

· 综述 ·

罕见病的基因治疗研究进展*

李玉欢¹ 李 伟^{2,3,4,*}

1. 吉林大学第一医院 (吉林 长春 130021)

2. 中国科学院动物研究所 (北京 100101)

3. 北京干细胞与再生医学研究院 (北京 100101)

4. 中国科学院大学 (北京 100049)

【摘要】罕见病是发病率很低的一大类少见疾病，其中很多疾病为慢性、严重的遗传病，常常危及生命，多数为基因缺陷导致，缺乏有效的治疗方法。基因治疗是一种新型的治疗方法，可利用载体将遗传物质引入靶细胞，通过纠正或补充缺陷基因来治疗或预防罕见病。本文将概述基因治疗的策略，并详细阐述应用最广泛的腺相关病毒载体在眼病、血液病、神经系统疾病、肌肉疾病治疗中的应用，总结展望我国基因治疗行业的发展前景。

【关键词】罕见病；遗传病；基因治疗；腺相关病毒

【中图分类号】R394.1

【文献标识码】A

【基金项目】国家重点研发计划项目(编号：2019YFA0110800)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.03.046

Advances in Gene Therapy for Rare Diseases

LI Yu-huan¹, LI Wei^{2,3,4,*}

1. First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China

3. Beijing Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine, Beijing 100101, China

4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: A class of illnesses with a very low incidence is known as rare diseases. Many rare diseases are serious, chronic conditions that frequently pose a threat to life. Most of the rare diseases are caused by genetic disorders and a lack of effective treatments. Gene therapy is a novel therapeutic approach that can be used to correct or replace genetic defects in target cells to treat or prevent rare diseases. In this article, we outlined gene therapy strategies and provided a detailed description of the most popular adeno-associated virus used to treat diseases affecting the eyes, blood, nervous system, and muscles. Finally, we reviewed and predicted the future development possibilities for China's gene therapy market.

Keywords: Rare Diseases; Genetic Disorders; Gene Therapy; Adeno-Associated Virus

1 罕见病

罕见病，即发病率很低的一大类少见疾病，其中很多疾病为慢性、严重的疾病，常常危及生命。各国对罕见病的定义不同^[1]。根据《中国罕见病定义研究报告2021》，我国罕见病的定义为新生儿发病率小于万分之一、患病率小于万分之一、患病人数小于14万的疾病。2018年由国家卫健委、科技部、工业和信息化部、国家药品监督管理局、国家中医药管理局五部委联合公布了《第一批罕见病目录》，共收录了121种罕见病，这是国内首次制订的罕见病清单。

罕见病种类繁多，已知约有7000多种，虽然单种疾病罕见，患病总人数庞大，全球罕见病患者约3.5亿人，每年新出生的缺陷儿童数量高达80~120万人。80%的罕见病为基因缺陷导致，具有遗传性，50%在儿童期发病，30%的患儿在5岁前死亡。在目前已经明确致病基因的单基因遗传病中，多数疾病缺乏有效的治疗方法，由此产生的医疗费用每年高达数百亿元，给家庭和社会带来极大负担，新型治疗方法的开发迫在眉睫。

2 基因治疗

基因治疗是指利用载体将遗传物质引入靶细胞，通过纠正或补充缺陷基因来治疗或预防疾病，于1972年被正式提出为一种治疗遗传病的策略，引入了“基因可以成为药物”的概念^[2]。

基因治疗可通过离体和/或在体策略来实现(图1)。离体(ex vivo)基因治疗使用从患者身上获取的靶细胞，经过基因改造后注入患者体内。而在体(in vivo)基因治疗则类似于一般的治疗药物，通过病毒载体和/或非病毒载体将遗传物质直接送入患者的靶器官

或组织，以达到治疗效果。本文主要讨论在体基因治疗技术。

罕见病的在体基因治疗策略大致可分为两类：针对由于特定基因缺陷引起的疾病，可通过递送缺失功能基因的正常版本来纠正，简称“基因回补”；针对由于错误折叠的毒性蛋白引起的疾病，可以通过递送基因编辑工具对突变基因进行敲除或纠正，简称“基因编辑”，见图2。

无论是基因回补还是基因编辑，均需要载体将这些物质递送至靶器官或靶细胞。目前的递送载体主要包括逆转录病毒、慢病毒、腺相关病毒等病毒载体，以及脂质纳米颗粒等非病毒载体。本文将对目前应用最广泛的腺相关病毒的特点及临床应用进行重点讨论。

3. 腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)

AAV是目前在体基因治疗的主流病毒载体。这是一种单链DNA细小病毒，发现于19世纪60年代^[3]。用于在体基因治疗的AAV载体由野生型AAV改造而成。

3.1 AAV载体的主要特征 无致病性：AAV没有致病性，因此不会引起大规模的不良免疫反应或重复感染；非整合性：AAV递送的遗传物质会游离于染色体外，而不整合到宿主基因组中，防止了意外插入突变带来的致癌风险；低免疫原性：与现有的其他病毒载体相比，重组AAV被认为是免疫原性最低的，与载体相关的毒性更小^[4]。长效性：AAV载体的基因组通过长末端重复序列重组进行循环，可形成稳定持久的游离基因，可在终末分化的非分裂细胞群中保留10年以上^[5-8]。

3.2 AAV载体的器官嗜性 目前科学家们至少已分离出来13种天

【第一作者】李玉欢，女，讲师，主要研究方向：基因治疗。Email: liyuhuan@jlu.edu.cn

【通讯作者】李 伟，男，研究员，主要研究方向：基因编辑与基因治疗。E-mail: liwei@ioz.ac.cn

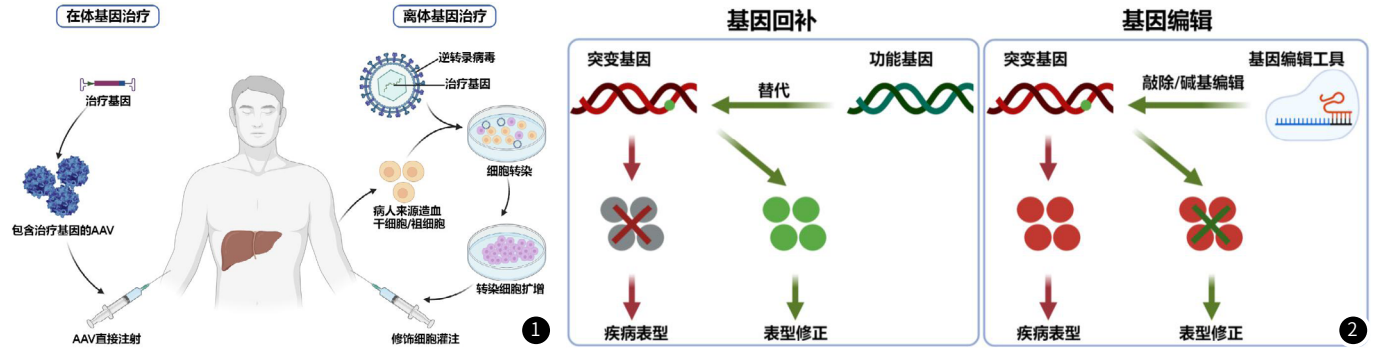


图1 在体基因治疗和离体基因治疗。图2 在体基因治疗的两种策略

然AAV血清型和超过100种AAV变体，并作为基因递送载体进行研究^[9]，不同的血清型代表不同的衣壳蛋白氨基酸序列，这些差异导致了不同器官、组织和细胞类型的嗜性^[10]。针对眼睛、肝脏、神经系统均有高侵染效率的AAV血清型可选择，见表1。

3.3 AAV基因治疗面临的挑战 尽管AAV基因治疗在临床试验中显现出了希望，但也面临着多重挑战，包括：在人体中的转导效率低于动物模型，如在所有针对B型血友病的基因治疗中，AAV在患者体内介导的凝血因子IX表达均低于临床前动物模型^[7, 29]。

对AAV衣壳或转基因的免疫反应，这是AAV基因治疗的最大挑战，也是降低疗效的主要因素。如接受AAV8-凝血因子IX治疗的患者，其凝血因子IX水平在达到峰值后下降，但在服用类固醇后升高，这表明AAV衣壳特异性细胞毒性T淋巴细胞反应会清除AAV转导的肝细胞，从而降低转基因表达，导致治疗失败^[6-7]。

病毒生产和纯化方法效率低下，生产足够的AAV载体用于临床试验是一项大挑战，目前的生产纯化体系存在生产工艺放大难、纯化难、稳定性差等一系列的问题与挑战。

缺乏可靠的系统来评估AAV转导在人类临床试验中的有效性。虽然动物模型已被用于评估AAV疗法的治疗效果、毒性和免疫反应，但小鼠模型的结果并不能推断大型动物、人类中效果^[7, 29]。

其他相关组织和细胞类型缺乏有效的载体血清型，虽然AAV

的血清型涵盖了许多不同的组织趋向性变异，但有时还不足以成功开发临床批准的治疗方法。

较小的包装基因组的能力(仅能包装4.7kb)，对于“基因回补”的策略，若需要回补的基因超过了AAV的装载能力，则会限制其应用，目前主要通过截断蛋白或双AAV系统来解决，对于利用AAV递送较大的基因编辑工具也是如此。

高剂量和系统给药的安全性问题，在非人灵长类的临床前研究中，超生理转基因的表达会引发本体感觉缺陷和共济失调，这可能归因于背根神经节的高转导及随后的毒性^[30]，提醒我们应特别注意高剂量AAV的使用。

综上所述，尽管利用AAV载体进行基因治疗的总体记录较为安全，但还应继续长期评估其安全性及有效性。

4 基因治疗的临床应用

在模型动物临床前试验成功后，AAV介导的基因治疗开始进入到临床试验。1995年，AAV载体首次在人体中应用，将AAV2包装的囊性纤维化跨膜调节基因传递到囊性纤维化患者体内^[31]。随后，大量用于治疗罕见遗传病的基因治疗药物在临床实验中验证其安全性和有效性，主要涵盖了眼病、血液病、神经系统和肌肉疾病等，见表2。

表1 不同器官嗜性的AAV血清型

器官/组织	血清型	给药方法	参考文献
眼睛	AAV2, AAV4, AAV5, AAV8, AAV.7m8, AAV2tYF	视网膜下注射，玻璃体注射	[11-14]
肝脏	AAV8, AAV2, AAV5, AAVSpark100, AAV-LK03	静脉注射	[6, 15-19]
神经系统	AAV2, AAV6, AAV9, AAVrh10, AAV-PHP.eB	侧脑室注射，鞘内注射，脑定位注射	[20-23]
肌肉	AAV1, AAV8, AAV9, AAVrh74, AAV2.5	肌肉注射	[24-26]
肺脏	AAV5, AAV6	气管内注射	[27, 28]

表2 代表性的AAV基因治疗临床试验

靶器官	疾病	载体/转基因	给药方式	开发商	临床试验编号	参考文献
眼睛	莱伯氏先天性黑矇症	AAV2-RPE65	视网膜下注射	费城儿童医院/Spark Therapeutics	NCT00999609	[36, 47, 48]
	无脉絡膜症	rAAV2-REP1	视网膜下注射	牛津大学	NCT02407678	[49, 50]
	色素性视网膜炎	AAV2-VMD2-hMERTK	视网膜下注射	Fowzan Alkuraya	NCT01482195	[51]
	莱伯氏遗传性视神经病变	scAAV2-P1ND4v2	玻璃体内注射	迈阿密大学	NCT02161380	[52]
	湿性年龄相关性黄斑变性	AAV.7m8-aflibercept	视网膜下注射	Adverum Biotechnologies	NCT03748784	/
肝脏	A型血友病	AAV5-Factor VIII (BMN 270)	静脉注射	Biomarin	NCT03392974	[17]
		AAV200-Factor VIII	静脉注射	Spark Therapeutics	NCT03003533	[53]
	B型血友病	AAV8-Factor IX	静脉注射	伦敦皇家自由医院	NCT00979238	[6, 7]
		AAV100-FIX Padua	静脉注射	Spark Therapeutics	NCT02484092	[18]
		AAV5-Factor IX (AMT-061)	静脉注射	uniQure	NCT03569891	[54]
神经		AAV-Factor IX (FLT180a)	静脉注射	Freeline Therapeutics	NCT03641703	/
	帕金森综合征	AAV2-AADC	纹状体注射	自治医科大学/美国加州大学旧金山分校/Voyager	NCT00229736	[22, 55]
	芳香氨基酸脱羧酶缺乏症	AAV2-AADC	脑定点注射	自治医科大学/台湾国立大学	NCT01395641	[56]
	阿尔兹海默症	AAV2-NGF	脑定点注射	Sangamo Therapeutics	NCT00876863	[57]
	巴顿病(CLN2)	AAVrh.10UCUCLN2	颅内注射	康奈尔大学威尔医学院	NCT01414985	/
肌肉	巨轴索神经蛋白病	scAAV9/JeT-GAN	鞘内注射	国立神经病及中风研究所	NCT02362438	[58]
	杜氏肌营养不良症	rAAV2.5-CMV-minidystrophin (d3990)	肌肉注射	美国国家儿童医院/Asklepios	NCT00428935	[59]
	脊髓型肌萎缩症	AAV9-SMN	静脉注射	美国国家儿童医院/AveXis	NCT02122952	[44]
	X连锁肌管性肌疾病	AAV8-hMTM1	静脉注射	Audentes Therapeutics	NCT03199469	/
	肢带型肌营养不良2E型	LGMD2E vector(SRP-9003)	静脉注射	Sarepta Therapeutics	NCT03652259	/

4.1 眼病 AAV介导的基因治疗在眼科疾病中具有很好的适用性,原因如下:科学家们发现了一系列眼部疾病的致病基因,如RPE65;视网膜细胞属于有丝分裂后的细胞,支持转基因的持续表达;眼睛具有良好的解剖结构,具有有限和封闭的物理空间,为局部递送提供了独特的优势;血眼屏障有助于维持眼睛的免疫特权并限制免疫反应^[13]。

眼病的基因治疗也具有重要的历史意义。2008年,三个独立小组证明了视网膜下注射AAV-RPE65的安全性及有效性^[32-34],基因疗法在沉寂十多年后宣布回归^[35]。随后,美国食品和药物管理局批准了首个用于治疗莱伯氏先天性黑矇症的AAV基因治疗药物Luxturna^[36]。

目前,进入I/II期临床试验的利用AAV治疗的眼病包括无脉络膜症(NCT02407678)、色素性视网膜炎(NCT02556736)等。尚未发现与AAV载体相关的严重并发症,部分患者观察到治疗效果,但治疗后的视觉效果存在差异,长期疗效尚不确定。部分患者治疗效果达到峰值后逐渐下降^[37-39],可能原因是正在进行的视网膜变性或先天免疫反应的激活。

4.2 血液病 对于影响构成血液的蛋白质和细胞的单基因病,可以通过基因回补或基因编辑方法进行基因治疗。如由凝血因子缺乏引发的血友病,非常适合通过基因治疗来纠正,一是因为AAV基因疗法的长效性,解决了常规补充凝血因子需要反复注射、终身治疗的问题;二是因为血友病的出血表型对不同水平的凝血因子均有反应,无需精确调控。

首个基于AAV治疗血友病的临床试验是通过将凝血因子IX递送到肌肉组织来治疗B型血友病^[40],显示出较好的安全性,且在给药后多年转基因仍然存在。目前,已有十几项利用AAV载体递送凝血因子VIII治疗A型血友病和递送凝血因子IX治疗B型血友病的I/II/III期临床试验^[6, 7, 16]。在已公布的临床试验结果中,血液中的凝血因子活性增加了5400%。但值得注意的是,在一些患者中,全身给予高剂量AAV 6~10周后,表现出轻度的肝毒性,这可能与针对病毒衣壳的T细胞反应有关^[7, 16, 17]。

4.3 神经系统疾病 大约60%的单基因病会导致神经系统症状,迄今已经确定了很多引发神经系统疾病的基因突变。AAV载体可通过一次给药将治疗基因转入神经元或其他神经细胞中,且具有长期疗效,为AAV在中枢神经系统疾病的治疗提供了很大的优势。如利用AAV递送到帕金森病患者大脑中芳香氨基酸脱羧酶可持续表达4年^[41],而在非人灵长类动物中则可持续表达15年^[42]。

目前进入临床试验的AAV基因疗法所针对的中枢神经系统疾病包括帕金森病、芳香氨基酸脱羧酶缺乏症等。迄今为止,AAV基因疗法的安全性和长效性已在海绵状脑白质营养不良病、芳香氨基酸脱羧酶缺乏症、帕金森病等神经系统疾病的临床研究中得到证实^[8, 43],显示了基因疗法在神经退行性疾病方面的巨大潜力。

4.4 肌肉疾病 神经肌肉病是一组遗传和获得性疾病,主要影响神经肌肉单元的一个或多个组成部分,包括运动神经元和骨骼肌。许多神经肌肉病,如杜氏肌营养不良症和脊髓性肌肉萎缩症,都

具有明确的遗传缺陷和单基因病性质,使基因治疗成为一种非常有前景的治疗方法。

AAV基因治疗在婴幼儿脊髓性肌肉萎缩症的临床试验中取得了显著的疗效^[44],一次性静脉输注AAV基因治疗药物的15名患儿生存期延长,运动功能改善,有的甚至可以走路。基于此,诺华推出的AAV基因治疗药物Zolgensma也为脊髓性肌肉萎缩症的患者带来了希望^[45]。

目前,临床研究正在使用不同AAV血清型和肌肉特异性启动子来治疗各种神经肌肉病,如上述的杜氏肌营养不良症、X-连锁肌管性肌病^[46]等。尽管这些基因治疗试验前景光明,仍面临挑战,一些患者对基因治疗产生了免疫反应,系统高剂量的AAV递送会导致患者经历短暂和/急性的肾功能损害,并伴有补体系统激活(NCT02310763)。

5 我国的基因治疗现状

我国在罕见病基因治疗领域的发展起步较晚,暂未形成完整的产业链,多数基因治疗产品尚在实验室开发的临床前阶段,由于审评审批的加速和政策的利好,以及较大的患者基数,截止目前,我国基因治疗临床试验数量仅次于美国,增长速度位列全球第一。截至2022年6月,已经有多个基因治疗药物进入临床项目申报阶段或已获批,见表3,还有多家医院开展了多项研究者发起的临床研究,见表4,涵盖眼病、血液病、遗传代谢病等多个领域。

在审评审批方面,我国的基因治疗实行双轨制管理,即由药品监督管理部门(国家药品监督管理局药品审评中心)和卫生行政管理部门(国家卫生健康委员会)共同管理。前者负责基因治疗产品的安全性、有效性审查和临床试验审批,后者负责监管研究者发起的临床研究和批准后的临床应用环节,同时通过研究中心的伦理委员会对临床研究方案进行伦理审查,确保受试者权益。

目前,国家药品监督管理局已经针对基因疗法形成了由法律法规、管理制度与指南文件组成的初步完善的审批流程和监管体系,且药品审评中心多次发布基因治疗的相关指导文件,包括2021年12月发布的《基因治疗产品非临床研究评价技术指导原则(试行)》、《基因治疗产品长期随访临床研究技术指导原则(试行)》等。在针对罕见病的药物研发方面也发布了相关的指导文件,包括2021年12月发布的《罕见疾病药物临床研究技术指导原则》和2022年5月发布的《罕见疾病药物临床研究统计学指导原则(试行)》等。

此外,国内多地政府也发文支持基因治疗相关产业的发展,如2021年11月,中关村示范区领导小组印发《“十四五”使其中关村国家自主创新示范区的发展建设规划》,文件指出,支持建设细胞和基因治疗、生物药、重组蛋白药物的中试生产平台,加快发展基因编辑、合成生物学、生物制造等未来生命健康产业。

基因治疗产品的研发和临床试验正在不断取得突破性的进展,相信在以上多个有利条件的加持下,我国基因治疗的产业将持续向好。

表3 国家药品监督管理局药品审评中心受理的基因治疗临床试验

受理时间	受理号	申请方	药品名称	给药方式	适应症
2021年1月	CXSL2100016	纽福斯	NR082眼用注射液	玻璃体注射	莱伯氏遗传性视神经病变
2021年5月	CXSL2101082	信致医药	BBM-H901注射液	静脉给药	B型血友病
2021年12月	CXSL2101532	锦蓝基因	GC304注射液	静脉给药	遗传性高甘油三酯血症
2022年1月	CXSL2200021	锦蓝基因	GC101注射液	静脉给药	1, 2, 3型脊髓性肌萎缩症
2022年1月	CXSL2200048	朗昇生物	LX101眼用注射液	玻璃体注射	莱伯氏先天性黑矇症
2022年1月	CXSL2200055	天泽云泰	VGB-R04注射液	静脉给药	B型血友病
2022年2月	CXSL2200102	锦蓝基因	GC301注射液	静脉给药	庞贝氏病
2022年3月	CXSL2200146	嘉因生物	EXG001-307注射液	静脉给药	脊髓性肌萎缩症
2022年5月	CXSL2200201	弘基生物	KH631眼用注射液	玻璃体注射	湿性年龄相关性黄斑变性
2022年6月	CXSL2200261	至善维新	ZS801注射液	静脉给药	B型血友病

表4 我国与基因治疗相关的研究者发起的临床研究

时间	申办方	药品名称	给药方式	适应症
2019年10月	中国医学科学院血液病医院	BBM-H901注射液	静脉注射	B型血友病
2021年6月	北京同仁医院	ZVS101E眼用注射液	玻璃体注射	结晶样视网膜变性
2021年8月	复旦大学附属儿科医院	EXG001-307注射液	静脉注射	脊髓性肌萎缩症
2021年9月	上海市第一人民医院	LX101眼用注射液	玻璃体注射	莱伯氏先天性黑矇症
2021年10月	吉林大学第一医院	AAV9-hGCDH注射液	侧脑室注射	戊二酸血症I型
2022年1月	中国医学科学院血液病医院	GS001注射液	静脉注射	A型血友病
2022年2月	中国医学科学院血液病医院	ZS801注射液	静脉注射	B型血友病

6 结 语

罕见病虽然罕见，但患病总人数众多，多数缺乏有效治疗方法。基因治疗作为一种新兴的治疗手段，有望解决单基因病的治疗困境。而AAV作为目前最安全、长效的病毒载体，已经被应用于多项罕见遗传病的临床试验，涵盖眼病、血液病、神经系统疾病等多个领域。

根据迄今为止的临床经验来看，AAV载体是治疗罕见单基因病的一个很好的平台^[60]。与小分子、抗体和蛋白质替代疗法相比，基因疗法作为一个平台还处于发展的早期阶段，仍旧有很多问题需要解决，如免疫原性的问题。但是，基因治疗是可以实现一次性治疗疾病的方法，对罕见病治疗的发展有着深远的影响。同时我们也应看到，作为有史以来最复杂的药物，基因治疗产品研发技术含量高，制造工艺复杂，质量控制严格，个体化程度高，储存和运输条件苛刻，对监管提出了更高的要求，也亟需我国的管理部門完善相关法律法规，建立科学的监管审评制度，以确保基因治疗技术的妥善应用。

参考文献

[1]Richter T, Nestler-Parr S, Babela R, et al., Rare Disease Terminology and Definitions-A Systematic Global Review: Report of the ISPOR Rare Disease Special Interest Group [J]. Value Health, 2015. 18(6): 906-914.

[2]Friedmann T, Roblin R, Gene therapy for human genetic disease? [J]. Science, 1972. 175 (4025): 949-955.

[3]Atchison RW, Casto BC, Hammon WM, ADENOVIRUS-ASSOCIATED DEFECTIVE VIRUS PARTICLES [J]. Science, 1965. 149 (3685): 754-756.

[4]Somanathan S, Broues E, Bell P, et al., AAV vectors avoid inflammatory signals necessary to render transduced hepatocyte targets for destructive T cells [J]. Mol. Ther., 2010. 18(5): 977-982.

[5]Rivera VM, Gao GP, Grant RL, et al., Long-term pharmacologically regulated expression of erythropoietin in primates following AAV-mediated gene transfer [J]. Blood, 2005. 105(4): 1424-1430.

[6]Nathwani AC, Reiss UM, Tuddenham EG, et al., Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B [J]. N. Engl. J. Med., 2014. 371(21): 1994-2004.

[7]Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, et al., Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B [J]. N. Engl. J. Med., 2011. 365(25): 2357-2365.

[8]Leone P, Shera D, McPhee SW, et al., Long-term follow-up after gene therapy for canavan disease [J]. Sci. Transl. Med., 2012. 4(165): 165ra163.

[9]Kotterman MA, Schaffer DV, Engineering adeno-associated viruses for clinical gene therapy [J]. Nature reviews. Genetics, 2014. 15(7): 445-451.

[10]Srivastava A, In vivo tissue-tropism of adeno-associated viral vectors [J]. Curr. Opin. Virol., 2016. 21: 75-80.

[11]Pang JJ, Dai X, Boye SE, et al., Long-term retinal function and structure rescue using capsid mutant AAV8 vector in the rd10 mouse, a model of recessive retinitis pigmentosa [J]. Mol. Ther., 2011. 19(2): 234-242.

[12]Dalkara D, Kolstad KD, Guerin KI, et al., AAV mediated GDNF secretion from retinal glia slows down retinal degeneration in a rat model of retinitis pigmentosa [J]. Mol. Ther., 2011. 19(9): 1602-1608.

[13]Rodrigues GA, Shalae E, Karami TK, et al., Pharmaceutical Development of AAV-Based Gene Therapy Products for the Eye [J]. Pharm. Res., 2018. 36(2): 29.

[14]Moore NA, Morral N, Ciulla TA, et al., Gene therapy for inherited retinal and optic nerve degenerations [J]. Expert Opin. Biol. Ther., 2018. 18(1): 37-49.

[15]Functional Mapping of Tissue Tropism of Naturally Occurring Adeno-Associated Virus Isolates from Human Hematopoietic Stem Cells [J]. Mol. Ther., 2011. 19: S127-S128.

[16]Manno CS, Pierce GF, Arruda VR, et al., Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response [J]. Nat. Med., 2006. 12(3): 342-347.

[17]Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al., AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A [J]. N. Engl. J. Med., 2017. 377(26): 2519-2530.

[18]George LA, Sullivan SK, Giermasz A, et al., Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant [J]. N. Engl. J. Med., 2017. 377(23): 2215-2227.

[19]Perrin GQ, Herzog RW, Markusik IM, Update on clinical gene therapy for hemophilia [J]. Blood, 2019. 133(5): 407-414.

[20]Cearley N, Wolfe JH, Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain [J]. Mol. Ther., 2006. 13(3): 528-537.

[21]Gray SJ, Blake BL, Criswell HE, et al., Directed evolution of a novel adeno-associated virus (AAV) vector that crosses the seizure-compromised blood-brain barrier (BBB) [J]. Mol. Ther., 2010. 18(3): 570-578.

[22]Christine CW, Starr PA, Larson PS, et al., Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease [J]. Neurology, 2009. 73(20): 1662-1669.

[23]Chan KY, Jang MJ, Yoo BB, et al., Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems [J]. Nat. Neurosci., 2017. 20(8): 1172-1179.

[24]Yang L, Jiang J, Drouin LM, et al., A myocardium tropic adeno-associated virus (AAV) evolved by DNA shuffling and in vivo selection [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2009. 106(10): 3946-3951.

[25]Pulicherla N, Shen S, Yadav S, et al., Engineering liver-detargeted AAV9 vectors for cardiac and musculoskeletal gene transfer [J]. Mol. Ther., 2011. 19(6): 1070-1078.

[26]Asokan A, Conway JC, Phillips JL, et al., Reengineering a receptor footprint of adeno-associated virus enables selective and systemic gene transfer to muscle [J]. Nat. Biotechnol., 2010.

28(1): 79-82.

[27]Excoffon KJ, Koerber JT, Dickey DD, et al., Directed evolution of adeno-associated virus to an infectious respiratory virus [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2009. 106(10): 3865-3870.

[28]Li W, Zhang L, Johnson JS, et al., Generation of novel AAV variants by directed evolution for improved CFTR delivery to human ciliated airway epithelium [J]. Mol. Ther., 2009. 17(12): 2067-2077.

[29]Nathwani AC, Gray JT, Ng CY, et al., Self-complementary adeno-associated virus vectors containing a novel liver-specific human factor IX expression cassette enable highly efficient transduction of murine and nonhuman primate liver [J]. Blood, 2006. 107(7): 2653-2661.

[30]Hinderer C, Katz N, Buza EL, et al., Severe Toxicity in Nonhuman Primates and Piglets Following High-Dose Intravenous Administration of an Adeno-Associated Virus Vector Expressing Human SMN [J]. Hum. Gene Ther., 2018. 29(3): 285-298.

[31]Flotte T, Carter B, Conrad C, et al., A phase I study of an adeno-associated virus-CFTR gene vector in adult CF patients with mild lung disease [J]. Hum. Gene Ther., 1996. 7(9): 1145-1159.

[32]Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, et al., Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis [J]. N. Engl. J. Med., 2008. 358(21): 2231-2239.

[33]Hauswirth WW, Aleman TS, Kaushal S, et al., Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial [J]. Hum. Gene Ther., 2008. 19(10): 979-990.

[34]Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, et al., Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis [J]. N. Engl. J. Med., 2008. 358(21): 2240-2248.

[35]Naldini L, Medicine. A comeback for gene therapy [J]. Science, 2009. 326(5954): 805-806.

[36]Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al., Efficacy and safety of voretigene neparovvec (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.

[37]Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, et al., Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis [J]. N. Engl. J. Med., 2015. 372(20): 1887-1897.

[38]Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, et al., Improvement and decline in vision with gene therapy in childhood blindness [J]. N. Engl. J. Med., 2015. 372(20): 1920-1926.

[39]Cideciyan AV, Jacobson SG, Beltran WA, et al., Human retinal gene therapy for Leber congenital amaurosis shows advancing retinal degeneration despite enduring visual improvement [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2013. 110(6): E517-S25.

[40]Kay MA, Manno CS, Ragni MV, et al., Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector [J]. Nat. Genet., 2000. 24(3): 257-261.

[41]Mittermeyer G, Christine CW, Rosenbluth KH, et al., Long-term evaluation of a phase I study of AADC gene therapy for Parkinson's disease [J]. Hum. Gene Ther., 2012. 23(4): 377-381.

[42]Sehara Y, Fujimoto KI, Ikeguchi K, et al., Persistent Expression of Dopamine-Synthesizing Enzymes 15 Years After Gene Transfer in a Primate Model of Parkinson's Disease [J]. Human gene therapy. Clinical development, 2017. 28(2): 74-79.

[43]Chien YH, Lee NC, Tseng SH, et al., Efficacy and safety of AAV2 gene therapy in children with aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: an open-label, phase 1/2 trial [J]. The Lancet. Child & adolescent health, 2017. 1(4): 265-273.

[44]Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al., Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy [J]. N. Engl. J. Med., 2017. 377(18): 1713-1722.

[45]Keeler AM, Flotte TR, Recombinant Adeno-Associated Virus Gene Therapy in Light of Luxturna (and Zolgensma and Glybera): Where Are We, and How Did We Get Here? [J]. Annual review of virology, 2019. 6(1): 601-621.

[46]Duan D, Systemic AAV Micro-dystrophin Gene Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy [J]. Mol. Ther., 2018. 26(10): 2337-2356.

[47]Maguire AM, High KA, 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.

[48]Bennett J, Wellman J, Marshall KA, 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.

[49]MacLaren RE, Groppa M, Barnard AR, et al., Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial [J]. Lancet, 2014. 383(9923): 1129-1137.

[50]Edwards TL, Jolly JK, Groppa M, et al., Visual Acuity after Retinal Gene Therapy for Choroideremia [J]. N. Engl. J. Med., 2016. 374(20): 1996-1998.

[51]Ghazi NG, Abboud EB, Nowlaty SR, et al., Treatment of retinitis pigmentosa due to MERTK mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: results of a phase I trial [J]. Hum. Genet., 2016. 135(3): 327-343.

[52]Feuer WJ, Schiffman JC, Davis JL, et al., Gene Therapy for Leber Hereditary Optic Neuropathy: Initial Results [J]. Ophthalmology, 2016. 123(3): 558-570.

[53]George LA, Monahan PE, Eyster ME, et al., Multiyear Factor VIII Expression after AAV Gene Transfer for Hemophilia A [J]. N. Engl. J. Med., 2021. 385(21): 1961-1973.

[54]Miesbach W, Meijer K, Coppens M, et al., Gene therapy with adeno-associated virus vector 5-human factor IX in adults with hemophilia B [J]. Blood, 2018. 131(9): 1022-1031.

[55]Muramatsu S, Fujimoto K, Kato S, et al., A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease [J]. Mol. Ther., 2010. 18(9): 1731-1735.

[56]Hwu WL, Muramatsu S, Tseng SH, et al., Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency [J]. Sci. Transl. Med., 2012. 4(134): 134ra161.

[57]Rafii MS, Tuszyński MI, Thomas RG, et al., Adeno-Associated Viral Vector (Serotype 2)-Nerve Growth Factor for Patients With Alzheimer Disease: A Randomized Clinical Trial [J]. JAMA neurology, 2018. 75(7): 834-841.

[58]Bailey RM, Armo D, Nagabhushan Kalburgi S, et al., Development of Intrathecal AAV9 Gene Therapy for Giant Axonal Neuropathy [J]. Molecular therapy. Methods & clinical development, 2018. 9: 160-171.

[59]Mendell JR, Campbell JL, Rodino-Klapac L, et al., Dystrophin immunity in Duchenne's muscular dystrophy [J]. N. Engl. J. Med., 2010. 363(15): 1429-1437.

[60]Wang D, Tai PML, Gao G, Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery [J]. Nat. Rev. Drug Discov., 2019. 18(5): 358-378.

(收稿日期：2022-08-17)
(校对编辑：姚丽娜)