细胞外泌体已进入临床试验阶段^[100]。而更多针对罕见病的外泌体治疗研究则处于临床前开发阶段^[101]。

2.2.4 病毒样颗粒(virus-like particles, VLP)

VLP来源于动物病毒、植物病毒及噬菌体,不含病毒遗传物质,但保留病毒进入细胞的能力,兼具高效递送与较高安全性。通过结构蛋白工程化改造,VLP已被用于递送mRNA、siRNA、治疗性蛋白及Cas9-sgRNA核糖核蛋白复合物。相较于传统病毒载体,VLP在降低长期毒性和实现一次性编辑方面具有优势,但其载荷容量、靶向性优化及规模化制备仍需进一步完善^[102,103]。目前基于VLP递送的罕见病基因治疗大多仍处于临床前研究阶段^[104]。

3 罕见病基因治疗新药开发

自2012年全球首个罕见病基因治疗药物Glybera获批以来,基因治疗在罕见病领域快速发展。十余年间,已有近20种罕见病基因治疗产品在不同国家和地区获批上市。同时另有数十项候选疗法处于临床I~III期或研究者发起的临床试验(investigator-initiated clinical trial, IIT)阶段,标志着该领域已从概念验证迈入持续临床转化阶段(表1)。

3.1 血液疾病

血液系统是罕见病基因治疗最成熟、竞争最激烈的领域之一。这类疾病多由单一基因缺陷驱动,

表1 已获批及临床晚期罕见病基因治疗药物汇总表

Table 1 Summary of approved and late-stage clinical gene therapies for rare diseases

治疗形式	治疗疾病	药物名称	治疗分子/启动子	递送方式	治疗策略	靶器官	给药途径	研发公司	首次获批上市/临床试验
体内	B型血友病	Hemgenix(Etranacogene dezaparvovec-drlb)	R338L突变的人F9基因/肝特异性启动子(LPI)	AAV5	F9基因替代	肝脏	静脉输注	CSL Behring LLC	2022年FDA批准上市
体内	B型血友病	Beqvez(Fidanacogene elaparvovec-dzkt)	R338L突变的人F9基因/肝特异性启动子(来源于ApoE增强子和hAAT启动子)	AAVRh74	F9基因替代	肝脏	静脉输注	辉瑞	2024年FDA批准上市
体内	A型血友病	Roctavian(valoctocogene roxaparvovec)	B-domain缺失的人F8基因/肝特异性启动子(HLP)	AAV5	F8基因替代	肝脏	静脉输注	BioMarin Pharmaceutical Inc.	2022年欧盟批准上市
体内	B型血友病	信玖凝(波哌达可基因注射液)	R338L突变的人F9基因/肝特异性启动子(LXP2.1)	AAV843	F9基因替代	肝脏	静脉输注	信念医药	2025年NMPA批准
离体	输血依赖型β地中海贫血	Zynteglo(betibeglogene autotemcel)	T87Q突变的HBB基因/红细胞系特异性启动子	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植表达HBB基因	骨髓	静脉输注	Bluebird Bio	2022年FDA批准上市
离体	有血管阻塞事件病史的镰状细胞病	Lyfgenia(Lovotibeglogene autotemcel)	T87Q突变的HBB基因/红细胞系特异性启动子	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植表达HBB基因	骨髓	静脉输注	Bluebird Bio	2023年FDA批准上市
离体	Wiskott-Aldrich综合征	Waskyra(etuvetigene autotemcel)	W45基因/人WAS启动子	自失活慢病毒整合的自体HSPC(造血干/祖细胞)移植	自体HSPC移植表达W45基因	骨髓	静脉输注	Fondazione Telethon	2025年FDA和EMA批准上市
离体	β地中海贫血和镰状细胞病	Casgevy(Exagamglogene Autotemcel)	CRISPR/Cas9基因编辑疗法/无	电转导入CRISPR/Cas9核糖核蛋白复合体自体HSC移植	通过离体编辑HSC中BCL11A红系增强子,重新激活胎儿血红蛋白表达	骨髓	静脉输注	Vertex Pharmaceuticals和CRISPR Therapeutics 联合开发	2023年FDA批准上市
体内	SMA	Zolgensma(onasemnogene abeparvovec-xioi)	人SMN2基因/组成型强启动子(CAG)	自互补AAV9	SMN2基因替代	脊髓运动神经元	静脉输注	AveXis, Inc. (Novartis子公司)	2019年FDA批准上市
体内	DMD	Elevidys(delandistrogene moxeparvovec-rokl)	缩短的DMD基因/肌肉特异性启动子(MHCK7)	AAVrh74	DMD基因替代	骨骼肌/心肌	静脉输注	Sarepta Therapeutics	2023年FDA批准上市
体内	AADC缺乏	Upstaza/Kebilidi(Eladocogene exparvovec)	人DDC基因/广谱启动子(CMV IE)	AAV2	DDC基因替代	大脑壳核	脑内直接递送	PTC Therapeutics	2022年EMA批准上市(Upstaza); 2024年FDA批准上市(Kebilidi)

表1 已获批及临床晚期罕见病基因治疗药物汇总表(续表)
Table 1 Summary of approved and late-stage clinical gene therapies for rare diseases(Continued)

治疗形式	治疗疾病	药物名称	治疗分子/启动子	递送方式	治疗策略	靶器官	给药途径	研发公司	首次获批上市/临床试验
离体	脑性肾上腺白质营养不良症	Skysona(Elivaldogene autotemce)	人ABCD1基因/人造的强化启动子(MINDU3)	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植 表达ABCD1基因	骨髓/大脑	静脉输注	Bluebird Bio	2022年FDA批准上市
离体	异染性脑白质营养不良	Libmeldy(Lenmeldy® (atidarsagene autotemcel))	人ARSA基因/广谱启动子(PGK)	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植 表达ARSA基因	骨髓/神经系统	静脉输注	Orchard Therapeutics (Kyowa Kirin Group)	2020年EMA批准上市 (Libmeldy); 2024年FDA批准上市 (Lenmeld)
体内	RPE65相关视网膜营养不良	Luxturna(voretigene neparvovec-rzyl)	人RPE65基因/广谱启动子(CAG)	AAV2	RPE65基因替代	视网膜色素上皮细胞	视网膜下注射	Spark Therapeutics (Roche子公司)	2017年FDA批准上市
离体	成人特发性黄斑毛细血管扩张症2型	Encelto(revakinagene tarotretcel-lwey)	人CNTF基因/未知	封装CNTF的质粒 稳定转染的视网膜色素上皮细胞治疗	植入持续分泌神经营养因子的自体视网膜色素上皮细胞	视网膜	玻璃体腔植入术	Neurotech Pharmaceuticals, Inc.	2025年FDA批准上市
外用	隐性营养不良型表皮松解性大疱症	Vyjuvek(Beremagene geperpavec-svdt)	人COL7A1/未知	HSV-1	外用局部递送 COL7A1基因	皮肤	皮肤涂沫	Krystal Biotech, Inc.	2023年FDA批准上市
离体外用	隐性营养不良型表皮松解性大疱症	Zevaskyn(Prademagene zamikeracel)	人COL7A1/MoMLV LTR启动子	复制失活逆转录病毒整合自体皮肤细胞移植	自体皮肤细胞移植表达 COL7A1基因	皮肤	皮肤移植	Abeona Therapeutics Inc.	2025年FDA批准上市
体内	家族性脂蛋白脂肪酶缺乏症	glybera(alipogene ti-parvovec)	S447X突变的LPL基因/广谱启动子(CMV IE)	AAV1	LPL基因替代	骨骼肌	肌肉注射	uniQure	2012年EMA批准上市(退市)
离体	腺苷脱氨酶缺乏所致重症联合免疫缺陷	Strimvelis	人ADA基因/MoMLV LTR启动子	逆转录病毒整合的自体HSPC(造血干/祖细胞)移植	自体HSPC移植 表达ADA基因	骨髓/免疫系统	静脉输注	GlaxoSmithKline plc	2016年EMA批准上市
体内	OTOF相关听神经病	Otarmeni(lunsotogene parvec-cwaha)	人OTOF基因/毛细胞特异性启动子	AAV1	OTOF基因替代	耳蜗内毛细胞	内耳圆窗注射	Regeneron Pharmaceuticals等	2026年FDA批准上市
离体	范可尼贫血A型	FANCOLEN-1(RP-FANCOLLEN-1(L102))	人FANCA基因/广谱启动子(PGK)	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植 表达FANCA基因	骨髓	静脉输注	西班牙能源、环境与技术研究中心(CIEMAT)等	I / II 期临床
离体	重型白细胞黏附缺陷症I型	Marmetegrane-autotemcel	人ITGB2基因/髓系表达增强的嵌合启动子	自失活慢病毒整合的自体HSC移植	自体HSC移植 表达ITGB2基因	骨髓	静脉输注	加州大学洛杉矶分校等	I / II 期临床
体内	巨轴索神经病	scAAV9/JcT-GAN疗法	人GAN基因/广谱启动子(JcT)	自互补AAV9	GAN基因替代	脊髓运动神经元	鞘内注射	美国国家神经疾病与中风研究所等	I 期临床
体内	遗传性转甲状腺素蛋白	Nexiguran ziclumeran	CRISPR/Cas9基因编辑	LNP	肝脏基因编辑	肝脏	静脉输注	Intellia Therapeutics	I 期临床

表1 已获批及临床晚期罕见病基因治疗药物汇总表(续表)
Table 1 Summary of approved and late-stage clinical gene therapies for rare diseases(Continued)

治疗形式	治疗疾病	药物名称	治疗分子/启动子	递送方式	治疗策略	靶器官	给药途径	研发公司	首次获批上市/临床试验
	白淀粉样变性伴多发 性神经	(NTLA-2001)	疗法/无		敲除 <i>TTR</i> 基因			peutics等	
体内	庞贝病	GC301	人 <i>G4A</i> 基因/广谱启动子 (CAG)	AAV9	<i>G4A</i> 基因替代	骨骼肌/心肌/ 神经系统	静脉输注	中国人民解放军总医院等	I 期临床
体内	达农病	RP-A501	人 <i>LAMP2</i> 基因/广谱启动子 (CAG)	AAV9	<i>LAMP2</i> 基因替代	骨骼肌/心肌	静脉输注	加州大学圣地亚哥分校医学中心等	I 期临床
体内	Leber先天性黑蒙1型	ATSN-101	人 <i>GUCY2D</i> 基因/光感受器特异性启动子 (hGRK1)	AAV5	<i>GUCY2D</i> 基因替代	光感受器细胞	视网膜下注射	俄勒冈健康与科学大学(OHSU) Casey眼科研究所等	I / II 期临床
体内	<i>RPGR</i> 相关X连锁视网膜色素变性	AAV5-hRKp.RPG	缩短的人 <i>RPGR</i> 基因/光感受器特异性启动子 (hGRK1)	AAV5	<i>RPGR</i> 基因替代	光感受器细胞	视网膜下注射	伦敦大学学院眼科研究所等	I / II 期临床
体内	X连锁隐性色素性脉络膜萎缩	AAV2-hCHM	人 <i>CHM</i> 基因/广谱启动子 (CAG)	AAV2	<i>CHM</i> 基因替代	视网膜色素上皮细胞和光感受器细胞	视网膜下注射	宾夕法尼亚大学等	I / II 期临床
体内	<i>CEP290</i> 基因相关的遗传性视网膜退化	EDIT-101	CRISPR/Cas9基因编辑 疗法/光感受器特异性启动子(hGRK1)	AAV5	光感受器细胞基因编辑 <i>CEP290</i> 基因 IVS26突变	光感受器细胞	视网膜下注射	哈佛医学院等	I / II 期临床(暂停)
体内	Bietti晶状角膜视网膜营养不良	rAAV2/8-hCYP4V2	人 <i>CYP4V2</i> 基因/广谱启动子 (CAG)	AAV2/8	<i>CYP4V2</i> 基因替代	视网膜色素上皮细胞和光感受器细胞	视网膜下注射	首都医科大学北京同仁医院等	I 期临床
体内	Grigler-Najjar综合征	GNT0003	人 <i>UGT1A1</i> 基因/肝特异性启动子(来源于ApoE增强子和hAAAT启动子)	AAV8	<i>UGT1A1</i> 基因替代	肝脏	静脉输注	Genethon等	I / II 期临床
体内	遗传性血管性水肿	NTLA-2002	CRISPR/Cas9基因编辑 疗法/无	LNP	肝脏基因编辑 敲除 <i>KLKB1</i> 基因	肝脏	静脉输注	Intellia Therapeutics等	I / II 期临床
体内	<i>OTOF</i> 相关听神经病	Anc80L65-OTOF	人 <i>OTOF</i> 基因/毛细胞特异性启动子	AAV-Anc80L65	<i>OTOF</i> 基因替代	耳蜗内毛细胞	内耳圆窗注射	东南大学等	研究者发起的临床实验
体内	<i>OTOF</i> 相关听神经病	AAV1-hOTOF	人 <i>OTOF</i> 基因/毛细胞特异性启动子	AAV1	<i>OTOF</i> 基因替代	耳蜗内毛细胞	内耳圆窗注射	复旦大学等	研究者发起的临床实验

造血系统可通过体外操作实现稳定重建,因而成为基因替代与基因编辑策略的理想靶点。在体内治疗方面,多款AAV介导的凝血因子替代疗法已获批上市。Hemgenix^[105]与Beqvez^[106]获批用于B型血友病治疗,Roctavian^[107]获批用于A型血友病治疗,均通过单次静脉给药促使肝细胞持续表达凝血因子,从而显著减少出血事件和替代治疗依赖。在中国,信玖凝的获批标志着AAV基因治疗产品正式进入国内监管体系^[108]。Ex Vivo治疗则以自体HSC为核心。Zynteglo^[109]获批通过慢病毒载体导入改造的β珠蛋白基因,使输血依赖型β地中海贫血患者摆脱长期输血;Lyfgenia^[110]获批用于镰状细胞病治疗;Waskyra^[111]的获批则为Wiskott-Aldrich综合征提供了治疗方案。值得注意的是,2023年获批的Casgevy^[112]是全球首个上市的CRISPR/Cas9基因编辑疗法,其通过体外编辑HSC中的BCL11A红系增强子,重新激活胎儿血红蛋白表达,实现对β地中海贫血和镰状细胞病的一次性治疗。该药物代表了从“基因替代”向“基因编辑”范式的关键跃迁^[48]。此外,范可尼贫血A型(Fanconi anemia type A, FA-A)^[113]和重型白细胞黏附缺陷症I型^[114]的自体基因纠正HSC疗法等血液系统罕见病临床试验的安全性和有效性结果已发布,有望在未来获批。

3.2 神经肌肉疾病

神经肌肉罕见病多在婴幼儿期发病,进展迅速,临床治疗需求迫切,是AAV体内基因治疗的重要突破方向。Zolgensma^[115]于2019年获批用于SMA治疗,无需复杂的外科手术,仅通过一次性静脉输注,利用AAV9对血脑屏障的穿透作用显著改善生存和运动发育,已成为重症SMA的标准疗法。Elevidys^[116]于2023年获批用于DMD治疗,在骨骼肌和心肌中实现功能性micro-dystrophin蛋白表达。Kebilidi^[117]则获批通过脑内直接递送治疗AADC缺乏症,绕过血脑屏障,将药物精准递送至目标脑区,拓展了中枢神经系统直接基因递送的临床边界,但其存在侵入性与手术风险、弥散范围受限等局限性。在Ex Vivo策略中,Skysona^[118]和Lenmeldy^[119]则分别获批用于脑性肾上腺白质营养不良(cerebral adrenoleukodystrophy, CALD)和异染性脑白质营养不良(metachromatic leukodystrophy, MLD)治疗。这两种药物均通过慢病毒修饰HSC实现对中枢神经系统疾病的长期干预。另一项值得关注的针对SPG50

的“N = 1”个体化基因治疗案例,验证了为超罕见病患者快速定制基因疗法的可行性,并为监管路径提供了重要参考^[120]。除已上市的药物外,巨轴索神经病(giant axonal neuropathy, GAN)的自互补AAV药物scAAV9/JeT-GAN^[121]、遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性伴多发性神经病(hereditary transthyretin amyloidosis with polyneuropathy, ATTRvPN)的基因编辑疗法Nexiguran ziclumeran^[122]以及治疗庞贝病^[123]和达农病^[124]等神经肌肉系统罕见病的AAV疗法已公布临床安全性和有效性的结果,有望在未来获批。

3.3 视网膜疾病

眼球因其相对免疫豁免、解剖结构封闭及局部给药可控性,被认为是基因治疗的理想靶器官。2017年上市的Luxturna^[125]是首个获批的In Vivo AAV基因治疗药物,用于RPE65相关视网膜营养不良治疗;其不仅实现了功能性视力改善,还首次系统建立了视网膜基因治疗的健康效用评估框架,为后续眼科基因治疗产品的卫生经济学评估和价值定价提供了关键范式和数据基础^[126]。2025年获批的Encelto^[127]采用封装细胞治疗策略,通过植入持续分泌神经营养因子的工程化细胞,为成人特发性黄斑毛细血管扩张症2型提供了不同于传统基因替代疗法的新路径。虽然眼球具有天然的基因治疗适配性,但部分研究提示,对于先天性视觉剥夺患者,成年期治疗效果可能受限于大脑皮层可塑性下降的不利影响,从而强调早期干预的重要性^[128]。此外,治疗Leber先天性黑矇1型、RPGR相关X连锁视网膜色素变性、色素性脉络膜萎缩和Bietti晶状角膜视网膜营养不良的ATSN-101^[129]、AAV5-hRKp.RPG^[130]、AAV2-hCHM^[131]、rAAV2/8-hCYP4V2^[132]等AAV药物,以及治疗CEP290基因相关的遗传性视网膜退化的基因编辑药物EDIT-101^[133],均已发布临床试验安全性和有效性的数据,有望获批上市。

3.4 肝脏代谢疾病

肝脏因其高转导效率和多种递送系统的天然嗜肝性,成为体内基因治疗最重要的靶器官之一。尽管尚无以“肝脏系统罕见病”为独立类别获批的基因治疗产品,但多项已上市或在研项目(如血友病、PKU、Crigler-Najjar综合征、家族性高胆固醇血症及遗传性血管性水肿等)^[56,94,105,134,135],均依赖肝细胞表达治疗蛋白或通过基因编辑重塑肝脏代谢通

路。与此同时,高剂量AAV和体内基因编辑相关的肝毒性信号逐渐显现,提示在强调疗效的同时需强化剂量控制、肝功能监测和长期风险管理。

3.5 听觉疾病

遗传性耳聋是最常见的单基因遗传病之一,尚无任何获批的药物或基因治疗策略。内耳结构封闭、局部递送可控,使其成为极具潜力的基因治疗靶器官。其中,进展最快的耳畸蛋白(*Otoferlin*, *OTOF*)基因编码区(约6 kb)长度超过AAV 4.7 kb装载上限,需采用双AAV RNA反向剪切策略或内含肽介导的蛋白重组策略在耳蜗毛细胞中重组为完整的OTOF蛋白以发挥治疗作用^[136]。该策略也同样用于*Myo7a*等其他长基因耳聋模型的听觉功能改善^[137]。2024年,中国团队首次报道OTOF相关听神经病患者在接受AAV局部递送后,听觉和言语感知显著改善^[138-141]。随后,美国团队的独立研究验证了该疗效的可重复性^[142]。这些结果首次在临床层面证明基因治疗有望恢复人类自然听觉功能,是遗传性耳聋治疗策略从“听觉替代”到“自然听觉修复”的关键转折。

3.6 其他系统罕见病

在皮肤和免疫系统罕见病中,基因治疗呈现出局部化和组织工程化趋势。*Vyjuvek*^[143]作为首个获批的外用基因治疗凝胶,通过HSV-1载体局部递送*COL7A1*基因,用于表皮松解症治疗。*Zevaskyn*^[144]则获批采用体外基因修饰角质细胞移植,实现更持久的表皮松解症皮肤结构修复。这两种药物分别代表了体内局部基因递送与体外基因修饰细胞移植两种互补策略,共同奠定了皮肤罕见病外用与局部基因治疗的技术范式。在免疫系统疾病中,*Strimvelis*^[145]获批利用整合*ADA*基因的自体造血干/祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cell, HSPC)治疗腺苷脱氨酶缺乏所致的重症联合免疫缺陷。而*Rethymic*^[146]通过重建胸腺微环境而非直接基因纠正,实现先天性无胸腺患儿的免疫重建,展示了“功能性组织重建”的全新治疗思路。

中国在罕见病基因治疗领域也呈现出独特的特征。一方面,中国拥有全球最活跃的基因治疗临床试验和IIT生态。近年来,中国在OTOF相关遗传性耳聋、原发性高草酸尿症1型、MECP2重复综合征等领域的多项临床试验或IIT早于或同步于西方。另一方面,国内在AAV工业化规模生产以及药品生产

质量管理规范(good manufacturing practice, GMP)分析检测平台的标准化方面均取得显著突破。NMPA近年来加速了罕见病药物的审批程序,推动与国际接轨的审评机制,进一步平衡临床急需与安全性评估,为跨越式发展提供了制度保障。

总体而言,罕见病基因治疗已从单一基因替代逐步演进为涵盖基因编辑、细胞工程与组织重建的多方向治疗体系,但目前绝大多数罕见病的治疗需求未被满足。不同系统疾病呈现出递送方式、治疗持续性和组织功能恢复程度的显著差异。未来的发展将更加依赖技术积累和进步、长期随访、真实世界数据及与监管体系的协同。

4 罕见病基因治疗的局限性与应用挑战

尽管罕见病基因治疗在治疗策略设计、递送载体工程化以及临床应用层面均取得了显著进展,其广泛临床实践仍存在不同的局限性和多重关键挑战。这些挑战不仅界定了基因疗法在安全性、稳定性和可重复性方面的边界,也深刻影响其作为一种可持续治疗范式的长期可行性与社会接受度。

4.1 现有治疗的局限性与安全挑战

尽管基因治疗策略已在多款罕见病药物中证明了其有效性,但其在广泛的临床实践中,仍面临不同的生物学与现实挑战,限制了真正意义上“一次性治愈”的普适性。对罕见病治疗来说,不可逆损伤与干预窗口期的限制是其面临的共同瓶颈。许多罕见病在临床确诊时,疾病组织往往已发生不可逆的结构性损伤。现有的治疗策略虽能延缓疾病进展,但通常无法“复原”已受损的组织功能。这意味着对于病程晚期的患者,基因治疗的临床获益可能远低于预期,强调了早期诊断与干预的必要性。

AAV药物的局限性则主要体现在转基因的“稀释效应”与疗效持久性上,特别是对于处于快速生长发育期的婴幼儿患者的“稀释效应”,导致治疗效果随时间推移而衰减。而AAV治疗产生的中和抗体会阻碍同一血清型AAV的二次给药^[85,86,147]。此外,高剂量给药引发的严重毒性反应带来的“疗效阈值”与“AAV毒性”之间的矛盾是另一个局限性,可能导致显著的安全风险^[148]。已有报道,在高剂量AAV9治疗DMD的临床试验中,患者因补体激活诱发急性呼吸窘迫综合征而死亡^[149],提示病毒载体存在显著的剂量安全边界。系统性荟萃分析亦显

示,AAV相关免疫反应与肝酶升高、心肌炎等不良事件相关,其机制涉及复杂的免疫级联反应^[85]。此外,人群中普遍存在的天然AAV血清型预存抗体显著限制了AAV药物的适用人群^[150],使大量潜在患者在基线阶段即被排除在AAV治疗之外。为应对这一挑战,近年来研究者尝试通过免疫调节策略诱导抗原特异性免疫耐受^[28,151],或通过衣壳工程化改造筛选可逃逸既有抗体的新型血清型,为抗体阳性或重复给药提供可能路径^[85]。

除AAV外,其他递送体系亦存在各自的局限性。腺病毒载体因其强烈的先天免疫激活特性,尽管已构建无复制型载体,仍主要适用于疫苗或肿瘤免疫治疗,而不适合长期基因替代^[152]。非病毒递送体系如LNP整体安全性较好,但仍可能诱导细胞因子释放反应,且其免疫风险与脂质组成和个体差异密切相关,需在临床中持续监测。而mRNA或siRNA疗法通常需反复甚至终身给药。虽然脂质本身可代谢,但高频率给药仍可能引发脂质沉积、慢性炎症或对PEG成分的免疫不耐受等问题^[153-155]。此外,非病毒递送系统天然的“肝靶向性”导致肝外递送困难。对于非肝靶向的罕见病,现有的LNP和配体偶联技术如何突破内皮屏障并避免被肝脏巨噬细胞截留,仍是该领域尚未完全攻克的难题^[93,94]。LV/RV载体在*Ex Vivo*细胞治疗中虽广泛使用自失活载体,但其稳定整合于基因组的特性带来插入性突变和潜在肿瘤风险,需进行长期的安全监测^[28,156]。此外,*Ex Vivo*细胞基因治疗策略通常需要大剂量化疗进行骨髓预处理,可能会导致严重的不良反应,对于体弱的罕见病患者而言是极高的生存考验^[157]。新兴的CRISPR/Cas、BE等技术虽然在部分应用场景中较传统基因替代具有潜在优势,但其实际转化存在伦理和安全风险,在实际细胞环境中仍可能诱导不可预测的染色体易位、大片段缺失、基因组重排、脱靶编辑或其他潜在的基因毒性。此外,成功的基因编辑往往会激活细胞p53应激而发生凋亡或生长停滞,需建立全生命周期的监测体系^[158,159]。因此,对于现有治疗和递送策略的局限性和安全挑战,仍需要进一步的优化或技术迭代。

4.2 罕见病药物的化学、制造与控制(chemistry, manufacturing, and controls, CMC)挑战

CMC是罕见病基因治疗从研发走向临床和商业化的关键瓶颈。AAV药物在生产中普遍面临包

装效率不足、空壳比例高、宿主细胞杂质残留以及工艺放大后批次一致性差等问题,因此对纯化、分析和质量控制体系提出了极高要求。尽管生产和检测技术不断进步,但高度标准化、可规模复制的GMP工艺仍有待进一步完善^[85,160]。LNP-mRNA或基因编辑药物的CMC难点主要源于配方复杂性和工艺敏感性。脂质组成、粒径分布、包封效率及稳定性对体内分布和免疫特征具有决定性影响,而生产过程中微小参数的变化即可导致质量波动,使大规模放大和长期稳定性控制成为核心挑战^[92,161]。*Ex Vivo*细胞基因治疗的复杂性则更为突出。细胞本身即为药物主体,其采集、基因修饰、扩增和回输全过程均需在严格的GMP条件下完成。细胞活性、扩增动力学和个体间变异性,使批次一致性、长期稳定性和释放标准的制定极具挑战^[87]。整体而言,基因治疗制造难题并非单一环节受限,而是涵盖递送体系、工艺放大、质量表征和监管协同的系统性问题。

4.3 药物价格与可及性

尽管罕见病基因治疗在技术和疗效上不断取得突破,其真实世界可及性仍高度受限。已上市产品多以“单次给药、长期获益”为价值逻辑,定价普遍处于百万美元级别,使传统医保和支付体系难以承受。与此同时,多数疗法仍缺乏超过十年的长期随访数据,增加了基于终身获益进行价值评估的不确定性。面对样本量有限、结局高度不确定的基因治疗,现有健康技术评估体系结构性不足,也难以充分反映患者及家庭层面的长期获益^[25]。此外,罕见病患者基数小、市场规模有限,缺乏竞争和规模效应,使治疗药物价格难以下降。各国正探索分期付款、基于疗效的支付及风险共担等支付机制,但尚未形成成熟范式^[26,27]。除支付问题外,部分基因治疗的实施高度依赖医疗基础设施和专业能力。*Ex Vivo* HSC基因治疗需完整的采集、制备、骨髓、回输和长期随访体系,即便在高收入国家也仅限于在少数医疗中心开展,在中低收入国家更难以落地,进一步加剧了全球罕见病的健康不平等和可及性困境。

5 展望

随着递送技术、基因编辑工具和开发模式的持续演进,罕见病基因治疗正进入以*In Vivo*基因编辑为核心、平台化与个体化并行,并具显著技术溢出效应的新阶段。这一进程不仅依赖于LNP和新型AAV

等载体推动的体内递送能力突破,也体现在通用型平台与N = 1定制疗法的双轨发展,以及由此带来的向常见病领域扩展的潜力。同时,罕见病高度异质化的治疗需求,使涵盖学术界、产业界、监管机构与患者组织的多方协作生态成为推动技术转化和提高临床可及性的关键支撑。

5.1 *In Vivo*基因编辑的崛起

*Ex Vivo*策略通常适用于血液系统疾病和代谢系统疾病,但人体大多数的细胞难以像HSC一样获取和培养。因此,开发能够直接靶向体内目标器官的*In Vivo*策略,可提高药物的普遍适用性,并摆脱繁琐、高风险的骨髓移植和化疗过程。随着LNP递送体系和新型AAV等载体的发展,基因编辑正加速由*Ex Vivo*模式向*In Vivo*直接递送转变。相较依赖复杂体外操作的*Ex Vivo*策略,*In Vivo*编辑可直接作用于目标组织,显著简化流程并降低成本。LNP在肝脏等实质器官中的高效递送能力,使这些实质器官成为体内基因敲除和突变纠正的重要靶器官^[94]。而AAV凭借其组织嗜性,在部分难以被其他载体覆盖的组织中具有不可替代的价值^[85,86]。*In Vivo*基因编辑被认为是推动基因治疗向更广泛疾病谱系拓展、提升其可及性的关键方向。

5.2 通用型平台与N = 1个体化定制的双轨发展

未来罕见病基因治疗将呈现平台化开发与个体化定制并行的发展格局。一方面,如NIH推动的Platform Vector Gene Therapy (PaVeGT)项目,通过统一的载体、生产和分析体系实现通用型平台化开发,可在多个疾病间复用核心组件,显著压缩开发周期和成本^[162]。另一方面,针对极罕见或个体特异突变的N = 1定制疗法,如Bespoke Gene Therapy Consortium (BGTC)等公私合作联盟推动的,可以建立统一的标准、监管流程和生产规范,使单患者治疗在技术和监管层面具备可行性^[163]。这种双轨策略既能提高常见单基因病的开发效率,又为极罕见或个体特异性突变患者提供了可及的治疗希望。

5.3 溢出效应

罕见病基因治疗在高剂量给药、安全监测、长期随访和生产工艺方面积累的经验,有望向常见病领域产生显著的溢出效应。多项源于罕见病的递送和基因编辑技术,已加速向代谢性和心血管疾病等领域转化。当然,对于常见病来说,对药物的安全性要求理论上会显著高于罕见病,而罕见病由此成为医

学创新的重要“试验田”,其技术突破有望转移至常见疾病的持久干预治疗^[164,165]。如PCSK9基因编辑治疗家族性高胆固醇血症^[56],其未来获批的药物有望将基因编辑治疗策略的优势拓展至需持续干预的常见高胆固醇血症患者的治疗。

5.4 多方协作生态

罕见病的治疗作为高度异质化的体系,必须整合学术界、产业界的研发力量。而监管政策的及时匹配和调整是推动罕见病治疗的根本支撑。此外,患者组织正从单纯资助者转变为研发体系的重要推动力量。通过建立患者登记系统、支持自然病史研究并参与药物开发,患者组织在降低早期研发风险和弥补商业空白方面发挥着重要作用^[16,166]。未来,患者组织、学术界、产业界与监管机构的深度协作,将是提升研发效率、优化临床设计和改善药物可及性的核心驱动力。

6 结论

总体而言,罕见病基因治疗已经从以安全性和可行性验证为主的概念探索阶段,迈入临床转化持续加速的关键窗口期。尽管长期安全性评估、规模化制造能力以及治疗可及性仍构成制约其广泛应用的主要瓶颈,但随着递送载体工程化水平的提升、基因编辑精度与可控性的增强,以及平台化开发与个体化定制并行推进的研发策略逐步成熟,越来越多的罕见病正从“无药可医”走向“可治”,甚至在部分适应证中展现出实现根本性疾病控制或功能性治愈的现实可能。罕见病基因治疗所形成的技术路径、临床证据体系和协作模式,正在为更广泛的疾病领域提供可复制的范式参考。这一进程不仅将重塑罕见病的诊疗格局,也将持续推动医学从对症管理向精准干预、从缓解病程向根本性疾病干预的长期目标稳步迈进。

参考文献

- [1] Kaufmann P, Pariser AR, Austin C. From scientific discovery to treatments for rare diseases-the view from the National Center for Advancing Translational Sciences-Office of Rare Diseases Research. *Orphanet J Rare Dis*, 2018, 13: 196.
- [2] Schieppati A, Henter JJ, Daina E, et al. Why rare diseases are an important medical and social issue. *Lancet*, 2008, 371: 2039-41.

- [3] Lu Y, Han J. The definition of rare disease in China and its prospects. *Intractable Rare Dis Res*, 2022, 11: 29–30.
- [4] Han Q, Fu H, Chu X, et al. Research advances in treatment methods and drug development for rare diseases. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 971541.
- [5] Nguengang Wakap S, Lambert DM, Olry A, et al. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database. *Eur J Hum Genet*, 2020, 28: 165–73.
- [6] Li X, Zhang X, Zhang S, et al. Rare disease awareness and perspectives of physicians in China: a questionnaire-based study. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16: 171.
- [7] Wright CF, FitzPatrick DR, Firth HV. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children. *Nat Rev Genet*, 2018, 19: 253–68.
- [8] Mendez-Vidal C, Bravo-Gil N, Perez-Florido J, et al. A genomic strategy for precision medicine in rare diseases: integrating customized algorithms into clinical practice. *J Transl Med*, 2025, 23: 86.
- [9] Ma N, Zhang JZ, Itzhaki I, et al. Determining the pathogenicity of a genomic variant of uncertain significance using CRISPR/Cas9 and human-induced pluripotent stem cells. *Circulation*, 2018, 138: 2666–81.
- [10] Vanhooydonck M, Debaenst S, Vanbelleghem E, et al. Evaluating variants of uncertain significance in adult zebrafish via prime editing: a proof of concept with a COL1A2 variant. *BMC Med Genomics*, 2025, 19: 7.
- [11] Tesi B, Boileau C, Boycott KM, et al. Precision medicine in rare diseases: What is next? *J Intern Med*, 2023, 294: 397–412.
- [12] Burns J, Timmerman V, Laura M, et al. Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies. *Nat Rev Dis Primers*, 2026, 12: 3.
- [13] Thorpe RK, Azaiez H, Wu P, et al. The natural history of OTOF-related auditory neuropathy spectrum disorders: a multicenter study. *Hum Genet*, 2022, 141: 853–63.
- [14] Luan X, Jin Y, Guan L, et al. National-scale genomic diagnosis of rare diseases in China. *Sci Bull (Beijing)*, 2025, doi: 10.1016/j.scib.2025.08.044.
- [15] Schoenmakers DH, van den Berg S, Timmers L, et al. Framework for multistakeholder patient registries in the field of rare diseases: focus on neurogenetic diseases. *Neurology*, 2024, 103: e209743.
- [16] Zilber S, Burnworth M, Afolabi T, et al. Expanding research and care for Leigh syndrome: efforts of a patient-led advocacy organization. *Res Involv Engagem*, 2025, 11: 137.
- [17] Nassisi M, Coarelli G, Blanchard B, et al. ATXN7-related cone-rod dystrophy: the Integrated Functional Evaluation of the Cerebellum (CERMOI) Study. *JAMA Ophthalmol*, 2024, 142: 301–8.
- [18] Hmeljak J, Justice MJ. From gene to treatment: supporting rare disease translational research through model systems. *Dis Model Mech*, 2019, 12: dmm039271.
- [19] Tadenev ALD, Burgess RW. Model validity for preclinical studies in precision medicine: precisely how precise do we need to be? *Mamm Genome*, 2019, 30: 111–22.
- [20] BIO, Informa Pharma Intelligence, QLS Advisors. Clinical Development Success Rates and Contributing Factors 2011–2020[R/OL]. (2021-02). https://go.bio.org/rs/490-EHZ-999/images/ClinicalDevelopmentSuccessRates2011_2020.pdf.
- [21] Carpentier AC, Frisch F, Labbe SM, et al. Effect of alipogene tiparvovec (AAV1-LPL(S447X)) on postprandial chylomicron metabolism in lipoprotein lipase-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 1635–44.
- [22] Shafrin J, Quddus S, Marin M, et al. A decade of health innovation: the impact of new medicines on patient health and the implications for NICE's size of benefit multiplier. *Value Health*, 2023, 26: 1435–9.
- [23] Chong JX, Buckingham KJ, Jhangiani SN, et al. The genetic basis of mendelian phenotypes: discoveries, challenges, and opportunities. *Am J Hum Genet*, 2015, 97: 199–215.
- [24] Plenge RM, Scolnick EM, Altshuler D. Validating therapeutic targets through human genetics. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12: 581–94.
- [25] Pochopien M, Paterak E, Clay E, et al. An overview of health technology assessments of gene therapies with the focus on cost-effectiveness models. *J Mark Access Health Policy*, 2021, 9: 2002006.
- [26] Carr DR, Bradshaw SE. Gene therapies: the challenge of super-high-cost treatments and how to pay for them. *Regen Med*, 2016, 11: 381–93.
- [27] Fox T, Bueren J, Candotti F, et al. Access to gene therapy for rare diseases when commercialization is not fit for purpose. *Nat Med*, 2023, 29: 518–9.
- [28] Zhang Y, Wu ZY. Gene therapy for monogenic disorders: challenges, strategies, and perspectives. *J Genet Genomics*, 2024, 51: 133–43.
- [29] Shellhaas RA, deVeber G, Bonkowsky JL, et al. Gene-targeted therapies in pediatric neurology: challenges and opportunities in diagnosis and delivery. *Pediatr*

- Neurol, 2021, 125: 53–7.
- [30] Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, 2017, 390: 849–60.
- [31] Xue F, Ju M, Zhu T, et al. Factor IX-Padua AAV gene therapy in hemophilia B: phases 1/2 and 3 trials. *Nat Med*, 2026, 32: 93–102.
- [32] Locatelli F, Thompson AA, Kwiatkowski JL, et al. Betibeglogene autotemcel gene therapy for non- β^0/β^0 genotype β -thalassemia. *N Engl J Med*, 2022, 386: 415–27.
- [33] Fumagalli F, Calbi V, Natali Sora MG, et al. Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: long-term results from a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial and expanded access. *Lancet*, 2022, 399: 372–83.
- [34] Koeberl D, Schulze A, Sondheimer N, et al. Interim analyses of a first-in-human phase 1/2 mRNA trial for propionic acidemia. *Nature*, 2024, 628: 872–7.
- [35] Hewitt SL, Bailey D, Zielinski J, et al. Intratumoral IL12 mRNA therapy promotes TH1 transformation of the tumor microenvironment. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 6284–98.
- [36] Corbett KS, Edwards DK, Leist SR, et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature*, 2020, 586: 567–71.
- [37] Rojas LA, Sethna Z, Soares KC, et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer. *Nature*, 2023, 618: 144–50.
- [38] Xu J, Chen Z, Su L, et al. In vivo CAR cell therapy: from bench to bedside. *J Hematol Oncol*, 2025, 18: 105.
- [39] Longhurst HJ, Lindsay K, Petersen RS, et al. CRISPR-Cas9 in vivo gene editing of KLKB1 for hereditary angioedema. *N Engl J Med*, 2024, 390: 432–41.
- [40] Aartsma-Rus A, Takeda S. A historical perspective on the development of antisense oligonucleotide treatments for Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy. *J Neuromuscul Dis*, 2026, 13: 147–55.
- [41] Edinoff AN, Nguyen LH, Odisho AS, et al. The antisense oligonucleotide nusinersen for treatment of spinal muscular atrophy. *Orthop Rev (Pavia)*, 2021, 13: 24934.
- [42] Lee A. Fitusiran: first approval. *Drugs*, 2025, 85: 1073–7.
- [43] Keam SJ. Vutrisiran: first approval. *Drugs*, 2022, 82: 1419–25.
- [44] Liou RH, Urrutia-Cabrera D, Liu CF, et al. Using RNA-targeting CRISPR-Cas13 and engineered U1 systems to target ABCA4 splice variants in Stargardt disease. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2026, 37: 102789.
- [45] Yang P, Lou Y, Geng Z, et al. Allele-specific suppression of variant MHC with high-precision RNA nuclease CRISPR-Cas13d prevents hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 2024, 150: 283–98.
- [46] Kim H, Kim JS. A guide to genome engineering with programmable nucleases. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 321–34.
- [47] Wang JY, Doudna JA. CRISPR technology: a decade of genome editing is only the beginning. *Science*, 2023, 379: eadd8643.
- [48] Locatelli F, Lang P, Wall D, et al. Exagamglogene autotemcel for transfusion-dependent β -thalassemia. *N Engl J Med*, 2024, 390: 1663–76.
- [49] Kosicki M, Tomberg K, Bradley A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 765–71.
- [50] Huang TP, Newby GA, Liu DR. Precision genome editing using cytosine and adenine base editors in mammalian cells. *Nat Protoc*, 2021, 16: 1089–128.
- [51] Komor AC, Kim YB, Packer MS, et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*, 2016, 533: 420–4.
- [52] Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, et al. Programmable base editing of A*T to G*C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*, 2017, 551: 464–71.
- [53] Kurt IC, Zhou R, Iyer S, et al. CRISPR C-to-G base editors for inducing targeted DNA transversions in human cells. *Nat Biotechnol*, 2021, 39: 41–6.
- [54] Ye L, Zhao D, Li J, et al. Glycosylase-based base editors for efficient T-to-G and C-to-G editing in mammalian cells. *Nat Biotechnol*, 2024, 42: 1538–47.
- [55] Chen L, Hong M, Luan C, et al. Adenine transversion editors enable precise, efficient A*T-to-C*G base editing in mammalian cells and embryos. *Nat Biotechnol*, 2024, 42: 638–50.
- [56] Vafai SB, Täubel J, Ashdown T, et al. In vivo base editing of PCSK9 with VERVE-102 for hypercholesterolemia. *N Engl J Med*, 2026, 395: 648–59.
- [57] Wang Y, Kong Y, Zhang Y, et al. Long-term attenuation of vascular hyperpermeability in a hereditary angioedema mouse model by adenine base editing.

- Allergy, 2026, 81: 1720–34.
- [58] Wang M, Zhang Z, Wang X, et al. Optimized *in vivo* base editing restores auditory function in a DFNA15 mouse model. *Nat Commun*, 2025, 16: 8322.
- [59] Grunewald J, Zhou R, Garcia SP, et al. Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature*, 2019, 569: 433–7.
- [60] Woolf TM, Chase JM, Stinchcomb DT. Toward the therapeutic editing of mutated RNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92: 8298–302.
- [61] Merkle T, Merz S, Reautschnig P, et al. Precise RNA editing by recruiting endogenous ADARs with antisense oligonucleotides. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 133–8.
- [62] Reautschnig P, Wahn N, Wettengel J, et al. CLUSTER guide RNAs enable precise and efficient RNA editing with endogenous ADAR enzymes *in vivo*. *Nat Biotechnol*, 2022, 40: 759–68.
- [63] Yi Z, Zhao Y, Yi Z, et al. Utilizing AAV-mediated LEAPER 2.0 for programmable RNA editing in non-human primates and nonsense mutation correction in humanized Hurler syndrome mice. *Genome Biol*, 2023, 24: 243.
- [64] Yan W, Weng X. Targeted RNA base editing for therapeutic: mechanisms and advances. *Pharm Sci Adv*, 2025, 3: 100089.
- [65] Monian P, Shivalila C, Lu G, et al. RNA editing for the treatment of α -1 antitrypsin deficiency. *Nucleic Acids Res*, 2026, 54: gkaf1518.
- [66] Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*, 2019, 576: 149–57.
- [67] Zhang L, Zhao D, Wei Z, et al. The advancement of prime editing technology. *Chembiochem*, 2025, 26: e202500193.
- [68] Gori JL, Haddad E, Frangoul H, et al. Prime editing for p47(phox)-deficient chronic granulomatous disease. *N Engl J Med*, 2026, 394: 1195–203.
- [69] Sousa AA, Terrey M, Sakai HA, et al. *In vivo* prime editing rescues alternating hemiplegia of childhood in mice. *Cell*, 2025, 188: 4275–94.e23.
- [70] Fu Y, He X, Ma L, et al. *In vivo* prime editing rescues photoreceptor degeneration in nonsense mutant retinitis pigmentosa. *Nat Commun*, 2025, 16: 2394.
- [71] Amabile A, Migliara A, Capasso P, et al. Inheritable silencing of endogenous genes by hit-and-run targeted epigenetic editing. *Cell*, 2016, 167: 219–32.e14.
- [72] Nunez JK, Chen J, Pommier GC, et al. Genome-wide programmable transcriptional memory by CRISPR-based epigenome editing. *Cell*, 2021, 184: 2503–19.e17.
- [73] Xu D, Besselink S, Ramadoss GN, et al. Programmable epigenome editing by transient delivery of CRISPR epigenome editor ribonucleoproteins. *Nat Commun*, 2025, 16: 7948.
- [74] Mao S, Peng W, Feng Z, et al. Design of optimized epigenetic regulators for durable gene silencing with application to PCSK9 in nonhuman primates. *Nat Biotechnol*, 2025, doi: 10.1038/s41587-025-02838-y.
- [75] Wilson C, Chen PJ, Miao Z, et al. Programmable m⁶A modification of cellular RNAs with a Cas13-directed methyltransferase. *Nat Biotechnol*, 2020, 38: 1431–40.
- [76] Pupak A, Rodriguez-Navarro I, Sathasivam K, et al. m⁶A modification of mutant huntingtin RNA promotes the biogenesis of pathogenic huntingtin transcripts. *EMBO Rep*, 2024, 25: 5026–52.
- [77] Pandey S, Gao XD, Krasnow NA, et al. Efficient site-specific integration of large genes in mammalian cells via continuously evolved recombinases and prime editing. *Nat Biomed Eng*, 2025, 9: 22–39.
- [78] Yarnall MTN, Ioannidi EI, Schmitt-Ulms C, et al. Drag-and-drop genome insertion of large sequences without double-strand DNA cleavage using CRISPR-directed integrases. *Nat Biotechnol*, 2023, 41: 500–12.
- [79] Klompe SE, Vo PLH, Halpin-Healy TS, et al. Transposon-encoded CRISPR-Cas systems direct RNA-guided DNA integration. *Nature*, 2019, 571: 219–25.
- [80] Sun C, Li H, Liu Y, et al. Iterative recombinase technologies for efficient and precise genome engineering across kilobase to megabase scales. *Cell*, 2025, 188: 4693–710.e15.
- [81] Goold HD, Kroukamp H, Erpf PE, et al. Construction and iterative redesign of synXVI a 903 kb synthetic *Saccharomyces cerevisiae* chromosome. *Nat Commun*, 2025, 16: 841.
- [82] Venter JC, Glass JI, Hutchison CA, 3rd, et al. Synthetic chromosomes, genomes, viruses, and cells. *Cell*, 2022, 185: 2708–24.
- [83] Doi A, Delaney C, Tanner D, et al. RNA exon editing: splicing the way to treat human diseases. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2024, 35: 102311.
- [84] Philippidis A, Roche, Ascidian launch up-to-\$1.8B RNA exon editing collaboration. *Hum Gene Ther*, 2024, 35: 517–9.
- [85] Wang JH, Gessler DJ, Zhan W, et al. Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9: 78.

- [86] Gil JS, Lee S, Koo T. Therapeutic in vivo genome editing: innovations and challenges in rAAV vector-based CRISPR delivery. *Gene Ther*, 2026, 33: 97–106.
- [87] Lee NK, Chang JW. Manufacturing cell and gene therapies: challenges in clinical translation. *Ann Lab Med*, 2024, 44: 314–23.
- [88] Giommetti A, Papanikolaou E. Advancements in hematopoietic stem cell gene therapy: a journey of progress for viral transduction. *Cells*, 2024, 13: 1039.
- [89] Muravyeva A, Smirnikhina S. Adenoviral vectors for gene therapy of hereditary diseases. *Biology (Basel)*, 2024, 13: 1052.
- [90] Le Hars M, Joussain C, Jegu T, et al. Non-replicative herpes simplex virus genomic and amplicon vectors for gene therapy - an update. *Gene Ther*, 2025, 32: 173–83.
- [91] Wang X, Liu S, Sun Y, et al. Preparation of selective organ-targeting (SORT) lipid nanoparticles (LNPs) using multiple technical methods for tissue-specific mRNA delivery. *Nat Protoc*, 2023, 18: 265–91.
- [92] Guerrini G, Scaccabarozzi D, Mehn D, et al. Challenges in measuring in vitro activity of LNP-mRNA therapeutics. *Int J Mol Sci*, 2025, 26: 8152.
- [93] Gillmore JD, Gane E, Taubel J, et al. CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*, 2021, 385: 493–502.
- [94] Cohn DM, Gurugama P, Magerl M, et al. CRISPR-based therapy for hereditary angioedema. *N Engl J Med*, 2025, 392: 458–67.
- [95] Debacker AJ, Voutilainen J, Catley M, et al. Delivery of oligonucleotides to the liver with GalNAc: from research to registered therapeutic drug. *Mol Ther*, 2020, 28: 1759–71.
- [96] Shevelev A, Pozdniakova N, Generalov E, et al. siRNA therapeutics for the treatment of hereditary diseases and other conditions: a review. *Int J Mol Sci*, 2025, 26: 8651.
- [97] Ramirez-Cortes F, Menova P. Hepatocyte targeting via the asialoglycoprotein receptor. *RSC Med Chem*, 2025, 16: 525–44.
- [98] Tenchov R, Sasso JM, Wang X, et al. Exosomes—nature's lipid nanoparticles, a rising star in drug delivery and diagnostics. *ACS Nano*, 2022, 16: 17802–46.
- [99] Serrano DR, Juste F, Anaya BJ, et al. Exosome-based drug delivery: a next-generation platform for cancer, infection, neurological and immunological diseases, gene therapy and regenerative medicine. *Pharmaceutics*, 2025, 17: 1336.
- [100] Prodromos CC, Del Villar R, Jin MY, et al. Exosome-rich mesenchymal stem cell secretome improves strength in patients with amyotrophic lateral sclerosis, Kennedy disease, congenital myasthenic syndrome and Lewy body dementia. *Am J Stem Cells*, 2025, 14: 217–29.
- [101] Chen YF, Luh F, Ho YS, et al. Exosomes: a review of biologic function, diagnostic and targeted therapy applications, and clinical trials. *J Biomed Sci*, 2024, 31: 67.
- [102] Ikwuagwu B, Tullman-Ercek D. Virus-like particles for drug delivery: a review of methods and applications. *Curr Opin Biotechnol*, 2022, 78: 102785.
- [103] Mejia-Mendez JL, Vazquez-Duhalt R, Hernandez LR, et al. Virus-like particles: fundamentals and biomedical applications. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 8579.
- [104] Son SH, Woo S, Choi A, et al. Advances in engineered virus-like particles for genome editing and therapy. *BioDrugs*, 2026, 40: 317–33.
- [105] Sekayan T, Simmons DH, von Drygalski A. Etranacogene dezaparvovec-drlb gene therapy for patients with hemophilia B (congenital factor IX deficiency). *Expert Opin Biol Ther*, 2023, 23: 1173–84.
- [106] Rasko JEJ, Samelson-Jones BJ, George LA, et al. Fidanacogene elaparvovec for hemophilia B—a multiyear follow-up study. *N Engl J Med*, 2025, 392: 1508–17.
- [107] Ozelo MC, Mason J, Dunn AL, et al. Safety and efficacy of valoctocogene roxaparvovec with prophylactic glucocorticoids: 1-year results from the phase 3b, single-arm, open-label GENER8-3 study. *J Thromb Haemost*, 2025, 23: 1496–506.
- [108] Xue F, Hu Y, Yang R, et al. Chinese guidance for the clinical application of adeno-associated virus vector-based gene therapy for hemophilia B (2025). *Blood Sci*, 2025, 7: e00257.
- [109] Kwiatkowski JL, Thompson AA, Schneiderman J, et al. Long-term efficacy and safety results of betibeglogene autotemcel gene therapy for transfusion-dependent β -thalassemia. *Blood*, 2026, 147: 2203–14.
- [110] Herring WL, Gallagher ME, Shah N, et al. Cost-effectiveness of lovotibeglogene autotemcel (Lovo-Cel) gene therapy for patients with sickle cell disease and recurrent vaso-occlusive events in the United States. *Pharmacoeconomics*, 2024, 42: 693–714.
- [111] Blair HA. Etuvedigene autotemcel: first approval. *Mol Diagn Ther*, 2026, 30: 539–43.
- [112] Frangoul H, Locatelli F, Sharma A, et al. Exagamglogene autotemcel for severe sickle cell disease. *N Engl J Med*, 2024, 390: 1649–62.
- [113] Rio P, Zubicaray J, Navarro S, et al. Haematopoietic

- gene therapy of non-conditioned patients with Fanconi anaemia-A: results from open-label phase 1/2 (FANCOLEN-1) and long-term clinical trials. *Lancet*, 2025, 404: 2584–92.
- [114] Booth C, Sevilla J, Almaraz E, et al. Lentiviral gene therapy for severe leukocyte adhesion deficiency type 1. *N Engl J Med*, 2025, 392: 1698–709.
- [115] Kwon JM, Munell F, Le Goff L, et al. Intrathecal onasemnogene abeparvovec for treatment-experienced patients with spinal muscular atrophy: a phase 3b, open-label trial. *Nat Med*, 2026, 32: 488–93.
- [116] Crudele JM. Safety and efficacy of commercially administered elevidys (delandistrogene moxeparvovec-rokl). *Mol Ther*, 2026, 34: 10–1.
- [117] Zhang R, O'Connell T, Monteleone B, et al. Eladocagene exuparvovec for the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency (AADCd): an economic evaluation from a US perspective. *Pharmacoeconomics*, 2026, 44: 25–41.
- [118] Keam SJ. Elivaldogene autotemcel: first approval. *Mol Diagn Ther*, 2021, 25: 803–9.
- [119] Fumagalli F, Calbi V, Gallo V, et al. Long-term effects of atidarsagene autotemcel for metachromatic leukodystrophy. *N Engl J Med*, 2025, 392: 1609–20.
- [120] Dowling JJ, Pirovolakis T, Devakandan K, et al. AAV gene therapy for hereditary spastic paraplegia type 50: a phase 1 trial in a single patient. *Nat Med*, 2024, 30: 1882–7.
- [121] Bharucha-Goebel DX, Todd JJ, Saade D, et al. Intrathecal gene therapy for giant axonal neuropathy. *N Engl J Med*, 2024, 390: 1092–104.
- [122] Gillmore JD, Gane E, Taubel J, et al. Nexiguran ziclumeran gene editing in hereditary ATTR with polyneuropathy. *N Engl J Med*, 2025, 393: 1375–86.
- [123] Ma X, Zhuang L, Ma W, et al. AAV9-mediated gene therapy for infantile-onset Pompe's disease. *N Engl J Med*, 2025, 392: 2438–46.
- [124] Greenberg B, Taylor M, Adler E, et al. Phase 1 study of AAV9.LAMP2B gene therapy in Danon disease. *N Engl J Med*, 2025, 392: 972–83.
- [125] Thompson DA, De Smit E, Tan W, et al. Vision outcomes in children treated with voretigene neparvovec for RPE65-associated retinopathy. *JAMA Ophthalmol*, 2026, 144: 156–65.
- [126] Lloyd A, Piglowska N, Ciulla T, et al. Estimation of impact of RPE65-mediated inherited retinal disease on quality of life and the potential benefits of gene therapy. *Br J Ophthalmol*, 2019, 103: 1610–4.
- [127] Hoy SM. Revakinagene taroretcel: first approval. *Mol Diagn Ther*, 2025, 29: 553–61.
- [128] McKyton A, Averbukh E, Marks Ohana D, et al. Cortical visual mapping following ocular gene augmentation therapy for achromatopsia. *J Neurosci*, 2021, 41: 7363–71.
- [129] Yang P, Pardon LP, Ho AC, et al. Safety and efficacy of ATSN-101 in patients with Leber congenital amaurosis caused by biallelic mutations in GUCY2D: a phase 1/2, multicentre, open-label, unilateral dose escalation study. *Lancet*, 2024, 404: 962–70.
- [130] Michaelides M, Besirli CG, Yang Y, et al. Phase 1/2 AAV5-hRKp.RPGR (Botaretigene Sparoparvovec) gene therapy: safety and efficacy in RPGR-associated X-linked retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol*, 2024, 267: 122–34.
- [131] Aleman TS, Huckfeldt RM, Serrano LW, et al. Adeno-associated virus serotype 2-hCHM subretinal delivery to the macula in choroideremia: two-year interim results of an ongoing phase I/II gene therapy trial. *Ophthalmology*, 2022, 129: 1177–91.
- [132] Wang J, Zhang J, Yu S, et al. Gene replacement therapy in Bietti crystalline corneoretinal dystrophy: an open-label, single-arm, exploratory trial. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9: 95.
- [133] Pierce EA, Aleman TS, Jayasundera KT, et al. Gene editing for CEP290-associated retinal degeneration. *N Engl J Med*, 2024, 390: 1972–84.
- [134] Yu I, Jeong J. Advancing gene therapy for phenylketonuria: from precision editing to clinical translation. *Int J Mol Sci*, 2025, 26: 8722.
- [135] D'Antiga L, Beuers U, Ronzitti G, et al. Gene therapy in patients with the Crigler-Najjar syndrome. *N Engl J Med*, 2023, 389: 620–31.
- [136] Xun M, Fan X, Wang H, et al. Comparative analysis of RNA versus protein splicing in dual AAV-mediated gene therapy in a mouse model of DFNB9 deafness. *Mol Ther*, 2026, 34: 203–15.
- [137] Amariutei AE, Webb S, Carlton AJ, et al. Adeno-associated virus-based rescue of Myo7a expression restores hair-cell function and improves hearing thresholds in a USH1B mouse strain. *J Physiol*, 2025, 603: 7171–88.
- [138] Lv J, Wang H, Cheng X, et al. AAV1-hOTOF gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial. *Lancet*, 2024, 403: 2317–25.
- [139] Qi J, Tan F, Zhang L, et al. AAV-mediated gene therapy restores hearing in patients with DFNB9 deafness. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11: e2306788.
- [140] Wang H, Chen Y, Lv J, et al. Bilateral gene therapy in

- children with autosomal recessive deafness 9: single-arm trial results. *Nat Med*, 2024, 30: 1898–904.
- [141] Qi J, Zhang L, Lu L, et al. AAV gene therapy for autosomal recessive deafness 9: a single-arm trial. *Nat Med*, 2025, 31: 2917–26.
- [142] Valayannopoulos V, Bance M, Carvalho DS, et al. DB-OTO gene therapy for inherited deafness. *N Engl J Med*, 2026, 394: 1074–83.
- [143] Dhillon S. Beremagene geperpavec: first approval. *Drugs*, 2023, 83: 1131–5.
- [144] Lee A. Prademagene zamikeracel: first approval. *Mol Diagn Ther*, 2025, 29: 701–4.
- [145] Stirnadel-Farrant H, Kudari M, Garman N, et al. Gene therapy in rare diseases: the benefits and challenges of developing a patient-centric registry for Strimvelis in ADA-SCID. *Orphanet J Rare Dis*, 2018, 13: 49.
- [146] Sleasman J, McCarthy E, Aftring RP, et al. The Congenital Athymia Patient Registry: an observational cohort study to evaluate the real-world efficacy and safety of allogeneic processed thymus tissue-agdc. *Clin Immunol*, 2023, 250: 109450.
- [147] Colella P, Ronzitti G, Mingozzi F. Emerging issues in AAV-mediated in vivo gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2018, 8: 87–104.
- [148] Yang TY, Braun M, Lembke W, et al. Immunogenicity assessment of AAV-based gene therapies: an IQ consortium industry white paper. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2022, 26: 471–94.
- [149] Lek A, Wong B, Keeler A, et al. Death after high-dose rAAV9 gene therapy in a patient with Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med*, 2023, 389: 1203–10.
- [150] Zhao Q, Yu S, Fu D, et al. Pre-existing Anti-AAV9 antibodies in the Chinese healthy and rare disease populations: implications for gene therapy. *Virus Res*, 2025, 354: 199549.
- [151] Ramadan A, Rao P, Allababidi S, et al. Tolerization with a novel dual-acting liposomal Tim agonist prepares the immune system for the success of gene therapy. *Int J Mol Sci*, 2025, 26: 3830.
- [152] Qiu Q, Xu Z, Tian J, et al. Impact of natural IgM concentration on gene therapy with adenovirus type 5 vectors. *J Virol*, 2015, 89: 3412–6.
- [153] Kozma GT, Meszaros T, Vashegyi I, et al. Pseudo-anaphylaxis to polyethylene glycol (PEG)-coated liposomes: roles of anti-PEG IgM and complement activation in a porcine model of human infusion reactions. *ACS Nano*, 2019, 13: 9315–24.
- [154] Hou X, Zaks T, Langer R, et al. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nat Rev Mater*, 2021, 6: 1078–94.
- [155] Lee Y, Jeong M, Park J, et al. Immunogenicity of lipid nanoparticles and its impact on the efficacy of mRNA vaccines and therapeutics. *Exp Mol Med*, 2023, 55: 2085–96.
- [156] Modlich U, Baum C. Preventing and exploiting the oncogenic potential of integrating gene vectors. *J Clin Invest*, 2009, 119: 755–8.
- [157] Ranzani M, Cesana D, Bartholomae CC, et al. Lentiviral vector-based insertional mutagenesis identifies genes associated with liver cancer. *Nat Methods*, 2013, 10: 155–61.
- [158] Leibowitz ML, Papathanasiou S, Doerfler PA, et al. Chromothripsis as an on-target consequence of CRISPR-Cas9 genome editing. *Nat Genet*, 2021, 53: 895–905.
- [159] Schirotti G, Conti A, Ferrari S, et al. Precise gene editing preserves hematopoietic stem cell function following transient p53-mediated DNA damage response. *Cell Stem Cell*, 2019, 24: 551–65.e8.
- [160] Wright JF. Product-related impurities in clinical-grade recombinant AAV vectors: characterization and risk assessment. *Biomedicines*, 2014, 2: 80–97.
- [161] Li X, Li J, Wei J, et al. Design strategies for novel lipid nanoparticle for mRNA vaccine and therapeutics: current understandings and future perspectives. *MedComm (2020)*, 2025, 6: e70414.
- [162] Brooks PJ, Ottinger EA, Portero D, et al. The platform vector gene therapies project: increasing the efficiency of adeno-associated virus gene therapy clinical trial startup. *Hum Gene Ther*, 2020, 31: 1034–42.
- [163] Brooks PJ, Miller TM, Revah F, et al. The Bespoke Gene Therapy Consortium: facilitating development of AAV gene therapies for rare diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23: 157–8.
- [164] Asher D, Dai D, Klimchak AC, et al. Paving the way for future gene therapies: a case study of scientific spillover from delandistrogene moxeparvovec. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2023, 30: 474–83.
- [165] Grisorio L, Bongianino R, Gianceselli M, et al. Gene therapy for cardiac diseases: methods, challenges, and future directions. *Cardiovasc Res*, 2024, 120: 1664–82.
- [166] Vavassori S, Russell S, Scotti C, et al. Unlocking the full potential of rare disease drug development: exploring the not-for-profit sector's contributions to drug development and access. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1441807.