

全球首个用于输血依赖的 β -地中海贫血的基因疗法 Zynteglo

曹 静,唐 喆,帅维维

(南京医科大学附属妇产医院,南京市妇幼保健院药学部,南京 210004)

[摘要] Zynteglo(betibeglogene autotemcel)是2022年8月17日被美国FDA批准的全球首个用于需要定期输血的成人和儿童 β -地中海贫血患者的基因疗法。Zynteglo是一种一次性的基因治疗产品,以单剂量给药。Zynteglo每个剂量都是使用患者自身来源的 CD_{34}^+ 骨髓造血干细胞创建的定制治疗,这些造血干细胞经过体外的基因改造后进行自体移植,在体内分化成能够产生功能性血红蛋白的红细胞,从而达到治疗 β -地中海贫血的目的。本文从该疗法的慢病毒载体和作用机制、非临床研究、临床有效性研究、临床安全性研究、适用人群和使用方法以及注意事项6个方面对该基因疗法进行全面介绍。

[关键词] Zynteglo;输血依赖; β -地中海贫血;基于细胞的基因疗法

[中图分类号] R973.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)20-2029-05

Zynteglo, the world's first gene therapy for transfusion-dependent β -thalassemia

CAO Jing, TANG Zhe, SHUAI Wei-wei

(Department of Pharmacy, Women's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital, Nanjing 210004, China)

[Abstract] Zynteglo (betibeglogene autotemcel) is the world's first gene therapy approved by the U. S. Food and Drug Administration on August 17, 2022 for adults and children with β -thalassemia who require regular blood transfusions. Zynteglo is a one-time gene therapy product administered as a single dose. Each dose of Zynteglo is a customized treatment created using the patient's own CD_{34}^+ bone marrow hematopoietic stem cells which are genetically modified *in vitro* and then autologously transplanted. The modified stem cells will differentiate into red blood cells which are capable of producing functional hemoglobin, therefore achieving the purpose of β -thalassemia treatment. This paper provides a comprehensive introduction to the gene therapy from six aspects: lentiviral vector and mechanism of action, non-clinical research, clinical efficacy research, clinical safety research, indications and methods of use, and precautions.

[Key words] Zynteglo; transfusion dependent; β -thalassemia; cell-based gene therapy

血红蛋白(hemoglobin, Hb)四聚体由2条 α -珠蛋白链或 α 样(ζ)-珠蛋白链和2条 β -珠蛋白链或 β 样(ϵ , γ , δ)-珠蛋白链组成,分别由16号和11号染色体上的多基因簇编码。由于编码 β -珠蛋白肽链的基因发生突变或缺失,导致珠蛋白肽链合成减

少或完全缺失,从而引起的遗传性慢性溶血性贫血被称为 β -地中海贫血^[1]。根据 β -珠蛋白链的缺失程度可分为轻型(通常为杂合遗传,如 $\beta/\beta^{\text{silent}}$)、中间型(可由纯合子或复合杂合子遗传,如 β^+/β^+ , $\beta^+/\beta^{\text{silent}}$)和重型(可由纯合子或复合杂合子遗传,如 β^0/β^0 , β^+/β^0)。其中,部分中间型和重型的患者会出现较为严重的贫血症状,需要频繁或终身输血,被称为输血依赖的 β -地中海贫血(transfusion dependent β -thalassemia, TDT)^[2]。过量未配对的

[作者简介] 曹静,女,硕士,主要从事临床药学工作。联系电话:(025)52226382, E-mail: njfyj@163.com。

[通讯作者] 帅维维,女,硕士,主要从事临床药学工作。联系电话:(025)52226382, E-mail: wweishuai@126.com。

α -珠蛋白阻碍红细胞的发育和生存,由此导致的无效红细胞生成以及长期的输血使得 TDT 患者通常伴随着铁过载,在治疗过程中需定期进行铁螯合或静脉切开放血治疗,以维持机体铁平衡,因此 TDT 严重影响患者的生存质量。

目前治疗 TDT 的主流方法是控制症状,如通过输血改善贫血、通过调节生长和分化因子 (growth and differentiation factor, GDF) 的配体和受体来改善无效红细胞生成 (luspatercept) 或通过铁螯合剂来清除体内过多的铁 (如去铁胺、去铁酮、地拉罗司)^[1]。异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 是一种潜在的 β -地中海贫血治愈性方法,在 14 岁以下有合适供体的患者中效果最好^[3-4]。然而,由于缺乏合适的组织相容的供体以及与移植相关的死亡、移植失败或移植抗宿主病的风险,使得 allo-HSCT 的临床使用受到极大限制。由 Bluebird bio 生物公司开发的基于自体造血干细胞的基因疗法 (Zynteglo, betibeglogene autotemcel) 则很好地解决了以上问题,该疗法于 2022 年 8 月 17 日被美国 FDA 批准用于需要定期输血的成人和儿童 β -地中海贫血患者的治疗。此前,该疗法已于 2019 年 5 月 29 日获得欧洲 EMA 批准用于 12 岁及以上的非 β^0/β^0 型、适合进行造血干细胞移植但没有与人类白细胞抗原 (HLA) 匹配的相关供体输血依赖的 β -地中海贫血患者。本文将从该疗法的慢病毒载体和作用机制、非临床研究、临床有效性和安全性研究、适用人群和使用方法以及注意事项 6 个方面对该基因疗法进行全面介绍。

1 慢病毒载体和作用机制

在法国开展的一项 I/II 期临床研究中,科研人员使用 LentiGlobin HPV569 (HPV569) 慢病毒载体将人 T87Q 突变的 β -珠蛋白基因 (human β^{A-T87Q} -globin gene) 转导 3 例重型 β -地中海贫血患者自体 CD₃₄⁺造血干细胞后进行自体移植,其中有 1 例在接受治疗 12 个月后不再依赖输血,并将该状态至少保持了 5 年^[5-6]。该研究初步验证了使用慢病毒转导进行自体干细胞移植的可行性。Bluebird bio 生物公司的科研人员经过多年的研究发现,HPV569 慢病毒载体在治疗重型 β -地中海贫血患者的临床研究中表现出相对较低的病毒滴度和中度的病毒转导效率。因此,他们通过对 HPV569 慢病毒载体进行修饰(将 5' 端 HIV LTR 区的 U3 启动子更换为 CMV

启动子,同时去除 3' 端 LTR 区中的 2 个 250 bp 的 cHS4 元件),产生了第 2 代珠蛋白慢病毒载体 LentiGlobin BB305 (BB305)。体外研究显示,以上改造导致 BB305 载体的滴度比 HPV569 增加 3~4 倍,转导效率比 HPV569 增加 2~3 倍^[7]。且基于 BB305 载体的基因治疗在 β -地中海贫血的小鼠模型中显示出了持续的治疗效果以及长期的安全性。因此,Zynteglo 在后续的临床研究以及最终获批的疗法中均采用了基于 BB305 慢病毒载体的转导方法。

β -地中海贫血的发病机制非常明确,即因编码 β -珠蛋白肽链的基因发生突变或缺失,导致珠蛋白肽链合成减少或完全缺失。因此,该基因疗法的作用机制就是利用慢病毒载体将修饰过的 β -珠蛋白肽链基因的功能拷贝重新导入患者自身的 CD₃₄⁺造血干细胞中,再自体移植入体内,让这些造血干细胞重新分化成能够表达有生物活性的 β^{A-T87Q} -珠蛋白链的红细胞,该珠蛋白链与 α -珠蛋白结合产生功能性的成人血红蛋白 (HbA^{T87Q})^[7]。而转导 T87Q 突变的 β -珠蛋白基因的目的则是在不影响 β -珠蛋白链功能的前提下干扰镰状细胞病患者的镰状血红蛋白的聚合且在治疗后实现载体来源的珠蛋白表达的精确定量^[8-9]。

2 非临床研究

研究人员使用了改造后的 BB305 载体进行了体外插入遗传毒性试验,结果显示 BB305 载体的转导效率很高,平均每细胞载体拷贝数 (vector copy number, VCN) 为 7.4。已知体内外有诱变潜能的阳性对照 RSF91 伽马逆转录病毒载体能够在 VCN 降低 3 倍的情况下使细胞生长永生化,与之相比, BB305 对转导的小鼠造血干细胞显示出显著降低的生长优势风险,被认为显著降低了遗传毒性。此外,高病毒滴度的 BB305 慢病毒载体转导未发现明显的细胞毒性。用 BB305 载体转导 β -地中海贫血小鼠 (Hbbth1/Th1) 的 LIN 骨髓细胞后进行自体移植,结果显示在移植后 3 个月所有小鼠的贫血均得到了纠正,小鼠的血红蛋白浓度、红细胞压积水平、红细胞计数和网织红细胞百分比与对照组相比有显著改善,而白细胞计数与对照组相比则无明显差异。安全性评估未发现与基因治疗明显相关的变化。对基因组的插入位点分析结果显示,在转导组的小鼠体内未发现特定的克隆,且每个克隆均不超过所有检测序列的 10%。为了全面评估插入突变对克隆性失衡和/或白血病的潜在影响,研究人员进行了二次

骨髓移植(一种检测致癌事件的替代实验)。结果显示,对照组与治疗组二次移植小鼠体内均检测到肿瘤细胞,两组的肿瘤发生率无统计学差异。免疫组织化学和定量 PCR 显示这些肿瘤细胞不是来源于转导的供体细胞^[7]。以上全面的有效性和安全性数据支持该基因疗法在 β -地中海贫血患者中开展临床试验。

3 临床有效性研究

在持续 24 个月的开放标签单臂 III 期临床研究(NCT02906206, HGB-207)中评估了 Zynteglo 在 23 例需要定期输血的非 β^0/β^0 型地中海贫血患者中的有效性,主要终点为输血独立性(transfusion independence, TI)。TI 定义为在研究期间,患者在 12 个月内不输注红细胞,且加权平均 Hb $\geq 9 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ 。23 例患者的中位随访期为 29.5 个月(13.0 ~ 48.2 个月),所有患者在末次随访时均存活。在 22 例可评估 TI 的患者中,20 例达到 TI(91%),其中 15 例年龄在 12 ~ 50 岁患者的 TI 率为 93%,7 例 12 岁以下患者的 TI 率为 86%。研究期间 TI 的中位持续时间为 20.4 个月(15.7 ~ 21.6 个月),TI 期间患者的平均 Hb 为 $11.7 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ($9.5 \sim 12.8 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$)。2 例没有达到 TI 的可评估患者,从 6 个月到最后一次随访的输血量分别减少了 67.4% 和 22.7%。研究期间所有患者体内均可检测到载体,每二倍体基因组中外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中载体拷贝数的中位数随时间的推移而逐渐稳定,在达到 TI 的患者中,总血红蛋白和 HbAT87Q 水平均在治疗后 6 个月达到平台期且保持稳定至少 36 个月。在 20 例达到 TI 的患者中,11 例患者在治疗后重新开始铁螯合治疗,中位时间为 7.2 个月(1.2 ~ 15.2 个月);7 例患者接受了静脉放血以降低血清铁水平;3 例患者在治疗后从未进行铁螯合或静脉切开开放血治疗^[10]。

在另一项持续 24 个月的开放标签单臂 III 期临床研究(NCT03207009, HGB-212)中评估了 Zynteglo 在 18 例需要定期输血的 β^0/β^0 或非 β^0/β^0 (IVS-I110/IVS-I-110 或 IVS-I-110/ β^0) 基因型的 β -地中海贫血患者的疗效。在第 24 个月,有 10 例患者进入了长期随访研究(NCT02633943, LTF-303)。18 例患者的中位随访期为 24.6 个月(4.1 ~ 35.5 个月),所有患者在末次随访时均存活。在 14 例可评估 TI 的患者中,12 例达到了 TI(86%),TI 的维持时间为 12.5 ~ 32.8 个月,TI 期间患者的平均 Hb 为

$10.2 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ($9.3 \sim 13.7 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$)。2 例没有达到 TI 的可评估患者,从 6 个月到最后一次随访的输血量分别减少 92% 和 3%,输血频率减少 87% 和 21%。在 12 例达到 TI 的患者中有 7 例在上次随访时未接受铁螯合治疗,其中有 3 例患者在治疗后没有进行铁螯合治疗,4 例患者在重新接受铁螯合治疗后又停止了铁螯合[从停止到随访的中位时间为 7.2 个月(6.0 ~ 21.4 个月)];1 例患者接受了静脉放血以降低血清铁水平(以上信息来源于美国 FDA 网站发布的 Zynteglo 的完整处方信息,网址:<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/zynteglo>)。

在参与并完成 I/II 期或 III 期临床研究的 2 年随访后,接受 Zynteglo 治疗的患者并邀请参加为期 13 年的长期随访研究(LTF-303)。截至 2021 年 3 月 9 日,已有 51 例患者进入 LTF-303 研究(22 例在 I/II 期临床研究中接受治疗,29 例在 III 期临床研究中接受治疗),中位随访时间为 44.2 个月(22.9 ~ 86.5 个月)。在 51 例患者中,有 40 例患者达到了 TI(78%),且所有达到 TI 的患者在最后一次随访期间仍然没有输血。I/II 期临床研究患者的 TI 持续中位时间为 57.1 个月(15.8 ~ 84.1 个月),III 期临床研究患者的 TI 持续中位时间为 26.3 个月(13.1 ~ 39.4 个月)。TI 患者的加权平均 Hb 达到或接近正常水平,其中 I/II 期临床研究患者的加权平均 Hb 为 $10.3 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ($9.1 \sim 13.2 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$)、III 期临床研究患者的加权平均 Hb 为 $11.8 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ($9.4 \sim 13.7 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$)^[11]。

4 临床安全性研究

在 2 项 III 期临床研究(HGB-207, HGB-212)和 1 项长期随访研究(LTF-303)中,共收集了 41 例患者的安全性数据。所有患者的中位年龄为 13 岁(4 ~ 34 岁);49% 为女性;49% 为亚裔,44% 为白人;中位随访时间为 27.2 个月(4.1 ~ 48.2 个月)。Zynteglo 治疗后观察到的不良反应与以白消安为基础的骨髓清除术以及与药物产品中使用的冷冻保护剂[二甲亚砜(DMSO)]的不良反应是一致的。截至最后一次随访,37% 的患者发生了严重不良反应(3 级或以上),最常见的严重不良反应(>3%)为发热、血小板减少症、肝静脉闭塞性疾病、发热性中性粒细胞减少症、中性粒细胞减少症和口腔炎。最常见的不良反应($\geq 20\%$)为黏膜炎、发热性中性粒细胞减少症、呕吐、发热、脱发、鼻出血、腹痛、肌肉骨骼疼痛、咳嗽、头痛、腹泻、皮疹、便秘、恶心、食欲下

降、色素沉着症和瘙痒(以上信息来源于美国 FDA 网站发布的 Zynteglo 的完整处方信息)。在这些病例中没有死亡病例,没有发现移植失败或移植物抗宿主病,也没有检测到复制能力强的慢病毒、克隆优势和插入性致癌^[12]。

5 适用人群和使用方法

Zynteglo 适用于需要定期输血的成人和儿童 β -地中海贫血患者的治疗。该产品仅供自体使用且为一次性单剂量静脉注射使用,最小推荐剂量为 $5.0 \times 10^6 \text{ CD}_{34}^+$ 细胞 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 。

由于是自体移植的基因治疗产品,Zynteglo 的整个治疗过程较为复杂,大致可分为移植前准备,造血干细胞动员和分离,清髓性调节,产品的接收、存储和制备以及自体移植 5 个部分。在开始动员、分离和清髓前确认患者适合进行造血干细胞移植,且在动员前至少 30 d(清髓前 30 d)维持 $\text{Hb} \geq 11 \text{ g} \cdot \text{dL}^{-1}$ 。使用粒细胞集落刺激因子和普乐沙福用于造血干细胞动员,随后进行 CD_{34}^+ 细胞采集用于生产。采集目标为 $\geq 12.0 \times 10^6 \text{ CD}_{34}^+$ 细胞 $\cdot \text{kg}^{-1}$,若不能达到 $5.0 \times 10^6 \text{ CD}_{34}^+$ 细胞 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 的最低剂量,则需要进行额外的动员以获得更多的用于生产的细胞。同时需要采集 $1.5 \times 10^6 \text{ CD}_{34}^+$ 细胞 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 作为备份,在清髓前冷冻保存,以在出现治疗器造血干细胞受损、治疗产品受损、初次植入失败等情况后进行抢救治疗。在确认产品到位和备用细胞收集完毕后,使用白消安进行完全的清髓调理,清髓完成后至少洗脱 48 h 后开始输注 Zynteglo。完成生产的细胞产品被保存在专用输液袋中,该输液袋被保存在金属盒中,并用液氮(气相)进行储存和转运。在确认好输液时间后,从液氮(气相)中取出输液袋,在核对好标签信息、患者信息以及有效期后,将输液袋放在 37°C 的水浴或干浴中解冻。产品必须在解冻后 4 h 内使用,经静脉输注,每袋输注时间不超过 30 min(以上信息来源于美国 FDA 网站发布的 Zynteglo 的完整处方信息)。

6 注意事项

该治疗产品仅供自体使用,产品标签信息务必与患者匹配。患者在治疗以后的任何时间都不应进行血液、器官、组织或细胞的捐献。且由于该治疗产品含有基因修饰的人类血细胞,细胞中含有复制能力不足、自我失活的慢病毒载体,因此在处理治疗产品时需要遵循相关生物安全指南,避免传染病的潜在传播。

该产品可观察到血小板延迟植入,因此应定期监测血小板数量以及注意出血风险。对于治疗后出现的中性粒细胞移植失败的风险,一旦发现应尽快使用备用的 CD_{34}^+ 细胞进行抢救性治疗。尽管在现有的随访数据中未观察到插入性肿瘤的发生,但是该治疗产品从理论上依然存在这种风险,因此治疗后应终身监测插入性肿瘤的发生(尤其是血液系统恶性肿瘤)。患者在 CD_{34}^+ 细胞动员和采集前应确认艾滋病病毒检测呈阴性。

目前还没有孕妇、哺乳期妇女使用 Zynteglo 的数据,因此该产品不应用于孕妇或哺乳期妇女。由于还没有该产品对于生育能力影响的数据,因此有生育能力的成人在治疗后 6 个月内应使用有效的避孕方法,如有必要,建议患者在治疗前选择冷冻精子或卵子。同时需要考虑清髓性调理的影响。该产品的安全性和有效性已在儿童患者中得到证实,但对于 4 岁以下儿童的安全性和有效性尚未得到证实。截至目前还没有该产品在老年患者(>65 岁)、肾功能损害或肝功能损害患者中的研究数据,对于这些患者的治疗,需要充分评估基础疾病对造血干细胞移植的影响(以上信息来源于美国 FDA 网站发布的 Zynteglo 的完整处方信息)。

7 疗法价格

由于是个体定制疗法,该疗法也极其昂贵。据公开数据(EHA Data Review & ZYNTGLO Approval Webcast)表明,该疗法在欧洲的定价为首年的治疗费用 31.5 万欧元,若治疗有效则第 2~5 年每年支付 31.5 万欧元,5 年的治疗费用合计 157.5 万欧元。在美国,Bluebird bio 生物公司宣布该疗法的总治疗费用初步定为 280 万美元,但是如果 Zynteglo 在给药后 2 年内停止发挥作用,则患者可以向健康保险公司报销高达 80% 的费用。希望该疗法的生产技术可以得到进一步改进以降低成本,从而惠及更多的患者。

8 结语

Zynteglo 获得美国 FDA 批准用于需要定期输血的 β -地中海贫血成人和儿童患者的治疗是该疾病治疗史的重要进展,该疗法可能为需要持续输血的且没有合适异基因移植供体的患者提供了一种治愈性的方案。已有的临床研究数据显示出了极高的响应率,且未发现与该疗法相关的严重不良反应。尽管在现有的随访中并未发现恶性肿瘤的发生,但该治疗方案依然存在潜在的致癌风险(尤其是恶性血

液肿瘤)。因此,Bluebird bio 生物公司正在为使用 Zynteglo 的患者提供长期的安全性和有效性研究(LTF-303),这为我们更好地了解该疗法提供了非常好的数据来源。目前该基因疗法还未在国内申报,我国存在着数量巨大的 β -地中海贫血患者人群,期望该基因疗法能够尽快进入国内,或者有更多类似的治愈性基因疗法的出现,为众多重度输血依赖型 β -地中海贫血患者带来福音。

[参 考 文 献]

- [1] TAHER AT, MUSALLAM KM, CAPPELLINI MD. β -thalassemias[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(8): 727-743.
- [2] TAHER AT, WEATHERALL DJ, CAPPELLINI MD. Thalassaemia[J]. *Lancet*, 2018, 391(10116): 155-167.
- [3] BARONCIANI D, ANGELUCCI E, POTSCHGER U, et al. Hemopoietic stem cell transplantation in thalassemia: a report from the European Society for Blood and Bone Marrow Transplantation Hemoglobinopathy Registry, 2000 - 2010 [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51(4): 536-541.
- [4] LI CF, MATHEWS V, GEORGE B, et al. Related and unrelated donor transplantation for β thalassemia major: results of an international survey[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(17): 2562-2570.
- [5] PAYEN E, LEBOULCH P. Advances in stem cell transplantation and gene therapy in the β -hemoglobinopathies [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2012, 2012: 276-283.
- [6] CAVAZZANA-CALVO M, PAYEN E, NEGRE O, et al. Transfusion independence and HMG2 activation after gene therapy of human β -thalassaemia[J]. *Nature*, 2010, 467(7313): 318-322.
- [7] NEGRE O, BARTHOLOMAE C, BEUZARD Y, et al. Preclinical evaluation of efficacy and safety of an improved lentiviral vector for the treatment of β -thalassaemia and sickle cell disease[J]. *Curr Gene Ther*, 2015, 15(1): 64-81.
- [8] DEMIRCI S, GUDMUNSDOTTIR B, LI Q, et al. β T87Q-globin gene therapy reduces sickle hemoglobin production, allowing for Ex vivo anti-sickling activity in human erythroid cells [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 17: 912-921.
- [9] THOMPSON AA, WALTERS MC, KWIATKOWSKI J, et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent β -thalassaemia[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(16): 1479-1493.
- [10] LOCATELLI F, THOMPSON AA, KWIATKOWSKI JL, et al. Betibeglogene autotemcel gene therapy for non- β 0/ β 0 genotype β -thalassaemia[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(5): 415-427.
- [11] YANNAKI E, LOCATELLI F, KWIATKOWSKI JL, et al. EHA2021 Virtual Congress Abstract Book [C]. European Hematology Association, 2021.
- [12] LOCATELLI F, KWIATKOWSKI JL, WALTERS MC, et al. EHA2021 Virtual Congress Abstract Book [C]. European Hematology Association, 2021.

编辑:毕晓帆/接受日期:2023-01-18