

先进治疗药品中基因编辑系统的药学研究关注点

尹慧芳, 魏学婧, 戴逸飞, 马晓娟, 张景辰* (国家药品监督管理局药品审评检查长三角分中心, 上海 201210)

摘要 **目的:** 为先进治疗药品中基因编辑系统的药学研究提供建议和参考。**方法:** 基于药学研究, 结合国内外相关法规和指导原则的要求, 重点围绕基因编辑系统的上游设计、生产和质量研究、使用 and 风险控制等方面进行深入分析和讨论。**结果与结论:** 近年来, 以 CRISPR/Cas9 为代表的基因编辑系统作为科研领域的研究热点迅速崛起, 并广泛应用于医药、农业、生物技术等诸多领域。在治疗领域, 基因编辑系统既可以作为药物活性成分在体内直接进行编辑, 又可以在体外编辑细胞后回输人体发挥治疗作用, 因此是先进治疗药品审评的关注要点。本文提出了当前药学研究应考虑的重点, 以期能促进基因编辑产品的临床转化和应用。

关键词: 先进治疗药品; CRISPR/Cas9; 基因编辑系统; 质量研究; 风险控制

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2025)05-0499-007

doi: 10.16153/j.1002-7777.2024-12-0021

Considerations for Pharmaceutical Research of Genome Editing Systems in Advanced Therapy Medicinal Products

Yin Huifang, Wei Xuejing, Dai Yifei, Ma Xiaojuan, Zhang Jingchen* (Yangtze River Delta Center for Drug Evaluation and Inspection of NMPA, Shanghai 201210, China)

Abstract **Objective:** To provide suggestions and references for the pharmaceutical research of genome editing systems in advanced therapy medicinal products. **Methods:** Based on the pharmaceutical research, combined with the requirements of relevant regulation and guidance domestically and abroad, this article focused on the upstream design, production and quality research, use and risk management of genome editing systems. **Results and Conclusion:** In recent years, genome editing systems represented by CRISPR/Cas9 have risen rapidly as scientific research hotspot, and have been widely used in many fields such as medicine, agriculture, biotechnology and so on. In the field of therapeutics, genome editing systems can not only be used as active pharmaceutical ingredients or drug substances *in vivo*, but also play a therapeutic role after editing cells *in vitro* and returning to the human body. So it is an important concern in the evaluation of advanced therapy medicinal products. This article raised the current considerations for pharmaceutical research, hoping to promote the clinical transformation and application of genome editing products.

Keywords: advanced therapy medicinal products; CRISPR/Cas9; genome editing systems; quality research; risk management

基金项目: 先进疗法和放射性药物的国际监管政策调研 (课题)

作者简介: 尹慧芳 E-mail: yinhf@ydcdei.org.cn

通信作者: 张景辰 E-mail: zhangjc@ydcdei.org.cn

近年来,基因编辑系统的研发热潮持续升温,与此同时,遵循药品研发流程并申报临床试验的相关治疗性产品数量也呈现逐年攀升的趋势。为了引领和规范这一领域的发展,国家药品监督管理局药品审评中心陆续发布了多个相关指导原则,对基因编辑系统的使用及风险控制策略等方面进行了系统的阐述,对行业的健康发展起到了良好的促进和指导作用。本文结合基因编辑系统临床试验申报资料审评和沟通交流中的常见问题,基于当前科学认知,参考国内外相关法规和技术指导原则,主要以 CRISPR/Cas9 为例,对先进治疗产品中使用的基因编辑系统从上游设计、生产和质量研究、使用和质量控制等方面展开深入探讨,提出现阶段药学研究的考虑要点,以期为研发者和监管方提供参考,共同推动基因编辑药品的发展。

1 使用和申报情况概述

人体基因编辑是指利用核酸酶依赖型或非依赖型基因编辑技术,在人体细胞基因组的特定位点(体内或体外)进行 DNA 序列的添加、删除、替换或修改的过程^[1]。近年来,使用基因编辑技术的先进治疗药品的研发和申报数量逐年增多,根据基因编辑方式来区分,主要可分为离体细胞基因编辑和体内基因编辑两大类。

离体细胞基因编辑,是指从患者或健康供者体内分离的细胞,利用基因编辑系统进行基因删除、插入等操作,经培养后将改造的细胞回输至患者体内。现阶段,此类产品主要采用电穿孔、纳米脂质颗粒或其他方式将基因编辑系统导入细胞,使用的基因编辑系统形式主要是 Cas 核糖蛋白复合物。以全球首款上市的基因编辑药品 Casgevy 为例^[2-3],它通过电穿孔技术将 Cas9 核糖蛋白复合物导入体外富集的 CD34⁺ 造血干祖细胞中。在 sgRNA 的引导下,Cas9 蛋白定位到 BCL11A 基因红系特异性增强子区域,并在 GATA1 转录因子结合位点造成 DNA 双链断裂。随后,根据细胞自身的非同源末端修复机制,断裂位点处会发生基因序列的插入或删除,干扰 GATA1 的结合,进而降低 BCL11A 的表达水平,减轻其对 γ -珠蛋白的抑制作用,使得 γ -珠蛋白的表达量上升,从而与 α -珠蛋白结合形成胎儿血红蛋白发挥作用,有效缓解 β -地中海贫血患者和镰状细胞贫血症患者的临床症状。

体内基因编辑,是指通过递送系统将基因编

辑元件直接输送至患者体内,基因编辑系统作为药物活性成分直接在目标细胞内进行基因编辑。使用的递送系统包括但不限于整合缺陷型慢病毒载体、腺相关病毒载体、脂质纳米颗粒等。相较于离体编辑,体内编辑的编辑系统形式更为丰富多样,主要体现在 Cas 蛋白的变化形式上,例如表达 Cas 蛋白的质粒、编码 Cas 蛋白的 mRNA,以及 Cas 蛋白本身等^[4]。不同形式的编辑元件均能在 sgRNA 的引导下到达目的基因位点,实现高效精确的基因编辑。尽管目前全球范围内尚无体内基因编辑药品正式获批上市,但国内外已有多项研究取得重要进展,获得临床默示许可并进入临床试验阶段。

2 药学研究考虑

基因编辑系统的来源多样,可通过自行生产、委托生产或直接购买等途径获得,但无论来源如何,都需遵循相同的技术要求和质量控制原则。需强调的是,先进治疗药品的申请人对基因编辑系统承担主体责任,需通过强化内部质量控制、对基因编辑系统的生产方进行审计、制定质量协议等多重措施,来控制潜在风险^[5]。若基因编辑系统发生变更,应及时进行风险评估,开展与其研发阶段相适应的药学可比性研究,必要时还可能需要进行非临床或 / 和临床桥接研究,以确保变更后的基因编辑系统与原有系统具有可比性。

无论是作为关键原材料还是药物活性成分,基因编辑系统的质量都直接关乎终产品的安全性和有效性,是药学研究的重点。因此,需要提供其上游设计、生产、质量研究、稳定性研究等方面的详细药学研究资料。与传统药物研发类似,基因编辑系统的药学研究同样遵循阶段性和渐进性原则。研发者应提前制定研究计划和策略,随着研发的不断深入,逐步优化生产工艺,加强质量控制,确保每个阶段的研究满足相应要求。不同研发阶段的具体要求可参考国家药品监督管理局药品审评中心 2022 年 5 月发布的《体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)》^[6]。其中,基因编辑系统的设计和筛选过程需进行充分阐述,以证明其设计的科学性和合理性。建议对靶向序列、目的基因序列(如适用)和基因编辑用酶等的序列和比例等进行优化,并提供优化过程。通过在特定细胞中验证基因编辑效果,确认基因编辑用酶和靶向序列的特异性,筛选出最优靶向结合序列(例

如 sgRNA 序列), 同时采取措施降低脱靶风险、插入突变的概率, 以及对目的细胞基因组稳定性的潜在影响^[5]。若基因编辑系统在临床试验期间发生变更, 可能需对基因编辑系统本身及其终产品进行可比性研究, 确保不会影响其预期性能。建议在确证性临床试验开展前完成重大变更, 并确定最终生产工艺。

2.1 基因编辑元件的上游设计

当前基因编辑元件存在众多设计平台, 申请人应根据目标基因组靶点和预期的编辑类型, 选择合适的设计平台。申报资料中, 不仅需要详尽阐述设计和筛选的基本原理和过程, 还应提供基因编辑元件的序列信息和目的基因序列(如适用)。基因编辑系统的主要风险为脱靶效应, 即基因编辑元件与非靶标 DNA 错配并发生切割, 从而导致非特异性、非预期的基因修饰。脱靶效应可能导致序列突变、缺失、重排、免疫反应和癌基因激活等问题, 严重制约了基因编辑技术的应用与安全性。为有效降低脱靶风险, 需针对不同的基因编辑技术特性, 从多方面优化基因编辑元件。以 sgRNA 的设计为例, 需要综合考虑 GC 含量、sgRNA 长度、sgRNA 的化学修饰和潜在序列变异体的影响等^[6]。此外, 对 Cas9 蛋白进行修饰以增强其核酸酶特异性, 也是减少脱靶效应的策略之一^[7]。若基因编辑系统涉及使用 mRNA, 设计时还应关注碱基修饰类型和比例、5'-帽或类似物结构、非翻译区序列、Poly(A)加尾结构, 以及自扩增元件(如适用)等^[8]。同时, 通过密码子优化、调控碱基间作用力及高级结构等方面的改造, 提高 mRNA 的稳定性, 以实现其在目的细胞的预期生物学活性。申报资料中应详细描述针对基因编辑元件的优化策略和实施细节, 以确保审评机构能全面了解申请人在降低脱靶风险方面所采取的具体措施和技术细节, 为其安全性评估提供有力支持。

2.2 基因编辑元件的生产和质量控制

此部分主要以 Cas9 核酸酶和 sgRNA 为例, 对基因编辑元件的生产进行阐述。Cas9 核酸酶来源于化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*), 在 sgRNA 的引导下, 能够介导序列特异性的 DNA 双链断裂, 其蛋白通常包含 C- 和 N- 末端的核定位序列。目前, Cas9 蛋白的生产多采用大肠杆菌作为宿主系统, 药学研究建议综合参考已发布的重组

蛋白类生物制品相关指导原则中的药学研究要求。sgRNA 的生产一般采用化学固相合成工艺, 建议参考化学合成产品的相关技术要求。

生产用原材料方面, 需结合工艺研究, 选用适宜的原材料, 并制定合理的质量控制标准, 进行严格的供应商审计, 明确生产用原材料的来源、组分、功能、使用阶段和质量标准等。若涉及使用细菌种子批, 菌种的来源应明确, 细菌种子批的制备过程应清晰、完整, 制备过程应尽量避免使用人源或动物源性原材料, 并对种子批的单克隆性进行确认。细菌种子批的制备和检定应符合 2020 年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)的要求, 并模拟或在代表实际生产工艺的条件下开展传代稳定性研究。生产过程中应尽可能避免使用人源或动物源成分, 若确需使用, 可参考 2020 年版《中国药典》和 ICH Q5A 等指南, 开展外源因子等安全性相关的风险评估与研究。对于采用重组技术或生物/化学合成技术制备的原材料, 需明确工艺和质量控制情况, 深入分析生产过程中可能引入的安全性相关杂质。对于制备过程中使用的酶类试剂, 需重点关注酶的功能活性, 例如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶的保真度和活性, 消化酶的酶解作用、酶的非特异性消化条件等, 同时需要关注酶的纯度和生产过程中可能引入的杂质等。对于核苷酸、5'-帽或类似物等原材料, 其整体的质量应符合制备要求, 应关注鉴别、浓度、纯度和杂质等。制备过程中应尽量避免使用氯化铯、溴化乙锭、氯仿等有毒物质, 避免使用动物源胰蛋白胨、核酸酶等可能引入外源因子风险的原材料^[5]。

生产工艺方面, 深入研究与优化工艺参数, 开发稳健的工艺流程, 进行严格的过程控制, 以确保工艺性能和产品质量的一致性, 提供生产过程中的关键工艺参数和中间体控制信息。若存在中间体暂存步骤, 则需对暂存时间进行研究和确认。通过体外转录方式制备的 mRNA 等, 可通过对原材料、转录模板和转录条件的研究, 控制转录产物的质量。体外转录条件应经过充分的研究, 提高转录序列的准确性、均一性和完整性, 减少副反应产物的形成, 例如不完整 RNA、双链 RNA、截短 RNA、长链 RNA 等。纯化过程中使用的层析树脂等需进行使用寿命和性能评估。若原液或原料存在运输步骤, 需对其进行运输验证。最终的基因编辑元件需

为无菌状态,建议考虑通过最差条件进行培养基无菌工艺模拟验证,并定期进行再确认。

质量研究和质量控制方面,建议对 Cas9 蛋白的截短、氧化、脱酰胺以及高分子量相关产品变体等进行研究,并分析其对生物活性和安全性的影响。应对 Cas9 蛋白开展全面检测,包括鉴别、含量、纯度、生物活性、产品相关杂质、工艺相关杂质、安全性等指标。sgRNA 方面,建议使用多种分析技术进行表征研究,以评估其结构、理化特性和生物学特性,并提供每种技术的研究数据。通过功能分析,证明 sgRNA 将 Cas9 蛋白引导至编辑位点实现定点切割的能力。在生产和/或存储期间,sgRNA 可能会形成有机杂质,建议通过优化合成参数和纯化参数提高纯度,降低其杂质水平。建议提供杂质谱信息,以及关于元素杂质和残留溶剂的充分信息。质量控制方面,建议提供结构确证、首末端修饰、理化性质、超长截短序列、溶剂残留、sdRNA、安全性指标等方面的信息。

用于检测的药典方法,需要进行适当的方法学确认,非药典方法需按照 ICH Q2 (R1) 指南的要求进行验证,提供分析方法验证/确认和完整的验证方案/报告,确保分析方法适合其预期用途。参考品方面,可建立基准参考品和工作参考品双层系统,根据基准参考品对每个新批次的工作参考品进行标定,以避免在生命周期中发生效价漂移现象。需提供所使用的包装系统的详细信息和相容性证明,稳定性研究可参考 ICH 稳定性指导原则 ICH Q1A (R2) 和 Q5C 的要求进行。

2.3 基因编辑元件的 GMP 级别

总体而言,基因编辑元件的 GMP 级别应当与其研发阶段相适应,不同国家和地区对上市阶段的 GMP 级别要求有所不同。根据欧盟先进治疗药品 (Advanced Therapy Medicinal Products, ATMP) GMP 指南^[9-10],离体细胞所使用的基因编辑元件的生产应遵循 GMP 原则,体外编辑细胞应在符合 GMP 的条件下生产;体内使用的基因编辑元件,无论其形式为 DNA 还是 mRNA,都需要在符合 GMP 的条件下生产。在美国,晚期临床阶段和上市阶段,无论应用于体内还是体外细胞编辑,均需在符合 cGMP 的条件下生产^[1]。在我国,根据国家药品监督管理局食品药品审核查验中心 2022 年 10 月发布的《细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)》,直接用

于细胞生产的体外基因编辑元件,其生产、检验和放行等过程都应符合《药品生产质量管理规范》及其相关附录的要求^[11]。尽管现阶段尚未明确体内基因编辑系统的 GMP 生产要求,但考虑到其作为药物活性成分直接输入人体,相较于体外使用的基因编辑系统,其 GMP 要求应更高,因此建议符合《药品生产质量管理规范》及其相关附录的要求。

2.4 递送方式

安全有效地将基因编辑元件递送至细胞内/体内是基因编辑系统发挥作用的前提条件。目前基因编辑元件的递送方式主要有 3 类:物理递送(例如电穿孔)、化学递送(例如纳米脂质颗粒)和病毒载体递送(例如整合缺陷型慢病毒载体、腺相关病毒载体)。将 CRISPR/Cas9 复合物直接递送至胞内可以最快速地发挥作用,因为不需要胞内转录和翻译步骤。此外,这种瞬时的基因组编辑不仅可以提高编辑效率,还可以减少脱靶效应、插入突变和免疫应答^[12]。通常采用电穿孔技术进行 CRISPR/Cas9 复合物的直接递送,电穿孔技术通过电脉冲干扰细胞膜的磷脂双分子层,在细胞膜上产生临时的纳米孔,暂时增加细胞膜的通透性,使 CRISPR/Cas9 复合物、Cas9 蛋白、核酸等通过纳米孔进入靶细胞的细胞质^[12]。然而,电穿孔过程中的高电压脉冲通常会导致大量的细胞死亡。纳米脂质颗粒作为经典的化学递送系统,已被广泛研究。纳米脂质颗粒是由脂质双层膜组成的球形结构,使用脂质体为基础的试剂在水溶液中合成。带正电荷的脂质体包被带负电荷的核酸形成复合物,通过内吞作用跨细胞膜融合进入细胞^[13]。纳米脂质颗粒既可以用于体外递送,也可以用于体内递送,它可以保护基因编辑元件不被过早降解,并将其递送至目标组织。可递送的基因编辑元件形式包括质粒、mRNA 和 CRISPR/Cas9 复合物等^[14]。尽管如此,由于缺乏细胞靶向性,目前纳米脂质颗粒不能递送至所有类型的细胞,同时还可能存在免疫原性。病毒载体因其递送的高效性而被广泛应用于先进治疗药品中,目前用于递送基因编辑元件的病毒载体主要是腺相关病毒和慢病毒载体。腺相关病毒载体免疫原性较低,且不会将目的基因整合至宿主细胞基因组,但其装载能力较小(约 4.5 kb),所以可能需要将基因编辑元件装载于多个载体或者开发较小的 Cas 蛋白,使得 Cas 蛋白基因能与 sgRNA 共同装载于同

一腺相关病毒载体^[7]。相较于腺相关病毒载体,慢病毒载体的装载能力较大(约 9 kb),且能将目的基因整合至细胞基因组造成目的基因的持久性表达^[15]。在用来递送基因编辑元件时,经常将慢病毒载体的整合酶基因及其相关元件进行改造,使其丧失整合能力的同时保留感染性^[16]。

申请人应根据预期目的选择合适的体内或体外递送方式,需要考虑的方面包括但不限于递送载量、递送效率和特异性、基因编辑元件的持续时间等。此外,还需考虑递送系统对产品的免疫原性、表达活性和载体稳定性的影响。对于递送材料/介质与核酸组成的递送系统,还需考虑系统的核酸保护作用、递送效率、胞内核酸释放功能、递送系统的稳定性,以及递送系统的工艺稳健性和质量变化等^[8]。

2.5 基因编辑系统的使用和风险控制

基因编辑系统的使用方面,首先需要研究基因编辑用酶(例如 Cas9 核酸酶)与靶向序列(例如 sgRNA)的配比、使用浓度与编辑效率、脱靶之间的关系,合理控制基因编辑用酶和靶向序列的用量和比例,在确保有效编辑的同时,可将脱靶的风险降至最低。用于体外基因编辑时,基因编辑用酶和靶向序列可能在细胞内会被降解,鉴于不同类型的细胞在降解速率上存在差异,且基因编辑用酶和靶向序列在胞内可能导致蓄积残留、持续脱靶效应,建议在适当的工艺阶段和细胞终产品中对胞内残留的基因编辑用酶和靶向序列进行检测,以了解生产工艺对基因编辑元件残留的去除水平和终产品中的残留情况。用于体内基因编辑时,还应考虑基因编辑用酶在目的细胞内的持续表达所带来的脱靶风险、编辑酶残留对基因组稳定性和细胞毒性的影响,关注游离的或非靶向的基因编辑元件对体内其他非目的细胞的潜在影响和风险。

由于基因编辑系统的组成部分来源于细菌,宿主免疫可以引发针对这些成分的免疫反应^[7]。因此,用于体外基因编辑时,建议研究生产工艺对基因编辑系统的去除能力以及终产品中的残留,将可能导致的免疫原性降至最低。用于体内基因编辑时,应从基因编辑系统的设计、递送系统的选择阶段开始考虑,尽量降低游离的基因编辑元件水平,确保递送系统的靶向性和基因表达的有效性,还应考虑基因持续表达的必要性和安全性风险,关注核酸类型和结构与其体内表达持续时间是否相适应。

此外,基因组重排、基因组突变和大片段丢失等也是基因编辑系统可能导致的风险,进行多靶点编辑时应尤其注意。对于体外使用的基因编辑系统,还可能会出现多步使用或与其他基因修饰系统(例如慢病毒载体、转座子等)联用的情况,这时需要对它们的使用步骤进行研究,因为不同的使用步骤可能会影响其编辑效率、转导效率、整合和脱靶等。同时,建议进行额外的检测以确保产品的安全性。

活性检测方法的开发,对于基因编辑系统或者其体外编辑细胞活性的全面评估至关重要。对于体内使用的基因编辑系统,早期研发阶段应提供基因编辑效率的效价测定数据。对于经基因编辑的体外细胞,建议对编辑效率和基因编辑的细胞总数进行评估^[17]。随着研究的深入,还应对基因编辑位点的编辑类型进行分析。上市阶段的效价分析应能涵盖对下游生物学效应的评估,尽可能采用靶细胞或组织进行效价测定。对于体外编辑的细胞,开发效价检测时应同时结合细胞本身特性和编辑产生的下游生物学效应^[1]。在某些情况下替代的效价测试是可以接受的,但需提供数据以支持替代效价检测结果与基因编辑生物学效应之间的相关性。

基因编辑系统的风险主要包括脱靶导致的风险及基因编辑系统残留风险,应对其进行全面的安全性评估。脱靶效应可能取决于基因编辑工具的效率、递送方式、DNA 靶点、细胞类型和分化阶段、染色体结构和给药策略等^[17]。在评估脱靶风险时,应说明所选择的评价策略的合理性和全面性。建议采用包括全基因组分析在内的多种分析方法,以减少识别潜在脱靶位点时的偏倚,采用高灵敏度的方法来检测低频脱靶事件,确保对照组设置的合理性、结果的可解释性及其对预期用途的适用性。对基因组完整性进行评估,关注染色体异常、插入或缺失,以及潜在的致癌性或插入突变,评估编辑细胞的克隆扩增和/或不受调节的增殖。此外,在评估脱靶活性时,还应评估种属特异性的差异、细胞病理生理状态的差异或细胞类型的差异对非临床数据预测性的影响。必要时,还应分析基因编辑对细胞表型和生理功能的潜在影响^[18]。基因编辑系统的残留风险评估,应包括基因编辑元件及其表达转基因的免疫原性。此外,需要通过长期随访观察迟发性不良反应的风险,建议观察 15 年或直至数据表明不再存在风险^[19]。

3 总结和展望

基因编辑系统已被广泛应用于先进治疗药品的开发,在离体和体内基因编辑领域均取得了重要进展。本文基于相关指导原则和审评实践,对基因编辑系统的药学研究提出了当前的考量。无论基因编辑系统的来源如何,均应遵循相同的技术要求和质量控制原则,申请人承担主体责任。药学研究应遵循阶段性和渐进性原则,研究水平应与其研发阶段相匹配,需根据编辑靶点和编辑类型进行上游设计,并根据递送效率和特异性等选择合适的递送系统。生产和质量控制方面,应与同类型的生物制品或化学合成产品的要求保持一致。基因编辑元件的 GMP 级别因地区而异,建议符合《药品生产质量管理规范》及其相关附录的要求。在使用时,应对基因编辑元件的用量、配比等进行研究,在达到预期编辑效果的同时尽可能降低脱靶效应。当涉及多步使用或者与其他基因修饰系统联用时,还需对使用步骤进行相应的研究。基因编辑药品在早期研发阶段应提供基因编辑效率的测定数据,上市阶段的效价分析应能涵盖对下游生物学效应的评估。基因编辑系统的风险主要包括脱靶风险及基因编辑系统残留风险,应采用多种分析方法检测脱靶,并对基因组完整性进行评估,基因编辑系统残留应同时考虑基因编辑元件及其转基因的免疫原性。尽管基因编辑技术已经应用于遗传疾病领域,但由于基因编辑工具的局限性,在其他疾病领域的应用仍然处于起步阶段。目前基因编辑工具的应用主要受限于基因编辑元件和递送系统,因此这两方面也是未来的发展重点。基因编辑工具需要不断进行优化,以提高其安全性、编辑效率、特异性或稳定性。基因编辑元件方面的进展包括不进行双链切割的碱基编辑器和先导编辑器、进行 RNA 编辑的 RNA 编辑器、高保真度的 Cas 蛋白、对 sgRNA 进行修饰、减少 Cas 酶的大小等^[20]。随着人工智能(Artificial Intelligence, AI)的普及和应用,AI 在蛋白和导向序列设计、脱靶位点计算预测和编辑结果方面取得的重大进展,势必会加速基因编辑工具的发展和应用^[21]。高效、精准地将基因编辑元件递送到靶细胞或器官仍然是基因组编辑的最重要限制因素。目前的递送方式以物理递送、化学递送和病毒载体递送为主,虽然目前在临床上均有应用,但其递送的靶向性、递送效率和安全性等仍存在很大的改进空

间。新的递送技术,例如组织特异性靶向的新型纳米脂质颗粒、人工合成的病毒样颗粒、细胞外囊泡或外泌体等也逐渐兴起,尽管这些技术前景广阔,但它们的细胞毒性、脱靶效应和免疫原性等特性仍需在多种细胞类型和组织中进行严格评估^[22]。在基因编辑工具和递送系统不断发展的同时,脱靶检测技术也在持续进步^[23],这将促进基因编辑技术在癌症治疗、自身免疫疾病及病毒感染性疾病等多个领域的应用,提高患者对基因编辑药品的可及性。

参考文献:

- [1] FDA. Human Gene Therapy Products Incorporating Human Genome Editing [EB/OL]. (2024-03-05)[2024-12-09]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/human-gene-therapy-products-incorporating-human-genome-editing>.
- [2] Hoy SM. Exagamglogene Autotemcel: First Approval[J]. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2024, 28: 133-139.
- [3] Parums DV. Editorial: First Regulatory Approvals for CRISPR-Cas9 Therapeutic Gene Editing for Sickle Cell Disease and Transfusion-Dependent β -Thalassemia[J]. *Med Sci Monit*, 2024, 30: e944204.
- [4] Zheng Y, Li Y, Zhou K, et al. Precise Genome-Editing in Human Diseases: Mechanisms, Strategies and Applications[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9(1): 47.
- [5] 国家药品监督管理局药品审评中心. 体外基因修饰系统药学研究与评价技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2022-05-26)[2024-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/6f14372f020446361601bb074a09410d>.
- [6] 徐隆昌. 外周血来源的通用型 CAR-T 细胞产品研究进展和审评考虑[J]. *中国新药杂志*, 2022, 31(21): 2159-2164.
- [7] Mengstie MA, Wondimu BZ. Mechanism and Applications of CRISPR/Cas-9-Mediated Genome Editing[J]. *Biologics: Targets and Therapy*, 2021, 15: 353-361.
- [8] 国家药品监督管理局药品审评中心. 体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2022-05-26)[2024-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c0ec5e347ba84df67bf75e15f>

- 6ad3f3f.
- [9] EMA. Questions and Answers on The Principles of GMP for The Manufacturing of Starting Materials of Biological Origin Used to Transfer Genetic Material for The Manufacturing of ATMPs [EB/OL]. (2021-02-24) [2024-12-10]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-and-answers-principles-gmp-manufacturing-starting-materials-biological-origin-used-transfer-genetic-material-manufacturing-atmps_en.pdf.
- [10] EMA. New Guidelines on Good Manufacturing Practices for Advanced Therapies [EB/OL]. (2017-11-24)[2024-12-10]. <https://www.ema.europa.eu/en/news/new-guidelines-good-manufacturing-practices-advanced-therapies>.
- [11] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 细胞治疗产品生产质量管理指南(试行)[EB/OL]. (2022-10-28) [2024-12-10]. <https://www.cfdi.org.cn/resource/news/14938.html>.
- [12] Zhang S, Shen J, Li D, et al. Strategies in The Delivery of Cas9 Ribonucleoprotein for CRISPR/Cas9 Genome Editing[J]. *Theranostics*, 2021, 11(2): 614-648.
- [13] Duan L, Ouyang K, Xu X, et al. Nanoparticle Delivery of CRISPR/Cas9 for Genome Editing[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 673286.
- [14] Walther J, Porente D, Wilbie D, et al. Comparative Analysis of Lipid Nanoparticle-Mediated Delivery of CRISPR-Cas9 RNP Versus mRNA/sgRNA for Gene Editing *in Vitro* and *in Vivo*[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2024, 196: 114207.
- [15] Bulcha JT, Wang Y, Ma H, et al. Viral Vector Platforms within the Gene Therapy Landscape[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 53.
- [16] Gurumoorthy N, Nordin F, Tye GJ, et al. Non-Integrating Lentiviral Vectors in Clinical Applications: A Glance Through[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(1): 107.
- [17] Niazi SK. Gene Editing: The Regulatory Perspective[J]. *Encyclopedia*, 2023, 3(4): 1345-1357.
- [18] 国家药品监督管理局药品审评中心. 基因治疗产品非临床研究评价技术指导原则(试行)、基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2021-11-30) [2024-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/41bc557bec23a6ebfb0e148cc989f041>.
- [19] 国家药品监督管理局药品审评中心. 基因治疗产品长期随访临床研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2021-12-01) [2024-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c9de887410ddcc291ce5a1c039a241c6>.
- [20] Aljabali AAA, El-Tanani M, Tambuwala MM. Principles of CRISPR-Cas9 Technology: Advancements in Genome Editing and Emerging Trends in Drug Delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2024, 92: 114207.
- [21] Pacesa M, Pelea O, Jinek M. Past, Present, and Future of CRISPR Genome Editing Technologies[J]. *Cell*, 2024, 187(5): 1076-1100.
- [22] Wang JY, Doudna JA. CRISPR Technology: A Decade of Genome Editing is Only The Beginning[J]. *Science*, 2023, 379(6629): eadd8643.
- [23] Guo C, Ma X, Gao F, et al. Off-target Effects in CRISPR/Cas9 Gene Editing[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1143157.

(收稿日期 2024 年 12 月 16 日 编辑 李亚徽)