

基因治疗时代到来：常用基因治疗载体的介绍与选择

作者：writer 来源：本站

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/332.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

1989年Rosenberg等利用逆转录病毒载体实施第一例人类基因治疗实验，此后基因治疗研究在全球范围内逐渐展开。2017年，基因治疗在癌症和罕见遗传病的治疗中接连取得了巨大成功，BioWorld梳理了这一系列的标志性事件，

ARTICLE

doi:10.1038/nature24487

Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells

Tobias Hilgach^{1,2}, Tobias Rothbart^{1,2}, Norbert Tig^{1,2}, Johann W. Bauer^{1,2}, Grazia Pellegrini^{1,2,3,4}, Laura De Riva^{1,2}, Davide Scaglione¹, Julia Reichelt¹, Alfred Klausberger¹, Daniela Kneiss¹, Oriana Romano¹, Alessia Seccone Secconetti¹, Roberta Contini¹, Elena Enzo¹, Irena Jurman¹, Sonia Carulli¹, Frank Jacobsen¹, Thomas Luecke¹, Marcus Lehnhardt¹, Melke Fischer¹, Maximilian Kueckelhaus¹, Daniela Quaglino¹, Michele Morgante¹, Silvio Bicchieri¹, Sergio Bondanza¹ & Michele De Luca¹



Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy

J.R. Mendell, S. Al-Zaidy, R. Shell, W.D. Arnold, L.R. Rodino-Klapac, T.W. Prior, L. Lowes, L. Alfano, K. Berry, K. Church, J.T. Kissel, S. Nagendran, J. L'Italien, D.M. Sproule, C. Wells, J.A. Cardenas, M.D. Heitzler, A. Kaspar, S. Corcoran, L. Braun, S. Likhite, C. Miranda, K. Meyer, K.D. Foust, A.H.M. Burghes, and B.K. Kaspar

2017年8月30日，诺华公司治疗B细胞急性淋巴细胞白血病的以慢病毒为载体的CAR-T疗法Kymriah获FDA批准上市，成为FDA批准的第一款基因疗法(图3)。



以上三个基因治疗的标志性案例，使用了三种不同的基因治疗载体，分别是逆转录病毒(RV)、腺相关病毒(AAV)、慢病毒(LV)。

基因治疗载体分为两大类：病毒载体(主要包括慢病毒、腺病毒、逆转录病毒、腺相关病毒等)，非病毒载体(主要包括裸露DNA、脂质体、纳米载体等)

in vivo：活体直接转移,将带有遗传物质的载体直接注射到实验动物或人体内。适用载体：腺相关病毒、腺病毒、非病毒载体等。

ex vivo：在体转移,将实验对象的细胞取出,体外培养并导入重组基因,而后再将这些经遗传修饰的细胞重新输回实验动物体内。适用载体：慢病毒、腺病毒、逆转录病毒等。

逆转录病毒(RV)：单链RNA病毒，可高效地感染多种类型细胞，可以将外源基因随机插入并稳定整合到宿主细胞基因组中持续表达。其中γ-逆转录病毒载体最早被改造的且广泛地被应用到基因治疗中，并取得了不少巨大的成功。

不足之处：①不能感染非分裂细胞;②转录终止能力相对较弱，从而有可能造成转录通读;③可能产生有复制能力的病毒;④可能造成插入性突变，例如使用逆转录病毒载体治疗的10例X连锁重度复合型免疫缺陷病(X-SCID)患者中，有4例因载体整合在原癌基因LMO2等的附近，激活下游基因的表达而罹患白血病。

逆转录病毒的插入位点是随机的，但更偏向于插入基因的第一个内含子和转录起始位点。此后人们开始重新审视基因治疗载体的使用所带来的风险，此次使用逆转录病毒治疗JEB后，研究团队通过全基因组测序确定了插入位点，发现有27000多个插入位点，但基本都集中在非编码序列，没有破坏已知的抑癌基因。

慢病毒(LV)：以HIV-1(人类免疫缺陷I型病毒)为基础发展起来的基因治疗载体。属于逆转录病毒，能有效感染分裂细胞和非分裂细胞。随机插入并稳定整合到宿主细胞基因组中持续表达。一系列的临床研究效果非常理想，具有广阔的应用前景。

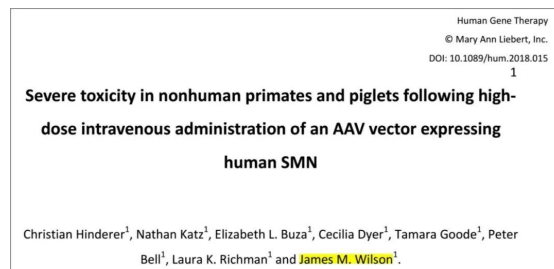
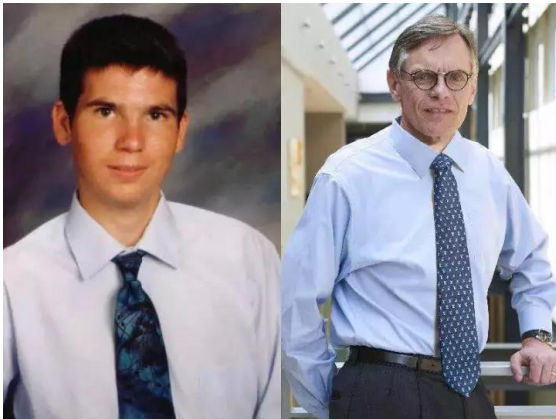
慢病毒因为也属于逆转录病毒，所以也存在因为随机插入造成基因突变的风险，但是一系列的临床研究证实，慢病毒载体相对于逆转录病毒来说安全性更高，适用性也更广。

腺病毒(AdV)：无包膜的线性双链DNA病毒，腺病毒载体宿主细胞范围广泛，有效感染分裂细胞和非分裂细胞，不与宿主细胞基因组整合，因而不存在插入突变风险，载体容量较大。

不足之处：①缺乏特异靶向性，在一些缺乏其相应受体的细胞中感染效率低;②目的基因的表达时间短，可能需要重复治疗;③有较强的免疫原性，例如18岁少年Jesse Gelsinger在接受Jim Wilson教授主导的腺病毒(AdV)的临床治疗中，因强烈的免疫反应去世(图4)，此后Wilson教授找到了更适合更安全的用于基因治疗的病毒载体：腺相关病毒(AAV)。

腺相关病毒(AAV)：目前发现的一类结构最简单的单链DNA缺陷型病毒，需要辅助病毒(通常为腺病毒)参与复制。由于其安全性好、宿主细胞范围广、免疫源性低，在体内表达外源基因时间长等特点，被视为最有前途的基因治疗载体，在世界范围内的基因治疗和疫苗研究中得到广泛应用。

除了上述几种常用的病毒载体外，在临床基因治疗中还有牛痘病毒载体、痘病毒载体、单纯性疱疹病毒载体等，由于使用较少，不再一一介绍。



在临床基因治疗中，病毒载体存在潜在安全性问题，且病毒载体容量有限，这些缺点促进了非病毒载体系统的发展。非病毒载体具有成本低、制备简单、便于大规模生产、安全性高、外源基因长度不受限制等优点。最简单的非病毒载体是裸DNA，可直接注入特定的组织，特别是肌肉，能达到较高水平的基因表达，在临床基因治疗中裸DNA有着较为广泛的应用。以及近期异军突起的纳米材料载体，之前BioWorld专门做过解读，详情点击：CAR-T新策略：纳米颗粒携带CAR载体在体内产生CAR-T细胞。

非病毒载体虽然有着诸多优点，但也存在着明显的缺点：①转染效率不理想;②外源基因转导到宿主细胞后表达时间短，③非特异性靶向较高等，因此非病毒载体进入临床治疗还需要做更深入的研究与改进。

2017年，基因治疗领域的一系列成功，宣告了基因治疗时代的到来。我们的最终目标是安全有效的治愈癌症和遗传疾病，这个在之前看来的不可能任务正通过基因治疗在一步步实现。

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发