

单基因遗传疾病的基因疗法

周丽娟^{1,2}, 王京春^{1*}, 高宏斌¹, 赵东平^{1,2}

1. 中国科普研究所, 北京 100081

2. 中国科学院科技战略咨询研究院, 北京 100190

摘要 基因疗法是全球突破性技术之一, 在单基因遗传疾病治疗中已取得突破性进展。阐述了不同的基因疗法策略、载体和基因编辑技术的特点, 综述了脊髓性肌萎缩症、Leber先天性黑蒙2型、血友病、 β -地中海贫血的发病机理、临床表现、基因疗法的开发进程以及临床试验情况。目前, 上述4种单基因疾病的9种基因疗法已分别取得美国食品药品监督管理局突破性疗法资格、欧洲药品管理局的优先药物资格或者已经批准上市。基因疗法的研究还面临着许多挑战, 但随着科学研究的深入和科学技术的不断发展, 将有更多的患者获得治疗。

关键词 基因疗法; 脊髓型肌萎缩; Leber先天性黑蒙2型; 血友病; β -地中海贫血

目前已知的人类遗传病超过6000种, 单基因遗传病3200种, 其中95%以上的遗传疾病都无有效的治疗方法。替代疗法中, 传统的小分子或者酶能够一定程度上缓解患者的痛苦, 但此种治疗方法需要持续给药, 加重了患者的经济、社会心理负担, 同时, 药物不仅不能从根本上治疗遗传类疾病, 还会引起严重的并发症^[1-2]。

20世纪70年代西奥多·弗里德曼(Theodore Friedmann)预言了运用基因疗法治疗单基因遗传疾病的潜力和挑战^[3]。预言的提出为单基因遗传病患者解除病痛带来了希望。从原理上讲, 基因疗法可使细胞内产生正常的内源性蛋白, 取代终身服用小分子、酶或者输血的治疗方法^[4-5], 以达到根

治遗传性疾病的目的。发展至今, 基因疗法的研究已经开展近50年, 临床试验情况和治疗效果已证明, 基因疗法为单基因遗传病患者提供了新的治疗选择^[6]。

1 基因疗法

基因疗法是指将外源正常基因导入靶细胞, 纠正或补偿缺陷和异常的基因, 以达到根治疾病的目的。基因疗法概念向患者临床的转化始于1990年, 腺苷脱氨酶缺乏症患者接受基因疗法后, 症状得到短暂改善, 尽管效果不持久, 仍可证明基因疗法是可行的。但在1999年后, 基因疗法出现了令

收稿日期: 2020-03-18; 修回日期: 2020-05-21

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFA0802104); 国家自然科学基金重大项目(91954205)

作者简介: 周丽娟, 博士研究生, 研究方向为药物筛选, 电子信箱: zlj20077002@163.com; 王京春(通信作者), 研究员, 研究方向为科学传播及科学素质测评, 电子信箱: wangjingchun@estm.org.cn

引用格式: 周丽娟, 王京春, 高宏斌, 等. 单基因遗传疾病的基因疗法[J]. 科技导报, 2020, 38(15): 89-100; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.

2020.15.010

人失望的结果,针对鸟氨酸转氨酶缺乏症的患者进行基因疗法中,患者死于免疫反应^[7]。2000年,患有重症免疫缺陷的幼儿接受了基因疗法的临床试验,患者的症状得到改善,但是几年后,有 1/4 接受治疗的患者因转入的基因插到原癌基因附近而引发白血病。基因疗法的载体引起的炎症反应和原癌基因激活引发的恶性肿瘤对基因疗法的研究产生不利影响^[8]。但基因疗法的科研工作并未停止,近些年在基因递送和预防措施方面取得了很多进展。目前,严重的单基因遗传疾病 β -地中海贫血,罕见的视力丧失,脊髓性肌萎缩症已经研发出基因疗法产品。同时,有几百种基因疗法正在开发中,基因疗法已逐步成为单基因遗传疾病治疗中受认可的治疗方法^[9]。

基因疗法的策略有体内基因疗法(in vivo therapy)和回体基因疗法(ex vivo therapy)两种(图 1)^[9],体内基因疗法是将含有修复基因片段的病毒或非病毒载体通过对患者进行局部或全身注射的方式转移到患者体内,基因以整合的方式插入到患者的染色体上进行基因修复,或以非整合的方式传递给长期处于有丝分裂或缓慢分裂的细胞以完成 DNA 在染色体外稳定表达。体内基因疗法的整个编辑过程都是在体内进行,治疗中不仅需要编辑方法和工具准确、高效,还需要确保病毒载体对人体是无害的。基因转移过程必须克服复杂的细胞内环境和组织障碍,才能将新的遗传信息传递到靶细胞中,进而驱动转入的基因高效表达^[5,9]。

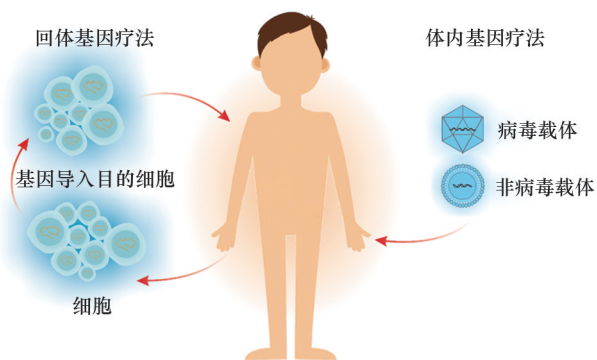


图 1 基因疗法的两种策略示意

回体基因疗法是将细胞从患者体内分离,通过载体将基因导入目的细胞,使基因定位到患者细胞染色体中的 1 个或多个位点上,实现转入基因的持续表达,再将改良后的细胞输回患者体内以达到疾病治疗的目的,回体基因疗法对于目的细胞的遗传改造是在实验室中进行的,存在编辑效率较低的问题,但可以通过实验筛选出正确改造的细胞,再对其进行扩大培养,待改造的细胞达到一定数量后再输回患者体内进行疾病治疗。正确改造的细胞必须有足够大的数量、逃避免疫识别、能够长期存活或者将修饰的基因传给其后代以维持后代基因的正常表达,才能逆转病情^[5,9]。

2 基因疗法载体系统及基因编辑技术

基因疗法的载体系统是将外源基因递送到细胞的工具,它决定了基因运载的有效性。基因载体分为病毒载体和非病毒载体两类^[10]。

2.1 病毒载体

基因疗法中最常用的病毒载体主要包括逆转录病毒(retro virus, RV)和慢病毒(lentivirus, LV)、腺病毒(adeno virus, AdV)以及腺相关病毒(adeno associated virus, AAV)。

逆转录病毒载体是 20 世纪八九十年代初期开发的第一个被证明可以将基因传递到造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)中的载体^[11-12]。逆转录病毒可以编码逆转录酶,将病毒的 RNA 逆转录成 DNA,然后整合到宿主基因组中,属于整合型的病毒载体。根据基因组结构,它们由简单和复杂的逆转录病毒组成。简单的逆转录病毒的基因组包含 3 个基因分别为 gag(group-specific antigen)、pol(reverse transcriptase)和 env(envelope), 2 个基因的侧面称为长末端重复序列(long terminal repeat, LTR),逆转录病毒载体不能感染肌肉、脑、肺和肝组织等非分裂细胞,仅能感染分裂细胞,因此,它在基因疗法中有一定的局限性和风险性^[10]。如 γ -逆转录病毒载体可以整合到基因的 5'-非翻译区,易因插入突变引发癌症^[13-15],其多用于 T 细胞和

造血干细胞基因疗法中^[6]。

慢病毒也属于逆转录病毒家族,它是一种具有复杂基因组的逆转录病毒,通常在宿主体内引起迟发性疾病。它是人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)为基础发展起来的、用于体内基因传递的载体^[13]。可感染分裂细胞和非分裂细胞,对包括肝脏在内的各种组织细胞都可侵袭,也可将载体基因整合至宿主基因组中。与简单的逆转录病毒一样,HIV具有 gag、pol 和 env3 个基因,除此之外,它还带有 6 个辅助蛋白基因^[10]。慢病毒载体可以携带比 γ 逆转录病毒载体更大,更复杂的基因(最大约 8 kb,例如 β -球蛋白基因)^[6,16],因此,慢病毒载体的研究为血红蛋白病的治疗提供了关键的支撑^[14]。目前,慢病毒载体可在多代中实现有效的基因转移和稳定基因表达,是大多数 HSCs 基因疗法的首选工具^[6]。

腺病毒是一类无包膜的双链 DNA 病毒。它既可以感染分裂细胞也可以感染非分裂细胞,且易导致人类的呼吸道感染^[10]。其与逆转录病毒不同点在于腺病毒不会将基因片段整合到宿主基因组,它属于非整合型的病毒载体,因此,腺病毒不会因为基因整合而导致抑癌基因失活。但腺病毒容易引发机体产生较强烈的免疫反应,这是其在使用中存在一定限制的主要原因^[17]。腺病毒的表达仅持续很短的时间(感染后 5~10 d),如果需要在短时间内表达转基因,则腺病毒载体非常适合^[10]。

腺相关病毒是该领域相对较新的、简单的、无致病性的单链 DNA 病毒。AAV 载体衍生自细小病毒,细小病毒最初与腺病毒一起从人的呼吸道中分离出来。野生型 AAV 载体具有一个小的(4.8 kb)单链 DNA 基因组,需要另一种病毒(例如腺病毒或疱疹病毒)才能进行复制^[18]。AAV 由反向串联重复序列,复制和衣壳基因组成^[19]。病毒衣壳决定了组织向性,启动子对靶细胞或组织具有特异性^[20]。AAV 与 AdV 均属于非整合型的载体,递送入细胞的基因片段可以在染色体外稳定表达^[21]。重组腺相关病毒载体(rAAV)源于非致病的野生型腺相关病毒,它被视为最有前途的基因转移载体之一,

rAAV 包括 rAAV1、rAAV2、rAAV5、rAAV6、rAAV7、rAAV8、rAAV9 等多种血清型,其中 rAAV1 具有骨骼肌趋向性,rAAV6 具有心肌趋向性,rAAV8 具有肝趋向性,即针对不同的靶组织可以考虑选择不同血清型的 rAAV。AAV 具有免疫原性弱、转染效率高、可转染非分裂细胞、表达稳定且持续时间长、降低与基因整合有关的风险等优点,但其容量小、不能包装超过 5.0 kb 的 DNA^[6],导入基因以游离状态存在,细胞分裂过程中基因容易丢失^[8]。逆转录病毒,腺病毒载体的应用易引起机体产生严重的免疫学反应或癌症,相比之下,“非整合”的重组腺相关病毒载体在基因疗法中有更大的优势,并得到了更多的应用^[22]。

非病毒载体中最简单的是裸“DNA”,即将 DNA 直接注入人体,此方法基因传递效率偏低。除此之外还包括脂质体、分子偶联受体、聚合物(聚-L-赖氨酸、聚乙烯亚胺等)、复合载体以及纳米粒子载体等^[23]。与病毒载体相比,各种物理化学特性的非病毒载体可根据需求合成或定制,也可进行各种表面修饰以产生理想的靶向特性,还具有可大量制备,免疫反应低、可传递大量基因的优势。因此,脂质体和聚合物(例如聚乙烯亚胺和聚赖氨酸)作为潜在的基因疗法传递系统而受到广泛关注。基于非病毒载体的基因疗法,可以通过开发更有效的靶向载体来提高治疗效果^[24-25]。

2.2 基因编辑

基因编辑技术是以改变目的基因序列为目的,实现定点突变、插入或敲除基因的技术。新的基因组编辑技术不仅可以像载体系统一样进行细胞中的基因添加,同时还可以进行基因删除、校正和高度靶向的基因组修饰。基因组编辑可以在离体细胞上进行,也可以在机体内进行原位基因组编辑^[6]。常见的是人工核酸内切酶介导的基因组编辑技术,主要包括 4 种^[26-27]。

1) 大范围核酸酶技术(meganuclease):识别特定较大(12~40 bp)DNA 序列的序列特异性 DNA 切割酶或核酸内切酶,也称为归巢核酸内切酶。

2) 锌指核酸酶技术(zinc finger nuclease,

ZFN):用于识别和结合特定的DNA序列重复的锌指蛋白和通过二聚体化非特异地切割DNA的Fok I限制性核酸内切酶的核酸酶结构域组成。

3) 转录激活因子样效应物核酸酶技术(transcription activator-like effector nuclease, TALEN):特异性转录激活因子样效应物蛋白和植物病原体,以及源自Fok I限制性核酸内切酶的核酸酶结构域组成。

4) 成簇的规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)/CRISPR相关蛋白(CRISPR-associated proteins, Cas)系统:基因编辑功能和最广泛使用的CRISPR-Cas9是一种来源于酿脓链球菌的Cas9蛋白,由负责切割靶向链Ruv C和负责切割与非靶链HNH两个重要结构域组成^[23]。

早期的基因组编辑研究依赖于大范围核酸酶或特定锌指核酸酶的工程改造^[28-29],但大范围核酸酶技术在人类基因组上找到合适的位点较困难,识别特定DNA的锌指序列需要通过文库筛选来确定,需要丰富的经验且耗时长^[30-31],因此这两类核酸酶的应用推广受到了限制,但此方面研究为后续基因编辑技术的快速发展奠定了基础。2009年,可以结合植物宿主基因组并激活转录的转录激活因子样效应物TALE如何结合DNA的机制逐步被科学家成功解析^[32-33]。TALE容易进行改造^[32]的特点为TALE核酸酶的创建打开了大门。2012年,基因组编辑格局发生了变化,Gasiunas等发现sgRNA能有效介导Cas9实现靶向切割DNA片段^[34-35](图2),即CRISPR-Cas9技术。其可高效识别靶向位点,避免了精细复杂的蛋白质设计或组装的需要,与ZFNs和TALENs相比具有一定的优越性^[36-37]。基因组编辑技术被称为“精确的手术刀”,为实现基因校正或改变基因组提供了更多的可能。但与传统的基因转移方法相比,基因组编辑处于临床初期,存在许多临床应用的可行性和安全性障碍。而基因编辑技术逐步向更加精准的方向发展。2016年,单碱基编辑(base editor, BE)技术的出现扩大了点突变基因编辑的使用范围^[38]。

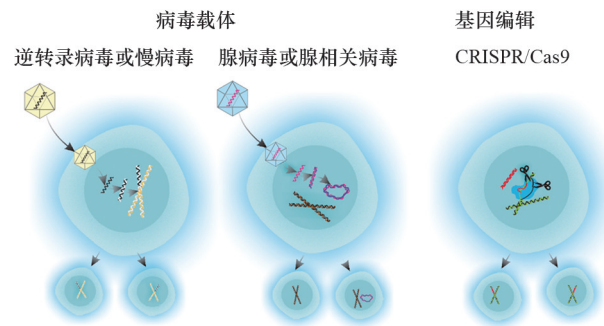


图2 基因疗法中病毒载体介导基因递送细胞的过程以及基因编辑示意

3 单基因遗传疾病基因疗法取得突破性进展

3.1 脊髓性肌萎缩症的基因疗法

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种常染色体隐性遗传疾病,其发病是由于运动神经元存活基因1(survival motor neuron 1, SMN1)不能编码运动神经元存活所必须的蛋白质,引起前角细胞变性,进而导致进行性肌无力或肌萎缩^[39]。发病率约为1/10000,携带频率为1/54^[40]。SMA根据发病年龄和严重程度分为5种主要类型(0-IV型)^[41]。SMA 0型新生儿出生时患有关节挛缩,呼吸窘迫和弥漫性低渗。SMA 1型为最常见的形式,60%患者是SMA 1型;病症在婴儿6个月前开始出现,主要表现为肌张力低下,呼吸困难、进食困难以及运动延迟等;最终可能会发展为进行性运动无力,关节挛缩和脊柱侧弯;此种类型的患者在没有干预的情况下,不能正常坐立,寿命一般不超过2周岁。SMA II型通常出现在幼儿18个月大之前;孩子能坐起,但不能行走,无法活到成年。SMA III型通常在幼儿18个月后开始出现相对较轻的症状;他们可以独立站立并可以走路,但会逐渐的失去站立及走路的能力,一般可以存活到成年;SMA IV型是SMA的最轻形式,症状从成年开始,病情发展缓慢;患者可以站立,可以行走,通常具有正常的寿命^[8]。

2010—2011年,首个非常成功的针对SMA动物模型的治疗方法是采用基因疗法代替SMN1基

因发挥作用^[42-43]。随后,反义寡核苷酸疗法中通过修改SMN2剪接以产生更多的全长SMN蛋白的治疗方法取得一定成功^[44]。2016年12月,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了Nusinersen(一种反义寡核苷酸(anti-sense oligonucleotide, ASO))用于治疗所有SMA类型,但ASO不能有效地穿过血脑屏障,仅能采用鞘内注射的方式进行治疗(表1)。其治疗机理是Nusinersen与SMN2 pre-mRNA的剪接沉默子区域结合,调节脊髓运动神经元中SMN2基因的选择性剪接,进而补偿SMN1的基因产物^[45-46]。25名SMA患者(此类患者仅有2~3份SMN2拷贝数,如果不及进行治疗,则可能发展为SMA I型或SMA II型)接受了Nusinersen治疗。25个月后,所有患者都能做到无支撑地坐着,且大多数患者可以行走。但

此疗法也存在一定的问题,少数接受Nusinersen治疗的个体显示尿蛋白轻度升高且血小板计数低,个别患者伴有脊柱穿刺后头痛和局部疼痛^[47-48],因此此疗法不适用于有严重脊柱侧弯的患者。同时,该疗法需要频繁给药(前2个月4剂,之后每4个月1剂),并未实现一次给药治愈疾病的目的^[49]。

2019年^[21],SMA的另一种基因疗法获FDA批准(表1),携带SMN1基因的AAV9(scAAV9.CB.SMN)被命名为Zolgensma(亦称作AVXS-101),它能有效穿过血脑屏障,临床前研究也证明了Zolgensma通过静脉注射到SMA小鼠或灵长类动物模型中的有效性和安全性^[42,50]。临床试验中,参试的15名幼儿存活到20个月时仍不需要依赖于呼吸机进行呼吸,且注入大剂量“药物”的12个幼儿中,有11个不需要人照看,9个可以翻身,11个可通过嘴

表1 单基因遗传疾病中取得突破性进展的基因疗法

疾病	载体/转基因	品牌名称/公司(机构)	FDA突破性疗法资格、EMA优先药物(PRIME)资格、FDA/EMA认证	靶向	给药途径	治疗策略
脊髓性肌萎缩	AAV9-SMN	Spinraza (nusinersen)/ Biogen 和 Ionis	2016 FDA 认证; 2017 EMA 认证	中枢神经系统	多次鞘内输注	体内疗法
脊髓性肌萎缩	AAV9-SMN1	Zolgensma/Novartis 旗下的 AveXis	2019 FDA 认证	运动神经元细胞	静脉输注	体内疗法
Leber 先天性黑蒙 2 型	AAV2-RPE65	Luxturna/Spark Therapeutics	2017 FDA 认证	视网膜	视网膜下注射	体内疗法
血友病 B	AAV8-Factor IX	-/Royal Free Hospital 和 St. Jude	2014 FDA 突破性疗法; 2017 EMA PRIME	肝脏	静脉输注	体内疗法
血友病 B	AAV-spark100 HFIX padua	SPK-9001/Pfizer 和 Spark Therapeutics	2016 FDA 突破性疗法; 2017 EMA PRIME	肝脏	静脉输注	体内疗法
血友病 B	AAV5-Factor IX	AMT-061/uniQure	2017 FDA 突破性疗法; 2017 EMA PRIME	肝脏	静脉输注	体内疗法
血友病 B	AAV2/6-Factor IX and ZFNs	SB-FIX-1501/Sangamo Therapeutics	2017 FDA 突破性疗法	肝脏	静脉输注	体内疗法
血友病 A	AAV5-Factor VIII	Valoctocogene roxaparvovec (BMN 270) /BioMarin Pharmaceutical	2017 EMA PRIME	肝脏	静脉输注	体内疗法
β -地中海贫血	LV- β -globin	Zynteglo (LentiGlobin™) / Bluebird	2019 EMA 认证	无	移植自体基因修饰的 CD34+ 细胞	回体疗法

巴喂食物且可以说话。随后,临床试验扩大到 100 多个幼儿,得到与初始临床试验中相似的结果。此基因疗法存在的不良反应主要是全身施用 AAV 载体引起的氨基转移酶水平升高,而相关研究已经证明通过糖皮质激素治疗可以缓解氨基转移酶水平。此种疗法对于肝脏损害的患者有更高的风险,患者治疗前应进行肝功能的评估,且应在给药后的 3 个月内监测患者的肝功能情况。Zolgensma 有望通过单次注射达到治愈脊髓性肌萎缩症。

3.2 Leber 先天性黑蒙 2 型的基因疗法

Leber 先天性黑蒙 (Leber's congenital amaurosis, LCA) 由基因突变 (19 个不同基因中的任何一个突变都可能导致 Leber 先天性黑蒙) 引起婴儿视网膜营养不良而发病^[51-52]。这是一种罕见的视觉破坏性疾病,患病率为 1/50000~1/100000,在婴儿早期会导致眼球震颤和视力严重下降,通常在出生后的第 3~4 个 10 年发生完全失明^[53-55]。其中,视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞中 RPE65 基因表达并编码 65 kD 蛋白质, RPE65 突变将导致 11-顺式视黄醛缺乏,使得视杆细胞不能产生光化学反应,临床上将此称为 LCA2 型^[56-59], LCA2 型约占所有 LCA 患者的 6%^[52]。

视网膜具有不易产生免疫反应,且低剂量的载体仅会对其产生轻微的负担的特点,因此,视网膜成为 LCA2 型基因疗法中载体介导的基因递送的靶标^[9]。重组 AAV2.hRPE65v2 是一种载有 RPE65 cDNA 的 AAV 载体,体外实验中, AAV2.hRPE65v2 可诱导靶细胞产生 RPE65 蛋白。动物实验中,注射 AAV2.hRPE65v2 可使 LCA2 型动物模型的视觉功能迅速发展^[60]。研究中记录了长期、持续 (>7.5 年) 的视网膜下注射 AAV2 的结果, LCA2 型动物模型的视觉功能恢复。临床试验中, 3 例 LCA2 型患者视网膜下给药后,患者的视网膜功能指标有适度的改善,因随访时间短,视力未完全恢复正常,但此研究为针对 LCA2 型患者基因疗法的研究提供了实践基础^[61]。一项在费城儿童医院进行的第 1 阶段试验显示^[61-62], 12 名参与者的视网膜和视觉功能都有安全稳定的改善,且在 3 年内都能够观察到视觉和视网膜功能的改善,后续观察仍在继续。此研

究的部分参与者参加了磁共振成像研究^[63],结果表明,干预后的视觉皮层激活增强,视觉通路的功能和结构得到改善。其他 LCA2 型多项基因疗法正在进行 I/II 期临床试验,试验结果表明,由 RPE65 基因突变引起遗传性失明的患者在视网膜下注射可表达视网膜色素上皮特异性蛋白的 AAV2 载体后,视觉功能得到改善^[64-65]。2012—2013 年, Luxturna (亦称为 voretigene neparvovec) 的第 3 阶段研究中, RPE65 介导的遗传性视网膜营养不良患者中连续双侧视网膜下给药, 20 名 4 岁以上的参与者中,有 13 名通过了最低亮度水平测试,症状得到改善,且未发生与产品相关的严重不良事件或有害免疫反应^[57]。2017 年,美国 FDA 批准 Luxturna 用于成人和儿童治疗 RPE65 双等位基因突变型遗传性视网膜变性病 (表 1), 这是 FDA 批准的首种可直接针对某个特定基因突变性疾病的基因疗法。其他类遗传性视力疾病,包括色盲、脉络膜失血、Leber 遗传性视神经病变、X 连锁性视神经病和 X 连锁性视网膜色素变性的基因疗法处于临床试验中^[6]。

3.3 血友病的基因疗法

血友病 (hemophilia) 是由凝血因子 VIII (F8) 或 IX (F9) 的缺乏引起的,分别导致血友病 A (hemophilia A, HA) 或血友病 B (hemophilia B, HB)^[66]。血友病 A 发生概率是 1/5000, 血友病 B 发生概率是 1/30000, 严重的患者的特征是 FVIII/FIX 活性 (FVIII:C/FIX:C) 低于正常水平的 1%, 频繁的自发性出血可能危及生命。严重的患者需在儿童期开始静脉滴注预防性凝血因子,以预防流血的发生并保持其关节功能。轻度血友病 (FVIII:C/FIX:C 水平在 5%~30%) 主要表现为血肿、伤口出血、鼻出血和拔牙后出血^[67-69]。据调查,在全球范围内,只有约 25% 血友病患者可以接受常规护理^[70]。

1997 年,血友病 B 开始运用靶向骨骼肌或肝脏的 AAV 载体进行基因疗法的研究^[71-72]。其中, AAV2-FIX 载体靶向骨骼肌研究中,出现短暂的低水平 FIX 表达 (<2%)^[73], 在治疗后的 3.7 年和 10 年, 2 名参与者的肌肉样本显示出 FIX-AAV 的持久表达,但血浆中缺乏持续的基因表达, FIX 蛋白含量始终达不到治疗剂量 (<1%), 无法有效控制患者的

出血症状。后续7例重度B型血友病患者通过肝动脉注射“药物”,其中1例出现瞬时FIX表达。在接受大剂量输入治疗的患者中^[74-75],第4周后,转氨酶水平达到最高值(与肝脏损伤相关),第12周后,FIX的表达降至基线水平,“药物”丧失疗效。2009年,经过大幅改造的靶向肝脏的scAAV2/8-LP1-hFIXco增加了患者体内FIX水平,并在4个月内达到稳定水平,治疗效果可稳定维持6年以上,患者仍在随访中。相关研究表明载体的剂量和载体介导的免疫反应关系密切,FIX的表达水平具有剂量依赖性,测试者体内转氨酶升高与肝脏损伤或炎症反应相关,而进一步研究发现类固醇—氢化泼尼松可减少炎症反应。研究结果成功证明,AAV作为载体的基因疗法能在人体中维持较长时间且相对稳定地表达FIX,实现患者由重型到轻型的转换。此治疗方案已于2016年7月获得美国FDA的突破性疗法认定^[22,76-77](表1)。除此以外,研究者还研究了FIX基因异位表达对血友病B的调节。以慢病毒作为载体,将改造后的HSCs递送到基因敲除的血友病B小鼠体内,结果小鼠体内持续表达FIX 1年以上;再将受试小鼠的HSCs进行第二次或第三次移植,FIX仍可在被移植的小鼠体内长期表达,小鼠的凝血功能得到显著改善^[78]。

血友病A的基因疗法因受到F8基因长度的限制而进展缓慢。F8基因的大小约7 kb,其去除了非功能性结构域的序列才允许整合到AAV载体中。2017年,9名患者使用AAV5-co-BDD-FVIII(AAV5-Factor VIII)载体进行“药物”剂量递增研究^[79]。7名男性患者注入高剂量携带正常基因的载体,20周时,有6名患者的VIII因子活性水平达到12%~200%,但随着时间的推移VIII因子活性水平呈现下降(随访3年),此疗法2017年获得EMA优先药物(PRIME)资格(表1)。2019年4月,SB-525的I/II期临床试验中,将AAV6-BDD-FVIII转移到8名血友病A患者体内,观察到FVIII出现剂量依赖性的升高,SB-525具有可预测性和持续治疗效果^[22]。目前,已有多项血友病A和血友病B的基因疗法进行I/II期临床试验以及开放式III期试验^[80-82]。

3.4 β -地中海贫血的基因疗法

β -地中海贫血(β -thalassemia)是由 β 降低或 β^0 的缺失导致由2个 α -珠蛋白链和两个 β -珠蛋白链($\alpha_2\beta_2$)组成的血红蛋白(hemoglobin, Hb)四聚体合成受影响,患者出现贫血状况^[83]。根据临床和血液状况 β -地中海贫血可分为3种:轻型地中海贫血(临床上无症状)、中型地中海贫血和重型地中海贫血。患有重型 β -地中海贫血的患者无法表达血红蛋白,从而生成无效的红细胞,出现严重贫血,患者需要经常进行输血和铁螯合疗法^[5]。 β -地中海贫血在地中海国家、中东、中亚、印度、中国南部、远东、非洲北部海岸及南美洲国家普遍存在^[84]。全球约有1.5%的人口(8000万~9000万人)是 β -地中海贫血携带者,每年约有6万名有症状的新生儿出生^[85]。

现阶段, β -地中海贫血采用回体基因疗法进行治疗。2000年,研究人员用性能高的携带 β -珠蛋白慢病毒载体TNS9感染自体干细胞,将正常的基因转移并整合到人类 β -珠蛋白基因及其位点控制区,改造细胞的小鼠 α 珠蛋白和2个人类 β 珠蛋白分子的四聚体占正常小鼠成熟红细胞中总血红蛋白的13%,而在 β -地中海贫血杂合子小鼠中,获得了更高的百分比(17%~24%)^[16]。研究表明基因疗法足以有效纠正 β -地中海贫血小鼠的地中海贫血综合征^[16,86]。2011年16名患者接受了地中海贫血的基因疗法,其中6名患者已不再需要输血。尽管珠蛋白慢病毒载体的有效性可能会因整合位点的限制出现随机基因断裂,引起安全性问题,但在珠蛋白慢病毒载体中加入具有增强阻断和染色质屏障功能的基因元件,可以显著提高整合载体的性能和安全性^[4,87]。随着基因编辑技术的发展,CRISPR-Cas9基因组编辑技术被广泛用于纠正有缺陷的内源性 β -珠蛋白基因或重新激活胎儿血红蛋白(fetal hemoglobin, HbF)的表达。最近的研究表明,可以编辑人类HSCs的基因以纠正缺陷的 β -珠蛋白基因或有效地重建样本中与HbF升高有关的特定遗传变异^[88]。2018年,采用慢病毒载体感染自体CD34+细胞对患者开展基因疗法,改造后的细胞输注到患者体内26个月后(所有参加试验患者注入

基因修饰细胞的时间的中位数), 12例严重的 β -地中海贫血患者减少或消除了长期输注红细胞的需要, 且无与药物相关的严重不良反应^[89]。此种疗法为 Zynteglo (亦称 LentiGlobin), 于 2019 年被 EMA 批准用于超过 12 岁的输血依赖型 β -地中海贫血患者^[9](表 1)。

4 结论

基因疗法的研究范围远远超出了传统药物, 已成为治疗单基因遗传疾病的重要新方法。基因疗法可以借助载体靶向组织递送正确的基因, 从而促进正常的基因持续调节表达。还可以将细胞转变为靶向基因传递的智能载体, 进而满足遗传类疾病或其他罕见病的医疗需求。但基因疗法仍然存在许多挑战, 包括增加基因转移载体的安全性, 如何使载体能够精确地靶向组织和细胞, 如何提高基因转移或编辑效率以达到有效治疗疾病所必需的水平, 如何降低基因组编辑的遗传毒性以及体内重复施用载体的免疫应答等问题。更重要的是, 基因组编辑的伦理学已成为医学、社会学、立法者和公众共同关心的问题, 需要达成社会共识。基因疗法作为有望根治单基因遗传病的疗法, 将随着从事基础转化、临床研究的深入逐步走向成熟, 而生物技术的快速发展和制药领域的壮大, 将加速基因疗法救治更多的单基因遗传病患者。

参考文献 (References)

- [1] Eckhardt C L, van Velzen A S, Peters M, et al. Factor VIII gene (F8) mutation and risk of inhibitor development in nonsevere hemophilia A[J]. *Blood*, 2013, 122(11): 1954-1962.
- [2] Lindvall K, von Mackensen S, Elmstahl S, et al. Increased burden on caregivers of having a child with haemophilia complicated by inhibitors[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61(4): 706-711.
- [3] Friedmann T, Robli R. Gene therapy for human genetic disease[J]. *Science*, 1972, 178(4061): 648-649.
- [4] Mansilla-Soto J, Riviere I, Boulad F, et al. Cell and gene therapy for the beta-Thalassemias: Advances and prospects[J]. *Human Gene Therapy*, 2016, 27(4): 295-304.
- [5] Naldini L. Gene therapy returns to centre stage[J]. *Nature*, 2015, 526(7573): 351-360.
- [6] Dunbar C E, High K A, Joung J K, et al. Gene therapy comes of age[J]. *Science*, 2018, 359(6372): 1-10.
- [7] Jenks S. Gene therapy death "everyone has to share in the guilt"[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2000, 92(2): 98-100.
- [8] Rao V K, Kapp D, Schroth M. Gene therapy for spinal muscular atrophy: An emerging treatment option for a devastating disease[J]. *Journal of Managed Care Specialty Pharmacy*, 2018, 24(12): 3-16.
- [9] Brody H. Gene therapy[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): 5.
- [10] Verma I M, Somia N. Gene therapy— Promises, problems and prospects[J]. *Nature*, 1997, 389(6648): 239-242.
- [11] Riviere I, Brose K, Mulligan R C. Effects of retroviral vector design on expression of human adenosine deaminase in murine bone marrow transplant recipients engrafted with genetically modified cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(15): 6733-6737.
- [12] Halene S, Wang L, Cooper R M, et al. Improved expression in hematopoietic and lymphoid cells in mice after transplantation of bone marrow transduced with a modified retroviral vector[J]. *Blood*, 1999, 94(10): 3349-3357.
- [13] Naldini L. Ex vivo gene transfer and correction for cell-based therapies[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2011, 12(5): 301-315.
- [14] Wu C, Dunbar C E. Stem cell gene therapy: The risks of insertional mutagenesis and approaches to minimize genotoxicity[J]. *Frontiers of Medicine*, 2011, 5(4): 356-371.
- [15] Montini E, Cesana D, Schmidt M, et al. The genotoxic potential of retroviral vectors is strongly modulated by vector design and integration site selection in a mouse model of HSC gene therapy[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119(4): 964-975.
- [16] May C, Rivella S, Callegari J, et al. Therapeutic haemoglobin synthesis in beta-thalassaemic mice expressing lentivirus-encoded human beta-globin[J]. *Nature*, 2000, 406(6791): 82-86.
- [17] Kosicki M, Tomberg K, Bradley A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(8): 765-771.

- [18] Taruno A, Kashio M, Sun H, et al. Adeno-associated virus-mediated gene transfer into taste cells in vivo[J]. *Chemical Senses*, 2017, 42(1): 69–78.
- [19] Arruda V R, Samelson-Jones B J. Obstacles and future of gene therapy for hemophilia[J]. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 2015, 3(9): 997–1010.
- [20] Srivastava A. In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors[J]. *Current Opinion in Virology*, 2016, 21: 75–80.
- [21] Mendell J R, Al-Zaidy S, Shell R, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 377(18): 1713–1722.
- [22] Batty P, Lillcrap D. Advances and challenges for hemophilia gene therapy[J]. *Human Molecular Genetics*, 2019, 28(R1): R95–R101.
- [23] Fonfara I, Le Rhun A, Chylinski K, et al. Phylogeny of Cas9 determines functional exchangeability of dual-RNA and Cas9 among orthologous type II CRISPR-Cas systems[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(4): 2577–2590.
- [24] Fisher R K, Mattern-Schain S I, Best M D, et al. Improving the efficacy of liposome-mediated vascular gene therapy via lipid surface modifications[J]. *Journal of Surgical Research*, 2017, 219: 136–144.
- [25] Dufes C, Uchegbu I F, Schatzlein A G. Dendrimers in gene delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57(15): 2177–2202.
- [26] Kim J S. Genome editing comes of age[J]. *Nature Protocols*, 2016, 11(9): 1573–1578.
- [27] Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, et al. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product[J]. *Journal of Bacteriology*, 1987, 169(12): 5429–5433.
- [28] Silva G, Poirot L, Galetto R, et al. Meganucleases and other tools for targeted genome engineering: Perspectives and challenges for gene therapy[J]. *Current Gene Therapy*, 2011, 11(1): 11–27.
- [29] Urnov F D, Rebar E J, Holmes M C, et al. Genome editing with engineered zinc finger nucleases[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11(9): 636–646.
- [30] Lam K N, van Bakel H, Cote A G, et al. Sequence specificity is obtained from the majority of modular C₂H₂ zinc-finger arrays[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(11): 4680–4690.
- [31] Ul Ain Q, Chung J Y, Kim Y H. Current and future delivery systems for engineered nucleases: ZFN, TALEN and RGEN[J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 205: 120–127.
- [32] Boch J, Scholze H, Schornack S, et al. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors[J]. *Science*, 2009, 326(5959): 1509–1512.
- [33] Moscou M J, Bogdanove A J. A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors[J]. *Science*, 2009, 326(5959): 1501.
- [34] Gasiunas G, Barrangou R, Horvath P, et al. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(39): 2579–2586.
- [35] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity[J]. *Science*, 2012, 337(6096): 816–821.
- [36] Cho S W, Kim S, Kim Y, et al. Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases[J]. *Genome Research*, 2014, 24(1): 132–141.
- [37] Kim D, Bae S, Park J, et al. Digenome-seq: Genome-wide profiling of CRISPR-Cas9 off-target effects in human cells[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(3): 237–243.
- [38] Komor A C, Kim Y B, Packer M S, et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage[J]. *Nature*, 2016, 533(7603): 420–424.
- [39] Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene[J]. *Cell*, 1995, 80(1): 155–165.
- [40] Sugarman E A, Nagan N, Zhu H, et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: Clinical laboratory analysis of >72,400 specimens[J]. *European Journal of Human Genetics*, 2012, 20(1): 27–32.
- [41] Wirth B, Karakaya M, Kye M J, et al. Twenty-five years of spinal muscular atrophy research: From phenotype to genotype to therapy, and what comes next[J]. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2020.
- [42] Foust K D, Wang X, McGovern V L, et al. Rescue of the spinal muscular atrophy phenotype in a mouse model by early postnatal delivery of SMN[J]. *Nature Biotech-*

- nology, 2010, 28(3): 271–274.
- [43] Dominguez E, Marais T, Chatauret N, et al. Intravenous scAAV9 delivery of a codon-optimized SMN1 sequence rescues SMA mice[J]. *Human Molecular Genetics*, 2011, 20(4): 681–693.
- [44] Porensky P N, Burghes A H. Antisense oligonucleotides for the treatment of spinal muscular atrophy[J]. *Human Molecular Genetics*, 2013, 24(5): 489–498.
- [45] Talbot K, Tizzano E F. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era[J]. *Gene Therapy*, 2017, 24(9): 529–533.
- [46] Singh N K, Singh N N, Androphy E J, et al. Splicing of a critical exon of human Survival Motor Neuron is regulated by a unique silencer element located in the last intron[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2006, 26(4): 1333–1346.
- [47] Chung B H, Wong V, Clipp P. Spinal muscular atrophy: Survival pattern and functional status[J]. *Pediatrics*, 2004, 114(5): 548–553.
- [48] Mercuri E, Darras B T, Chiriboga C A, et al. Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 378(7): 625–635.
- [49] Aartsma-Rus A. FDA Approval of nusinersen for spinal muscular atrophy makes 2016 the year of splice modulating oligonucleotides[J]. *Nucleic Acid Therapeutics*, 2017, 27(2): 67–69.
- [50] Meyer K, Ferraiuolo L, Schmelzer L, et al. Improving single injection CSF delivery of AAV9-mediated gene therapy for SMA: A dose-response study in mice and nonhuman primates[J]. *Molecular Therapy*, 2015, 23(3): 477–487.
- [51] Hanein S, Perrault I, Gerber S, et al. Leber congenital amaurosis: Comprehensive survey of the genetic heterogeneity, refinement of the clinical definition, and genotype-phenotype correlations as a strategy for molecular diagnosis[J]. *Human Mutation*, 2004, 23(4): 306–317.
- [52] Den Hollander A I, Roepman R, Koeneke R K, et al. Leber congenital amaurosis: Genes, proteins and disease mechanisms[J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2008, 27(4): 391–419.
- [53] Allikmets R. Leber congenital amaurosis: A genetic paradigm[J]. *Ophthalmic Genetics*, 2004, 25(2): 67–79.
- [54] Den Hollander A I. Omics in Ophthalmology: Advances in genomics and precision medicine for leber congenital amaurosis and age-related macular degeneration[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2016, 57(3): 1378–1387.
- [55] Astuti G D, Bertelsen M, Preising M N, et al. Comprehensive genotyping reveals RPE65 as the most frequently mutated gene in Leber congenital amaurosis in Denmark[J]. *European Journal of Human Genetics*, 2016, 24(7): 1071–1079.
- [56] Moore N A, Morral N, Ciulla T A, et al. Gene therapy for inherited retinal and optic nerve degenerations[J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2018, 18(1): 37–49.
- [57] Russell S, Bennett J, Wellman J A, 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 [J]. *Lancet*, 2017, 390(10097): 849–860.
- [58] Wu B X, Moiseyev G, Chen Y, et al. Identification of RDH10, an All-trans Retinol Dehydrogenase, in Retinal Muller Cells[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2004, 45(11): 3857–3862.
- [59] Bennett J, Wellman J, Marshall K A, et al. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by RPE65 mutations: A follow-on phase 1 trial[J]. *Lancet*, 2016, 388(10045): 661–672.
- [60] Bennicelli J, Wright J F, Komaromy A, et al. Reversal of blindness in animal models of leber congenital amaurosis using optimized AAV2-mediated gene transfer[J]. *Molecular Therapy*, 2008, 16(3): 458–465.
- [61] Maguire A M, Simonelli F, Pierce E A, et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2008, 358(21): 2240–2248.
- [62] Ashtari M, Cyckowski L L, Monroe J F, et al. The human visual cortex responds to gene therapy-mediated recovery of retinal function[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121(6): 2160–2168.
- [63] Ashtari M, Zhang H, Cook P A, et al. Plasticity of the human visual system after retinal gene therapy in patients with Leber's congenital amaurosis[J]. *Science Translational Medicine*, 2015, 7(296): 96–110.
- [64] Bainbridge J W, Smith A J, Barker S S, et al. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2008, 358(21): 2231–2239.

- [65] Maguire A M, High K A, Auricchio A, et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: A phase 1 dose-escalation trial[J]. *Lancet*, 2009, 374(9701): 1597-1605.
- [66] Mannucci P M, Tuddenham E G. The hemophilias from royal genes to gene therapy[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2001, 344(23): 1773-1779.
- [67] Brackman H H. Hemophilia home treatment in West Germany[J]. *Scand J Haematol Suppl*, 1977, 31: 11-15.
- [68] Jones P K, Ratnoff O D. The changing prognosis of classic hemophilia (factor VIII "deficiency")[J]. *Annals of Internal Medicine*, 1991, 114(8): 641-648.
- [69] Khaliavina I N, Gileva O S, Plenkina Iu A, et al. Guidelines for dental care in hemophilia patients[J]. *Stomatologiya (Mosk)*, 2012, 91(2): 9-11.
- [70] Skinner M W. WFH: Closing the global gap--achieving optimal care[J]. *Haemophilia*, 2012, 18(Suppl 4): 1-12.
- [71] Herzog R W, Hagstrom J N, Kung S H, et al. Stable gene transfer and expression of human blood coagulation factor IX after intramuscular injection of recombinant adeno-associated virus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(11): 5804-5809.
- [72] Mount J D, Herzog R W, Tillson D M, et al. Sustained phenotypic correction of hemophilia B dogs with a factor IX null mutation by liver-directed gene therapy[J]. *Blood*, 2002, 99(8): 2670-2676.
- [73] Manno C S, Chew A J, Hutchison S, et al. AAV-mediated factor IX gene transfer to skeletal muscle in patients with severe hemophilia B[J]. *Blood*, 2003, 101(8): 2963-2972.
- [74] Manno C S, Pierce G F, Arruda V R, et al. Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response[J]. *Nature Medicine*, 2006, 12(3): 342-347.
- [75] Buchlis G, Podsakoff G M, Radu A, et al. Factor IX expression in skeletal muscle of a severe hemophilia B patient 10 years after AAV-mediated gene transfer[J]. *Blood*, 2012, 119(13): 3038-3041.
- [76] High K A. Gene therapy for hemophilia: The clot thickens[J]. *Human Gene Therapy*, 2014, 25(11): 915-922.
- [77] Nathwani A C, Davidoff A M, Tuddenham G D. Advances in Gene Therapy for Hemophilia[J]. *Human Gene Therapy*, 2017, 28(11): 1004-1012.
- [78] Chang A H, Stephan M T, Sadelain M. Stem cell-derived erythroid cells mediate long-term systemic protein delivery[J]. *Nature Biotechnology*, 2006, 24(8): 1017-1021.
- [79] Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 377(26): 2519-2530.
- [80] Gollomp K L, Doshi B S, Arruda V R. Gene therapy for hemophilia: Progress to date and challenges moving forward[J]. *Transfusion and Apheresis Science*, 2019, 58(5): 602-612.
- [81] Mingozi F, High K A. Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy[J]. *Blood*, 2013, 122(1): 23-36.
- [82] Mimuro J, Mizukami H, Shima M, et al. The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals[J]. *Journal of Medical Virology*, 2014, 86(11): 1990-1997.
- [83] Roth C K, Puttbre A, Ottley C. Thalassemia Syndromes in Pregnancy[J]. *Nursing for Women's Health*, 2016, 20(4): 415-420.
- [84] Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 353(11): 1135-1146.
- [85] Vichinsky E P. Changing patterns of thalassemia worldwide[J]. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 2005, 1054: 18-24.
- [86] May C, Rivella S, Chadburn A, et al. Successful treatment of murine beta-thalassemia intermedia by transfer of the human beta-globin gene[J]. *Blood*, 2002, 99(6): 1902-1908.
- [87] Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, et al. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia[J]. *Nature*, 2010, 467(7313): 318-322.
- [88] Dever D P, Porteus M H. The changing landscape of gene editing in hematopoietic stem cells: A step towards Cas9 clinical translation[J]. *Current Opinion in Hematology*, 2017, 24(6): 481-488.
- [89] Thompson A A, Walters M C, Kwiatkowski J, et al. Gene Therapy in Patients with Transfusion-Dependent beta-Thalassemia[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 378(16): 1479-1493.

Gene therapy for monogenetic diseases

ZHOU Lijuan^{1,2}, WANG Jingchun^{*}, GAO Hongbin¹, ZHAO Dongping^{1,2}

1. China Research Institute for Science Popularization, Beijing 100081, China

2. Institutes of Science and Development, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Abstract Gene therapy is one of the world's breakthrough technologies, which has made breakthrough progress in the treatment of monogenic diseases. In this article the characteristics of different gene therapy strategies, vectors and gene editing techniques are described, with focuses on reviewing pathogenesis, clinical manifestations, development process of gene therapy and clinical trials of spinal muscular atrophy (SMA), Leber congenital amaurosis type 2 (LCA2), hemophilia, and β -thalassemia. At present, 9 gene therapies of the above 4 monogenic diseases have earned "breakthrough therapy" designation by the U.S. Food and Drug Administration (FDA), PRIME designation by the European Medicines Agency (EMA) or have been the gene therapies available on the market. The research of gene therapy faces many challenges but with the development of science and technology more patients will get treatment.

Keywords gene therapy; spinal muscular atrophy; Leber congenital amaurosis type 2; hemophilia; β -thalassemia ●



(责任编辑 傅雪)