

基因治疗—— 从根治愈，未来已来

——2022 基因治疗行业研究报告

核心观点

一、基因治疗，从根治愈，前景广阔

基因治疗，从根治愈，刚需强烈。适应症以罕见病为主，面临巨大的未满足临床需求。

相比于传统药物，基因治疗兼具临床+研发优势。临床优势：直接针对 DNA 治疗，无“不可成药”靶点的困境。研发优势：核酸序列的合成难度更低。

政策助力，资本狂热，前景广阔。全球 CGT 投融资总额从 2014 年约 50 亿美元快速增长至 2021 年约 230 亿美元；预计 2025 年全球及中国规模达 305.4 亿美元和 178.9 亿元，2020-2025 年 CAGR 高达 71.2%和 276.0%。

二、基因治疗有效治愈罕见病，病毒载体是基因治疗的关键钥匙

基因增补技术相对成熟。已有 6 款产品获 FDA/EMA 批准上市。在研管线非常丰富，海外不少产品已进入拟上市/BLA 阶段，国内整体进展较慢，适应症集中于眼科遗传病及血友病。国内外在研管线以体内途径为主，且基于 AAV 载体；体外途径较少，大多基于 LV 载体。

基因编辑“功能强大”+“定向精准”，2020 年获“诺奖”的 CRISPR 引领革命性突破。基因编辑可实现“基因敲除”和“基因插入”，且“定向精准”编辑目标位点。CRISPR/Cas9 核心优势在定位方式，sgRNA 的合成较蛋白容易，因此高效便捷、成本低廉。海外管线基本由“三巨头”包揽，进展最快 CRISPR 的 CTX001 预计 2022 年底提交 BLA。国内管线仍处于临床早期。

病毒载体是基因治疗的关键钥匙，其中 AAV 以安全性优势最为广泛使用。重组病毒的关键优势在于天然转导效率高。AAV 核心优势：安全性，不整合宿主基因组避免致癌风险，天然 AAV 血清型提供组织靶向特异性。

三、CGT CDMO 解决病毒载体规模化生产的瓶颈，助推基因治疗商业化进程

基因治疗产业链的上游主导病毒载体的生产，是商业化的核心。基因治疗产品定价高昂，病毒载体占 1/3 研发成本，因此控制病毒载体的生产成本是终端产品合理定价的关键。

病毒载体的规模化生产面临诸多工艺+资金壁垒，产能极度短缺。病毒载体的生产涉及多项工艺，步骤繁琐。为建立符合 cGMP 标准的厂房及设备，需重资产投入（数亿美元）。CGT CDMO 全球平均等待时间甚至长达 2 年，当前产能缺口至少在 1-2 个数量级。

CGT CDMO 解决病毒载体的生产瓶颈，产业链上必不可少的参与者。CGT CDMO 降本增效，其生产外包渗透率 65%远高于传统药物的 35%。

四、三维度剖析基因治疗的挑战及趋势展望（技术+生产+商业化）

基因治疗面临技术&生产&商业化的多重挑战。(1) 技术挑战：递送载体的技术挑战包括转导效率、靶向组织特异性、AAV 载体容量以及免疫障碍，基因编辑最关键的技术挑战是脱靶效应引发安全性问题。(2) 生产瓶颈：如何减少转染所需质粒，如何提高细胞培养密度，如何去除空壳病毒等。(3) 商业化挑战：罕见病患者基数少，商业化定价极其高昂。

从技术&生产&商业化维度，展望基因治疗发展趋势。(1) 技术趋势：递送载体维度，“基因表达盒工程”和“衣壳工程”等，提高安全性+有效性+耐久性；基因编辑维度，改造 Cas 蛋白或 sgRNA 序列降低脱靶概率。(2) 生产优化趋势：“稳定转染+悬浮培养”，降成本+扩产能。(3) 商业化趋势：从罕见病拓展至常见病，实现“单次治疗”；保险支付体系日趋完善。

目录

1 基因治疗，从根治愈，前景广阔.....	6
1.1 基因治疗，从根治愈，兼具临床优势&研发优势.....	6
1.1.1 基因治疗从根治愈，刚需强烈.....	6
1.1.2 基因治疗包括基因增补和基因编辑两种技术路径.....	7
1.1.3 相比于传统药物，基因治疗兼具临床优势及研发优势.....	9
1.2 曲折中前行，基因治疗未来已来.....	10
1.3 政策助力，资本狂热，基因治疗前景广阔.....	13
1.3.1 政策助力基因治疗领域健康发展.....	13
1.3.2 基因治疗领域资本狂热.....	15
1.3.3 基因治疗飞速发展，前景广阔.....	18
2 基因治疗有效治愈罕见病，病毒载体是基因治疗的关键钥匙.....	20
2.1 两大技术路径：基因增补相对成熟，基因编辑“功能强大”+“定向精准”.....	20
2.1.1 基因增补技术相对成熟，已有数款上市产品.....	20
2.1.2 基因编辑技术定向精准，功能强大.....	27
2.2 基因治疗的递送方式.....	41
2.2.1 病毒载体是基因治疗的关键钥匙.....	42
2.2.2 AAV 是最常用的病毒载体.....	42
3 CGT CDMO 解决病毒载体规模化生产的瓶颈，助推商业化进程.....	50
3.1 基因治疗产业链的上游主导病毒载体的生产，是基因治疗商业化的核心.....	50
3.2 病毒载体的规模化生产存在诸多壁垒，产能极度短缺.....	52
3.3 CGT CDMO 解决病毒载体的生产瓶颈，产业链上必不可少的参与者.....	54
4 三维度剖析基因治疗的挑战及趋势展望（技术+生产+商业化）.....	57
4.1 基因治疗面临技术&生产&商业化的多重挑战.....	57
4.1.1 技术挑战.....	57
4.1.2 病毒载体的生产瓶颈.....	59
4.1.3 商业化困境.....	60
4.2 从技术&生产&商业化维度，展望基因治疗发展趋势.....	60
4.2.1 技术趋势，提高基因治疗的安全性、有效性及耐久性.....	60
4.2.2 病毒载体的生产优化趋势，降成本+扩产能.....	66
4.2.3 商业化趋势.....	69

图表目录

图表 1: “中心法则”为基因治疗提供理论基础	6
图表 2: 基因治疗获批药物适应症 (左图), 中国在研基因治疗药物适应症 (右图) ..	7
图表 3: 体内和体外基因治疗	8
图表 4: 基因治疗和细胞治疗的定义界定	9
图表 5: 清晰定义的基因治疗包括基因增补和基因编辑	9
图表 6: 基因治疗和传统药物的作用环节不同	10
图表 7: 基因治疗药物和传统药物的对比	10
图表 8: 全球基因治疗发展历程全览	13
图表 9: 基因治疗相关政策发布	15
图表 10: 2014-2021 年全球 CGT 领域投融资情况	15
图表 11: 国内基因治疗领域频获融资	16
图表 12: 全球基因治疗市场规模及增速	19
图表 13: 中国基因治疗市场规模及增速	19
图表 14: 当前获批上市的基因增补产品	21
图表 15: Luxturna 基因治疗产品的作用机制	22
图表 16: SMA 致病机理	23
图表 17: 海外拟上市/拟提交 BLA 的基因增补产品	24
图表 18: 海外临床 3 期的基因增补产品	25
图表 19: 国内的基因增补产品管线	27
图表 20: ZFNs (图 AB) 和 TALEN (图 CD) 基因编辑技术	29
图表 21: CRISPR/Cas9 技术原理	29
图表 22: 基因编辑技术对比	30
图表 23: 国外基因编辑产品管线	31
图表 24: BCL11A 基因 (左图), CRISPR/Cas9 在 CTX001 的作用机制 (右图)	32
图表 25: CTX001 治疗的作用机制, 通过基因编辑提高胎儿血红蛋白的表达	33
图表 26: CTX001 体外治疗过程	33
图表 27: CTX001 治疗 5 名 TDT 患者和 2 名 SCD 患者的临床结果	34
图表 28: CTX001 治疗 15 名 TDT 患者和 7 名 SCD 患者的临床结果	35
图表 29: NTLA-2001 的作用机制	38
图表 30: NTLA-2001 临床 1 期 6 名患者的临床结果	39
图表 31: NTLA-2001 临床 1 期 15 名患者的临床结果	40
图表 32: 国内基因编辑的产品管线	41
图表 33: 基因治疗的递送方式	42
图表 34: rAAV 载体转导过程	45
图表 35: 野生型和重组 AAV 图示	46
图表 36: AAV 不同血清型的组织靶向特异性不同	46
图表 37: AAV 不同血清型对相同的组织和细胞具有不同的感染效率	47
图表 38: 各种病毒载体的基本参数及优劣势对比	48
图表 39: 技术公开的基因疗法交易 (左图), 全球 CGT 临床试验载体占比 (右图) ..	49
图表 40: 采用 rAAV 临床数量激增 (左图), AAV 不同血清型的临床数量 (右图) ..	49
图表 41: 基因治疗产业链及参与企业	51

图表 42: 基因治疗药物定价极其高昂, 单位 (万美元)	52
图表 43: 基因治疗所需 AAV 数量随系统性给药呈指数级增长.....	52
图表 44: 病毒载体的生产步骤繁琐	53
图表 45: HEK293 细胞/三质粒共转染系统 (左图), 病毒载体生产成本 (右图)	53
图表 46: 病毒载体的生产各环节所需设备及试剂耗材	54
图表 47: CGT 与传统药物的研发费用对比 (百万美元)	55
图表 48: CGT 企业生产模式 (左图), CGT 企业选择 CDMO 的原因 (右图)	55
图表 49: CGT 企业更换技术意愿 (左图), CGT 企业技术更换时间 (右图)	56
图表 50: 全球 CGT CDMO 市场规模及增速	56
图表 51: 中国 CGT CDMO 市场规模及增速	56
图表 52: 影响 rAAV 基因治疗的免疫学障碍	58
图表 53: “衣壳工程”主要方式.....	61
图表 54: CRISPR/Cas9-nickase 基因编辑技术	63
图表 55: 基于 CRISPR/dCas9 的转录调控技术	63
图表 56: CRISPR/dCas9-FoKI 基因编辑技术	64
图表 57: 基于 CRISPR/dCas9 的单碱基编辑技术.....	64
图表 58: 瞬时转染和稳定转染的图示.....	66
图表 59: 瞬时转染和稳定转染的对比.....	67
图表 60: 贴壁培养和悬浮培养的细胞密度	68
图表 61: 细胞的贴壁培养与悬浮培养的对比.....	68

1 基因治疗，从根治愈，前景广阔

1.1 基因治疗，从根治愈，兼具临床优势&研发优势

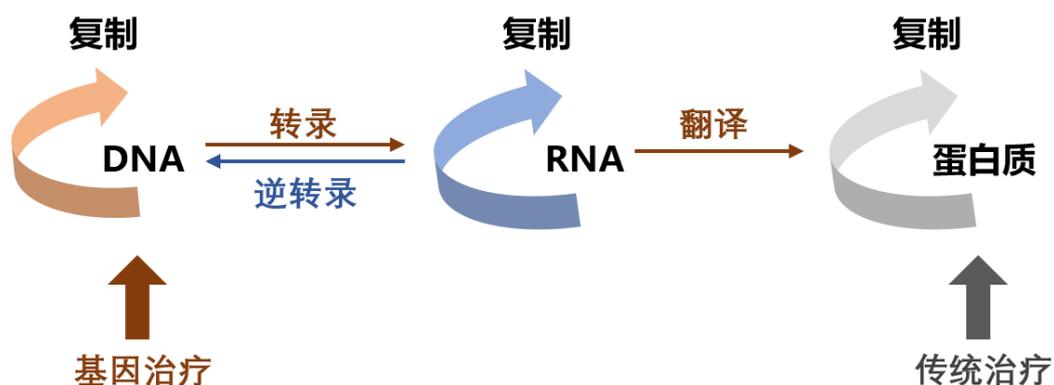
1.1.1 基因治疗从根治愈，刚需强烈

基因治疗，从根治愈。基因治疗的核心在于精准打击了疾病根源——异常 DNA，是一种根本性的治疗策略。基因治疗，通常指将正常的目标基因导入人体靶细胞，或将异常基因敲除的治疗方式，在正常基因的作用下，纠正因基因缺陷或异常引发的疾病。

基因异常包括基因指导合成的蛋白质功能异常和基因表达强度异常。根据基因变异类型的不同，导致疾病发生的基因异常大致可分为两类：（1）基因突变导致基因指导合成的蛋白质功能异常，表现为蛋白质没有功能、功能变弱或功能过强，甚至产生有害蛋白；（2）基因表达强度异常，表现为不该表达的基因表达、应该表达的基因不表达、基因表达强度过高或过低等。

“中心法则”为基因治疗手段提供理论基础。在生物体内，遗传信息沿着“DNA-RNA-蛋白质”的方向逐级传递（中心法则），蛋白质是遗传信息的表现形式，因此疾病发生时多表现为蛋白质层面的异常。根据中心法则，每一个生理过程都可以理解为特定的基因在特定的时间和空间里发生特定强度表达的结果，如果这种平衡被打破就会诱发疾病。基因治疗则是从指导蛋白质合成的根源——DNA入手，通过调控DNA来改变遗传信息传递，从而改变蛋白质的性状，实现从根源上治疗疾病。

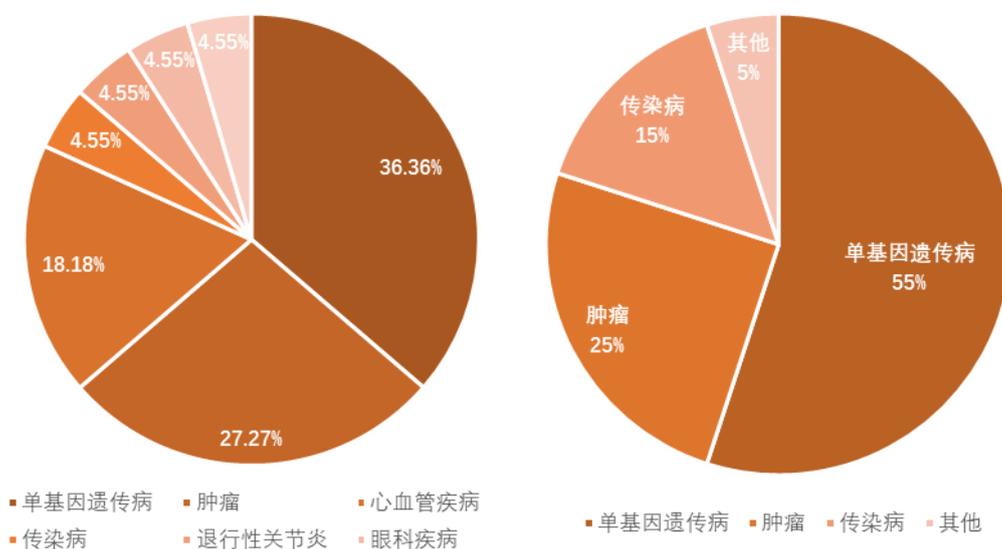
图表 1：“中心法则”为基因治疗提供理论基础



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

基因治疗刚需强烈，适应症以单基因遗传病（罕见病）为主，这类疾病的致病基因明确，同时缺乏有效的治疗手段，面临巨大的未满足临床需求。由于疾病的发生往往涉及多基因指导的庞大的蛋白质调控网络，但基础科学对人体基因功能和致病机制的研究仍非常有限。因此，目前基因治疗的应用领域多为致病机制比较明确的疾病，包括单基因遗传病（罕见病）和恶性肿瘤等。绝大多数的罕见病由遗传基因导致，罕见病种类多达 7000 余种，总人数达 3.5 亿人，超过艾滋病与癌症的患者人数。2015 年，中国罕见病患者人数 1680 万，2020 年增至 2000 万人。然而，超过 90%的罕见病缺乏有效的治疗手段，基因治疗面临着各类罕见病和遗传性疾病的未满足临床需求。当前获批的基因治疗药物的适应症以单基因遗传病（36%）、恶性肿瘤（27%）、心血管疾病（18%）为主。其中，单基因遗传病包括镰刀状贫血、血友病、地中海贫血、脊髓性肌肉萎缩症等。中国在研的基因治疗药物以单基因遗传病（55%）和恶性肿瘤（25%）为主。

图表 2：基因治疗获批药物适应症（左图），中国在研基因治疗药物适应症（右图）



资料来源：An overview of development in gene therapeutics in China, 蛋壳研究院

1.1.2 基因治疗包括基因增补和基因编辑两种技术路径

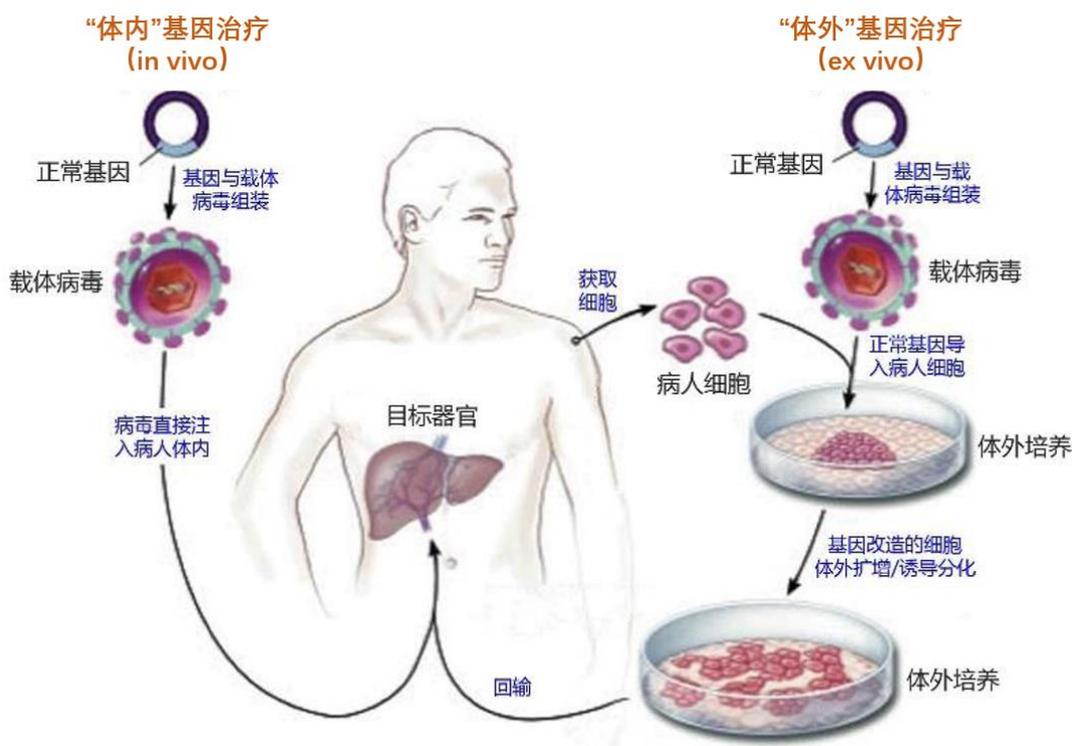
根据治疗途径，可将基因治疗划分为2类：体内基因治疗和体外基因治疗。体内基因治疗是指将携带治疗性基因的病毒/非病毒载体直接递送到患者体内；体外基因治疗则指将患者的细胞在体外进行遗传修饰后回输。

“体内”基因治疗的操作流程相对简单，但是对递送载体的要求更高，需要载体具有组织趋向性、稳定的表达能力和较低的免疫原性。具体分为 3 个步骤：（1）利用基因工程的方法将正常基因插入到病毒载体的 DNA 上；（2）将重组后的病毒 DNA 体外包装产生具有感染能力的完整工程病毒；（3）把重组后的病毒直接注入病人体内，病毒感染病变细胞并将正常基因导入靶细胞中，实现疾病的治疗。

“体外”基因治疗，相较于“体内”途径，额外涉及患者细胞层面（多为自体造血干细胞）的

体外遗传修饰，包括分离&感染&培养扩增&回输细胞等。具体分为6个步骤：（1）将正常基因插入到病毒载体的DNA上；（2）将重组后的病毒DNA体外包装产生具有感染能力的完整工程病毒；（3）获取病人的体细胞，如造血干细胞等，体外培养扩增；（4）用重组后的病毒感染获取的病人细胞，病毒把正常基因导入靶细胞中；（5）对携带正常基因的重组细胞体外培养扩增；（6）将携带正常基因的重组细胞回输到病人体内，实现疾病的治疗。

图表 3：体内和体外基因治疗



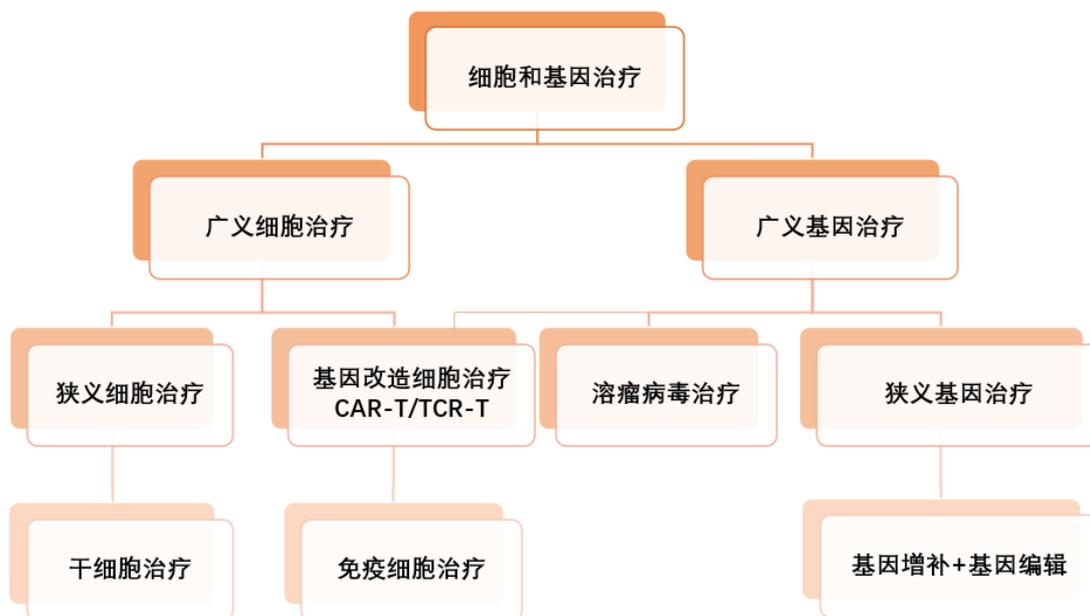
资料来源：Proceedings Biological Sciences, 蛋壳研究院

本报告清晰定义的基因治疗，是基于 DNA 层面进行的干预治疗，主要包括基因增补、基因编辑两大技术路径，不包括细胞治疗（CAR-T 等免疫细胞疗法，干细胞疗法），溶瘤病毒，小核酸药（以 RNA 为靶点）等。

(1) 基因增补：利用递送载体，将外源基因导入病变细胞，其表达产物能修饰缺陷细胞的功能或加强原有功能。基因增补是目前获批上市和临床在研阶段产品中，最主要的基因疗法技术路径。

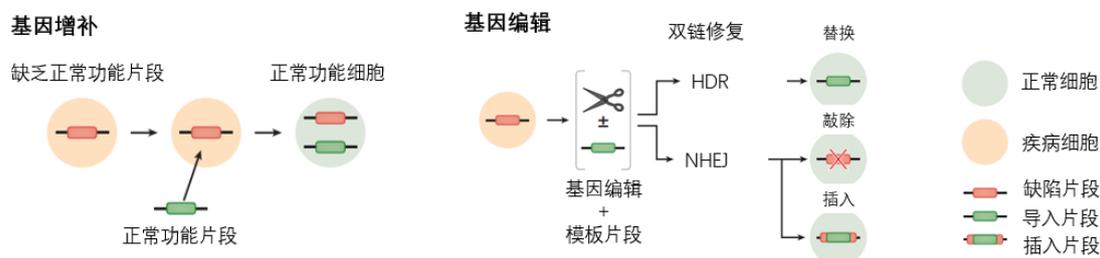
(2) 基因编辑：精确修饰特定目标基因，从而破坏有害基因或修复变异基因，包括ZFNs, TALEN以及2020年获诺贝尔化学奖的CRISPR/Cas9技术。以CRISPR/Cas9技术为例，Cas9蛋白在sgRNA的导向下，通过碱基互补配对，到达不同的靶部位，通过切割靶基因，对目标基因进行定点精确编辑，从而实现对患者原有基因组“错误”基因的改变与修正。基因编辑系统向临床的转化正处于早期阶段，目前尚无产品上市。

图表 4：基因治疗和细胞治疗的定义界定



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

图表 5：清晰定义的基因治疗包括基因增补和基因编辑

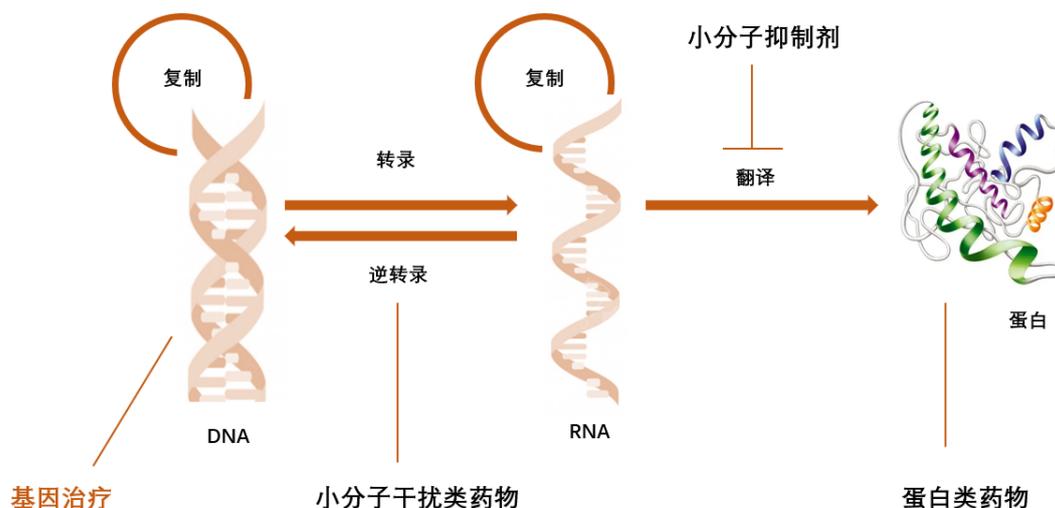


资料来源：Entering the Modern Era of Gene Therapy, 蛋壳研究院

1.1.3 相比于传统药物，基因治疗兼具临床优势及研发优势

基因治疗的临床优势，体现在 DNA 层面直接干预治疗，无需面临传统药物在蛋白质层面“不可成药”靶点的困境。目前绝大多数的药物均以蛋白质为靶点，如治疗肿瘤的小分子靶向药物和大分子单抗药物，通过改变蛋白质的功能达到治疗效果。对比传统小分子药物和抗体药物作用于蛋白质层面进行调控，基因治疗直接在 DNA 层面对致病基因进行修正，可以绕过传统药物成药性上的难点，对致病基因清晰而蛋白质水平难以成药的靶点具有独特的临床优势。

图表 6：基因治疗和传统药物的作用环节不同



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

基因治疗的研发优势，体现在一旦解决递送方式，研发难度反而较传统药物更低。无论是在体外还是体内进行基因改造，基因治疗的三大共性步骤包括：核酸序列的设计与合成、将目标序列递送至细胞中（体内或体外）和工业化生产。其中，核酸序列的设计与合成难度较小分子靶向药和单抗药物更低，因此一旦研发出一个安全高效的递送系统，基因治疗产品的研发难度反而更低、研发成功率更高。递送方式包括病毒载体和非病毒载体两大类，非病毒载体的工业化级别放大相对容易，病毒载体的规模化生产仍面临一定的瓶颈，本报告将在第二章和第三章详细阐述。

图表 7：基因治疗药物和传统药物的对比

	基因治疗药物	小分子药物	抗体药物
分子量	中，7000-14000Da	小，<500Da	大，>100000Da
作用层面	DNA	蛋白质	蛋白质
靶点数量	较多，在传统药物“不可成药”靶点潜力巨大	较多	相对较少
作用周期	较长，以月计	较短，以小时计	中等，以周计
作用类型	碱基互补配对	静电力吸附	蛋白相互作用
先导分子研发难度	较小；测序得到病变基因，据此合成治疗基因；程序设计	较大；结构选择相对盲目；高通量筛选+计算辅助优化	较小；靶蛋白特异性抗原表位；噬菌体展示+高通量测活平台

资料来源：公开信息，蛋壳研究院

1.2 曲折中前行，基因治疗未来已来

经蛋壳研究院汇总梳理，基因治疗的发展可分为初期探索、狂热发展、曲折前行、再度繁荣 4 个阶段。

初期探索 (1960-1990s)

1963年，美国分子生物学家、诺贝尔生理学或医学奖获得者 Joshua Lederberg 首次提出“基因交换和基因优化”概念，标志着基因治疗的起点。

1970年，美国医生Stanfield Rogers试图通过注射含有精氨酸酶的乳头瘤病毒来治疗一对姐妹的精氨酸血症，这是首例人体试验，试验以失败告终。

1984年，Cepko团队成功设计逆转录病毒载体系统，高效将外源基因导入哺乳动物细胞。

狂热发展 (1990-1999)

1990年，“基因治疗之父”William French Anderson医生领衔开展了全球首例针对重症联合免疫缺陷病的基因治疗，患者为一名美国4岁女孩。接受治疗后，其机体产生腺苷脱氨酶的能力有所提高，病情得到缓解，该患者目前仍然存活。

两年后又有一例基因治疗临床试验取得成功。自此，患者、医生和科学家的热情迅速被点燃，行业进入狂热发展的阶段，10年间开展了上千例临床试验。

1996年，ZFN基因编辑技术发明。

曲折前行 (1999-2012)

1999年，美国男孩Jesse Gelsinger参与了宾夕法尼亚大学的基因治疗项目，接受治疗4天后因病毒引起的强烈免疫反应导致多器官衰竭而死亡。该事件是基因治疗发展的转折点。

2003年，FDA暂时中止了所有用逆转录病毒来改造血液干细胞基因的临床试验，但经过3个月严格审核权衡后，又允许基因治疗临床试验继续进行。

2011年，TALEN基因编辑技术发明。

再度繁荣 (2012至今)

2012年，美国科学家 Jennifer Doudna 及法国科学家 Emmanuelle Charpentier 发明了CRISPR/Cas9基因编辑技术，这是基因治疗领域革命性的事件。

2012年11月，EMA批准了首款基因治疗产品，uniQure公司的 Glybera，用于治疗脂蛋白脂肪酶缺乏症 LPLD，定价高达120万美元。

2016年5月，EMA批准了第二款基因治疗产品 Strimvelis，用于治疗腺苷脱氨酶 ADA 突变导致的重度联合免疫缺陷症(ADA-SCID)，定价仍高居66.5万美元，且ADA-SCID极为罕见，每年欧洲仅新增15例患者，因此截至2017年，仅2名患者接受治疗。

2017年10月，Glybera因销售情况堪忧（由于欧盟市场患者仅150-200人，且保险尚未

完善，上市后仅1名患者接受治疗），被迫退市。

2017年12月，FDA批准了全球首款基因治疗产品 Luxturna，用于治疗双等位 RPE65 基因突变导致的2型先天性黑蒙症 LCA。**2017年被称为基因治疗“元年”。**

2018年4月，GSK将 Strimvelis 出售给 Orchard，当时仅5例患者接受了该治疗。

2019年5月，**FDA批准了诺华公司的 Zolgensma 产品**，用于治疗2岁以下的脊髓性肌肉萎缩症 SMA。Zolgensma 定价高达212.5万美元，被称为“**全球最昂贵药物**”。但销售可观，获批当年2019年销售额3.61亿美元，2020年达9.2亿美元，增速达151%。2021年销售额13.51亿美元，增速47%。2022Q1销售额3.63亿美元，增速18%。

2019年6月，**EMA有条件批准了Bluebird公司的基于慢病毒基因疗法的 Zynteglo 产品**，采用体外基因治疗途径，全球首款治疗12岁及以上的非β0/β0基因型输血依赖性β-地中海贫血(TDT)的基因疗法。该疗法首先从患者骨髓中提取造血干细胞，然后通过慢病毒将β-珠蛋白基因的功能性拷贝(βA-T87Q-globin 基因)添加到患者自身造血干细胞中，恢复血红蛋白生成功能。这也是目前全世界第二昂贵的药物，售价高达177万美元(约合1100万人民币)，仅次于诺华公司的 Zolgensma。

2020年10月，CRISPR/Cas9 基因编辑技术发明者获得诺贝尔化学奖。法籍微生物学家 Emmanuelle Charpentier 博士和美国国家科学院院士 Jennifer A. Doudna 博士获得了2020年诺贝尔化学奖，这两位女科学家共同发现了 Cas9 的切割作用和 crRNA 的定位作用，并将 crRNA 与 tracrRNA 可以融合成单链引导 RNA (sgRNA)。

2021年2月，Bluebird 公司由于参与 LentiGlobin 一期临床试验的镰刀状细胞贫血症 (SCD) 患者发生急性髓细胞白血病 (AML) 和骨髓细胞异常增生症 (MDS)，而**不得不叫停这一药物的1/2期 (HGB-206) 和3期 (HGB-210) 临床研究**。2021年3月10日，在经过了近一个月的调查后，蓝鸟生物宣布其 LentiGlobin 基因疗法“极不可能 (very unlikely)”导致接受治疗的镰状细胞病患者出现急性髓细胞白血病 (AML)，因此重新恢复临床试验。此前获批的 Zynteglo，由于使用的是 LentiGlobin 同款的慢病毒载体，也因为潜在的安全性问题而暂停销售。

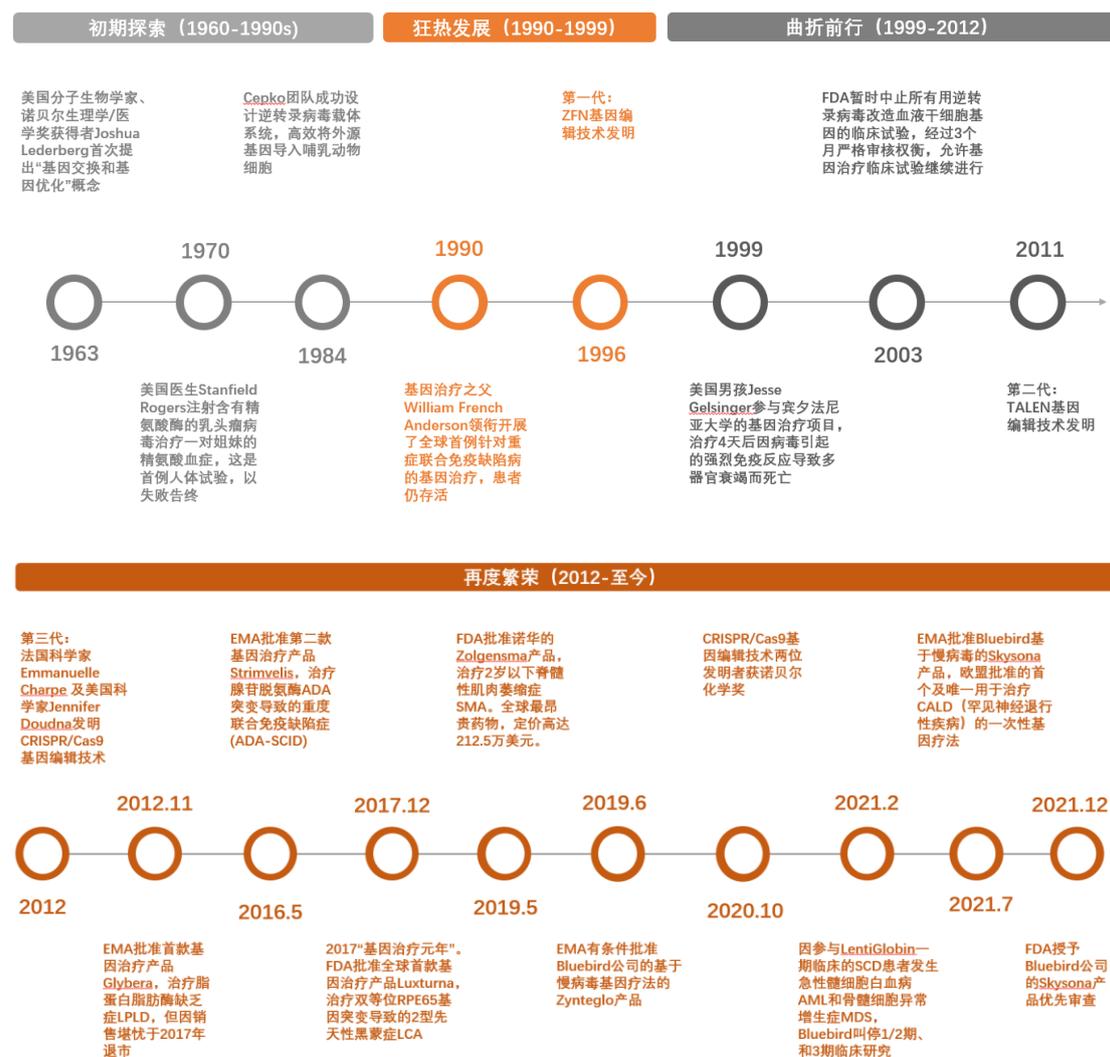
2021年7月，**EMA批准了Bluebird公司用 Lenti-D 慢病毒载体的 Skysona 产品**，是欧盟批准的首个也是唯一一个用于治疗 CALD (一种罕见的神经退行性疾病) 的一次性基因疗法。用于治疗18岁以下、携带 ABCD1 基因突变、没有 HLA 匹配的同胞造血干细胞 (HSC) 供体可用、早期脑性肾上腺脑白质营养不良症 (CALD)。Skysona 利用 Lenti-D 慢病毒载体，在体外将 ABCD1 基因的功能性拷贝导入到患者自身的造血干细胞 (HSC) 中，而不需要从外人获得供体 HSC，再输回到患者体内产生 ALD 蛋白 (ALDP)，从而促进 VLCFAs 的分解。ALDP 的表达及 Skysona 的治疗作用有望终身有效。Skysona 治疗目标是阻止 CALD 的进展，并尽可能保留神经功能，包括保留患者的运动功能和沟通能力。

2021年8月，**Bluebird 公司宣布其治疗肾上腺脑白质营养不良 (ALD) 的慢病毒基因治疗临床试验暂停**，原因是一名患者在治疗过程中出现了骨髓增生异常综合症 (MDS)，该综合征易导致白血病。此外，还有两名患者出现骨髓细胞异常，可能会发展为骨髓增生异常

综合症 (MDS)。

2021年12月，FDA 授予 Bluebird 公司的 Skysona 产品优先审查，此前 FDA 已授予 Skysona 治疗 CALD 的孤儿药资格 (ODD)、罕见儿科疾病资格 (RPDD)、突破性药物资格 (BTD)。

图表 8: 全球基因治疗发展历程全览



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

1.3 政策助力，资本狂热，基因治疗前景广阔

1.3.1 政策助力基因治疗领域健康发展

政策助力基因治疗领域健康发展。无论是“十四五”规划将基因组学研究纳入重点发展领域，罕见病相关政策红利推动疾病诊疗，还是监管政策对 CRISPR-Cas9 等基因编辑工具的具体

规范要求，都让基因治疗领域的发展更有迹可循。

2021年3月，《中华人民共和国国民经济和社会发展第十四个五年规划和2035年远景目标纲要》（“十四五”规划），将基因组学研究应用，遗传细胞和遗传育种、合成生物、生物药等技术创新列为重点发展领域。基因疗法是基因组学研究应用的核心新兴领域。

2019年2月，《罕见病诊疗指南（2019年版）》，公布第一批罕见病目录，积极探索进一步提升罕见病保障水平的可行路径。国家层面对于健康中国建设直接推动罕见病的防治，包括建立罕见病诊疗协作网、颁布首部《罕见病诊疗指南》、对罕见病药物实行减税、对临床急需孤儿药实行临床豁免等，一系列罕见病政策红利将不断提高孤儿药可及性。

2020年9月，《基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则（征求意见稿）》中，对CRISPR-Cas9的相关监管提出了专门的要求。政策摘录：“对于CRISPR-Cas9等编辑工具相关的基因治疗的产品，由于当前的认知和检测手段较为有限，研究应对此类产品进行更全面的安全性评估信息，包括编辑系统的选择，序列设计等上游构建的安全考虑，潜在脱靶位点的评估和检测数据的确认，编辑技术对细胞促瘤/成瘤的筛选风险、编辑系统组分的免疫原性等，应对潜在的风险建立相应的安全控制策略和检测方法。”

同时，近年中国政府在伦理性角度，发布的关于基因治疗生产、质控等全流程技术指导原则，体现出基因治疗生产要求的逐渐规范化以及业界对于基因治疗的理解不断深入。

2019年6月，国家药典委员会发布《人用基因治疗制品总论（公示稿）》，对基因治疗制品生产制造、产品检定、质量控制等各环节做出要求。包括生产过程中使用的菌毒种和动物细胞基质应符合《生物制品生产检定用菌毒种管理规程》和《生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程》的相关要求。使用的原材料和辅料应符合“生物制品生产用原材料及辅料质量控制规程”的相关要求等。

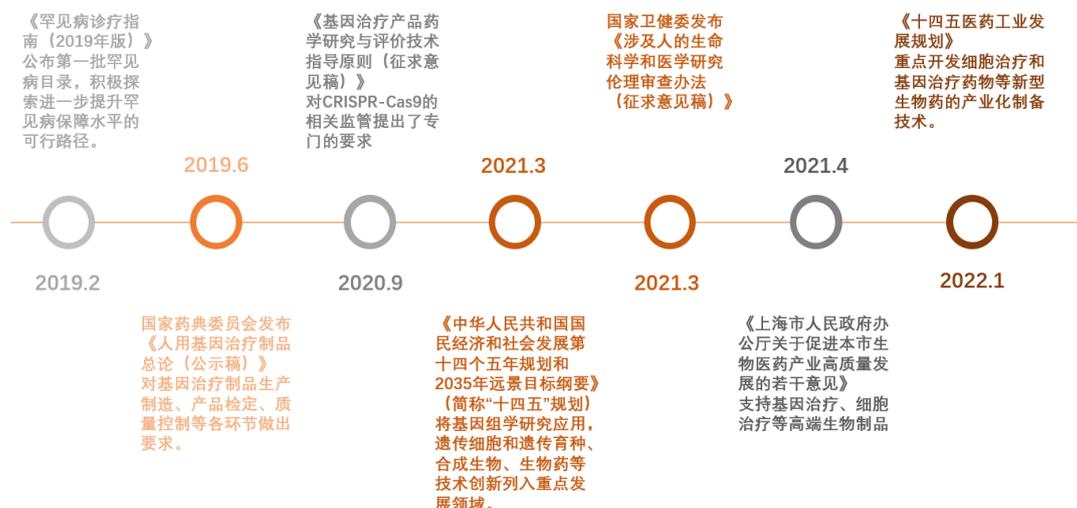
2020年9月，国家药品审批中心发布《基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则（征求意见稿）》，对基因治疗产品的生产用材料、制备工艺与过程控制、质量研究与质量控制、稳定性研究等方面提出指导意见。

2021年3月，国家卫健委发布《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法（征求意见稿）》，所有涉及人的生命科学和医学研究活动均应当接受伦理审查。

2021年4月，《上海市人民政府办公厅关于促进本市生物医药产业高质量发展的若干意见》，支持基因治疗、细胞治疗等高端生物制品；鼓励通过合同生产组织或合同研发生产组织方式，委托开展研发生产活动。

2022年1月，《十四五医药工业发展规划》，重点开发细胞治疗和基因治疗药物等新型生物药的产业化制备技术。

图表 9：基因治疗相关政策发布

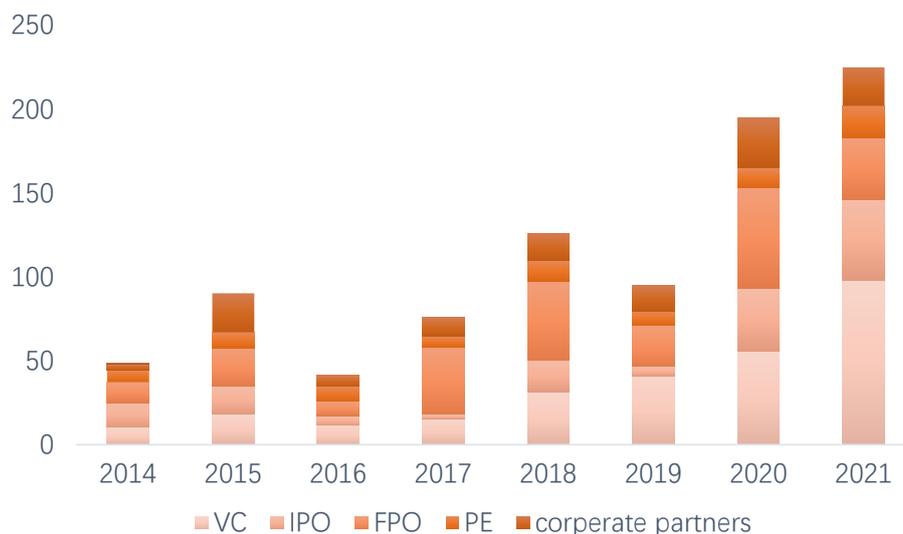


资料来源：公开信息，蛋壳研究院

1.3.2 基因治疗领域资本狂热

全球细胞与基因治疗投融资火热。随着 2017 年 FDA 批准 Luxturna, Kymriah 和 Yescarta 以来，CGT 行业的快速发展吸引了大量资本的流入，据 alliancerm 披露，全球 CGT 领域投融资总额从 2014 年约 50 亿美元快速增长至 2021 年的约 230 亿美金。

图表 10：2014-2021 年全球 CGT 领域投融资情况



资料来源：alliancerm 官网，蛋壳研究院

国内基因治疗领域多家企业频获融资，助推创新发展。无论是基因治疗药物研发的基因增补还是基因编辑领域，近年多家企业获得大额融资。例如武汉纽福斯生物，杭州嘉因生物，至善唯新，博雅辑因，瑞风生物，辉大基因，正序生物，锐正基因等，单轮即获亿元融资，另外，朗信生物累计获数亿元融资。同时，近年为 CGT 提供 CDMO 服务的企业也融资频繁，例如 2022 年 3 月 22 日科创板上市的和元生物，以及金斯瑞，宜明细胞，派真生物等，均获单轮数亿元融资。

图表 11：国内基因治疗领域频获融资

细分领域	企业名称	融资轮次	融资时间	融资金额	投资方
基因增补	纽福斯生物	C轮	2021-11-22	4亿人民币	招银国际、国投招商、红杉资本中国基金、阳光人寿
		B轮	2021-02-09	4亿人民币	惠远资本、国方资本、园丰资本、红杉资本中国基金、晟富华新投资、元禾控股、北极光创投
		A轮	2020-04-08	1.3亿人民币	红杉资本中国基金、复星星未来、北极光创投
		股权融资	2019-12-17	未披露	复星医药
		天使轮	2018-04-03	未披露	薄荷天使基金、奇迹之光基金、北极光创投
	信念医药	Pre-A轮	2020-06-12	未披露	双湖资本
		天使轮	2019-06-21	未披露	成都市贝瑞和康基因技术股份有限公司, 夏尔巴, 北极光创投
		未公开	2018-06-19	7000万人民币	夏尔巴投资、极创金源、贝瑞和康
	天泽云泰	Pre-A轮	2021-10-15	未披露	正心谷创新资本, IDG资本, 济峰资本, 高瓴创投, 上海临港蓝湾私募基金管理, 苏州千骥康睿投资中心(有限合伙), 上海泰泽中汇生物科技合伙企业(有限合伙)
		天使轮	2020-07-16	未披露	IDG资本, 杏泽资本
	嘉因生物	B++轮	2021-06-05	数千万美元	Temasek、博远资本、清池资本、CPE源峰、高瓴资本、济峰资本
		B+轮	2021-02-02	数千万美元	洲嶺资本、君联资本、凯泰资本、高瓴创投、博远资本、险峰旗云
		B轮	2020-08-03	数千万美元	君联资本、凯泰资本、泰福资本、博远资本、险峰旗云
		A轮	2019-08-31	1000万美元	凯泰资本、联想之星、险峰旗云
	北京中因	A轮	2022-03-25	1亿人民币	华医资本、盈科资本、龙磐资本、隼赐投资
		Pre-A轮	2020-12-28	7000万人民币	荷塘创投领投, 隆门资本、云石环球、普华资本、苇渡资本跟投
		天使轮	2019-03-06	1000万人民币	同创伟业领投, 普华资本、奇伦创投、首科开阳基金等跟投
种子轮		2018-07-20	未披露	海创菁英	
至善唯新	A轮	2021-02-09	数亿人民币	晨兴创投、正心谷创新资本、德联资本、磊梅瑞斯资本、君实生物、四川人才基金	
	天使轮	2018-11-28	数千万人民币	天府国际、生物城投资、Korea Investment Partners、四川双创基金	
新泰达	股权投资	2020-01-08	1.1亿人民币	灌浆岛	

基因编辑	博雅辑因	B+轮	2021-04-21	4亿人民币	夏尔巴投资、博远资本、昆仑资本、正心谷创新资本、雅惠投资、红杉资本中国基金、IDG资本、礼来亚洲基金、华盖资本、三正健康投资
		B轮	2020-10-13	4.5亿人民币	雅惠投资、红杉资本中国基金、IDG资本、松禾资本、礼来亚洲基金、华盖资本、三正健康投资、昆仑互联网智能基金
		Pre-B轮	2019-09-17	8150万人民币	IDG资本、礼来亚洲基金
		Pre-B轮	2019-02-11	7000万人民币	IDG资本、松禾资本、礼来亚洲基金
		Pre-B轮	2018-08-13	1亿人民币	礼来亚洲基金领投，华盖资本、IDG资本、美国中经合集团、龚虹嘉、嘉道谷投资、海松医疗基金跟投
	本导基因	A轮	2021-04-12	6000万人民币	华控基金、恩然创投、Emerging Technology Partners、隆门资本、英诺天使基金
		Pre-A轮	2020-03-09	1000万人民币	凯旋创投
		天使轮	2019-06-26	未披露	赛赋医药研究院
	瑞风生物	A+轮	2021-09-13	数亿人民币	光大控股、博远资本、元生创投、招商证券、创新工场
		A轮	2020-11-02	近亿人民币	雅惠投资领投，联想之星、联想控股、苇渡资本跟投
		Pre-A轮	2020-01-19	未透露	联想控股
		天使轮	2019-01-01	未透露	联想之星
	辉大基因	C轮	2022-05-12	数亿人民币	夏尔巴投资，辰德资本，昆仑资本
		B轮	2021-05-17	4亿人民币	未披露
		A轮	2019-12-02	1亿人民币	夏尔巴投资、药明康德、雅惠投资、惠每资本、辰德资本
		天使轮	2018-11-01	3000万人民币	夏尔巴投资
	克睿基因	B轮	2022-01-05	6000万美元	启明创投、蓝海资本、尚城资本、元禾控股
		Pre-B轮	2020-11-23	未透露	岚湖资本、清松资本
		A+轮	2020-04-03	数千万人民币	聚明创投、元禾控股
		A轮	2018-08-06	1700万人民币	清松资本、启明创投、盛鼎投资
天使轮		2016-12-22	未透露	国寿尚信资本、东土盛唐	
邦耀生物	A轮	2020-05-19	未披露	东方富海，歌斐资产	
	Pre-A轮	2018-06-14	未披露	华润医药	
	天使轮	2016-06-21	未披露	东方富海，紫竹小苗基金，德宝股权投资，上海通锐投资管理	
正序生物	A轮	2021-11-08	3亿人民币	泰福资本、红杉资本、中国基金、博裕投资顾问有限公司、礼来亚洲基金、万物资本、联新资本	
	天使轮	2020-12-30	4000万人民币	泰福资本、红杉资本中国基金、万物资本、联新资本	
锐正基因	种子轮	2021-09-09	数千万美元	Cormorant Asset Management、君联资本	

CGT CDMO	和元生物	IPO	2022-03-22	13.23亿人民币	公开发行
		C+轮	2020-12-07	未披露	腾讯投资
		C轮	2020-09-23	3亿人民币	正心谷资本、晨兴集团、临港科创投、夏尔巴资本、昆仑资本、金浦投资、博远资本
		Pre-C轮	2020-07-07	2亿人民币	倚锋资本、正心谷创新资本、浦东科创、张江科技、金浦投资、盛山资产、乔贝创投、复容投资、丰航投资
		B+轮	2020-03-06	1亿人民币	金浦投资, 华睿投资, 倚锋资本
		新三板定增	2017-10-25	2100万人民币	上海张江科技创业投资有限公司, 中信证券, 国金证券, 东北证券, 招商证券, 华睿投资, 个人投资者
		新三板	2016-12-16	未披露	公开发行
	金斯瑞	A轮	2015-05-20	2000万人民币	华睿投资, 海越创投
		IPO	2015-12-30	6.03亿港元	公开发行
	宜明细胞	天使轮	2009-06-01	1500万美元	贝祥投资集团、KPCB凯鹏华盈中国
		B轮	2021-09-16	2亿人民币	IDG资本、毅达资本、中关村启航基金、方富资本、同创伟业、聚明创投、华盖资本
		A轮	2020-12-16	1.2亿人民币	中关村启航基金、方富资本、同创伟业、聚明创投、华盖资本
	派真生物	天使轮	2019-10-21	1000万人民币	同创伟业、奇轮天佑
		Pre-C轮	2021-04-07	数亿人民币	招银国际、凯泰资本、凯辉基金、广州聚观股权、红杉资本、中国基金、元禾原点、德诚资本
		B+轮	2020-10-24	未透露	凯辉基金、红杉资本中国基金、元禾原点、德诚资本
		B轮	2020-08-12	数千万人民币	凯辉基金、元禾原点
		A轮	2020-03-09	未透露	腾业创投
	Pre-A轮	2019-07-26	未透露	凯泰资本	

资料来源：动脉橙数据库，公开信息，蛋壳研究院

1.3.3 基因治疗飞速发展，前景广阔

全球基因治疗市场规模：根据Frost & Sullivan数据与预测，2020年全球基因治疗市场规模达20.8亿美元，2016-2020年CAGR为153.3%，预计到2025年全球基因治疗市场规模将达到305.4亿美元，2020-2025年CAGR高达71.2%。

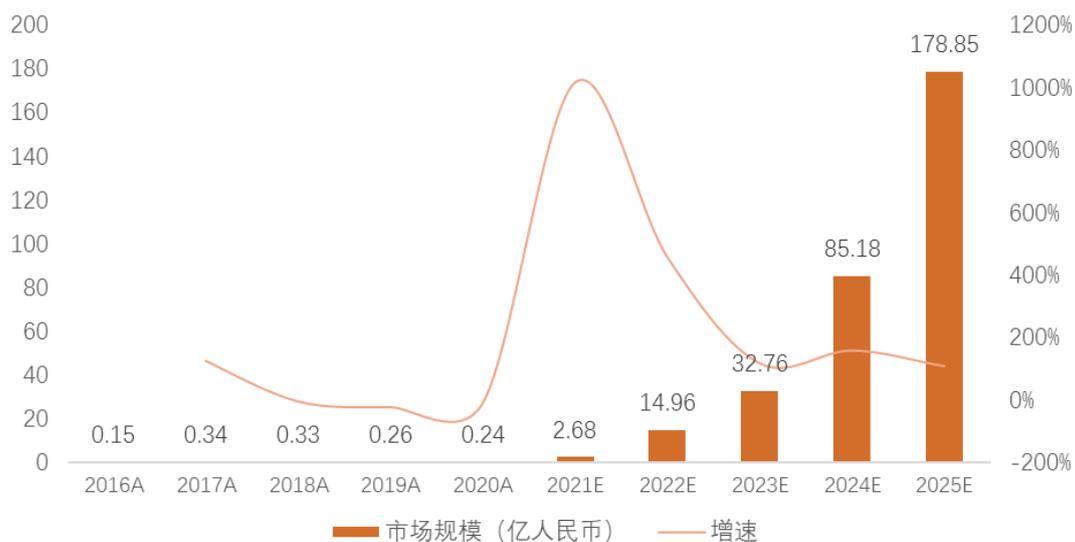
中国基因治疗市场规模：根据Frost & Sullivan数据与预测，2020年中国基因治疗市场规模为2380万元，2016-2020年CAGR仅为12.2%。随着近年来国内CGT临床试验的大量开展、基因治疗产品的陆续获批上市及相关产业政策支持，预计中国基因治疗市场规模将迅速扩大，到2025年将达到178.9亿元，2020-2025年CAGR达276.0%。

图表 12: 全球基因治疗市场规模及增速



资料来源: Frost & Sullivan, 蛋壳研究院

图表 13: 中国基因治疗市场规模及增速



资料来源: Frost & Sullivan, 蛋壳研究院

2 基因治疗有效治愈罕见病，病毒载体是基因治疗的关键钥匙

2.1 两大技术路径：基因增补相对成熟，基因编辑“功能强大”+“定向精准”

我们在第一章已经对基因治疗进行了清晰的定义，包括基因增补和基因编辑两大技术路径。从之前基因治疗发展历程的梳理中，我们发现，**2012年，当EMA已经批准首款基因治疗产品 Glybera 之际，CRISPR/Cas9 基因编辑技术才刚刚诞生。**目前，基因增补技术相对成熟，已有6款产品获FDA/EMA批准上市，为罕见病患者的治疗提供希望，在研管线也非常丰富，海外不少产品已进入拟上市/上市申请或临床后期阶段。基因编辑，作为定向精准且功能更为强大的技术，目前向临床的转化大多处于早期阶段，尚无产品上市，但多个临床试验正在进行中，且临床效果不错。长远来看，基因编辑在未来十年将迎来更加快速的发展，逐步也将有产品上市。

2.1.1 基因增补技术相对成熟，已有数款上市产品

目前获批的基因治疗产品集中在罕见病领域。从2012年至2021年，FDA批准了2款产品，EMA批准了6款产品（2款是FDA先批准）。

FDA批准了2款产品，均基于腺相关病毒 AAV 载体。2017年批准的 Spark 公司的 Luxturna 产品，用于治疗双等位 RPE65 基因突变导致的2型先天性黑蒙症 LCA，以及2019年批准的诺华的 Zolgensma 产品，用于治疗2岁以下的脊髓性肌肉萎缩症 SMA。

EMA批准了6款产品。除了FDA率先批准的上述两款产品，还有2012年批准的 uniQure 公司的 Glybera 产品，也是基于 AAV 载体，是EMA批准的首款基因治疗产品，用于治疗脂蛋白脂肪酶缺乏症 LPLD，但由于定价高达120万美元，销售情况堪忧，被迫于2017年10月退市。2016年，EMA批准了第二款基因治疗产品，GSK公司的 Strimvelis，基于逆转录病毒载体，用于治疗腺苷脱氨酶 ADA 突变导致的重度联合免疫缺陷症(ADA-SCID)，定价仍高居66.5万美元，且 ADA-SCID 极为罕见，每年欧洲仅新增15例患者，因此截至2017年，仅2名患者接受治疗，2018年4月，GSK将 Strimvelis 出售给 Orchard，当时仅5例患者接受了该治疗。2019年和2021年，EMA先后批准了 Bluebird 公司基于慢病毒载体的 Zynteglo 和 Skysona 产品，分别用于治疗12岁及以上的非 β^0/β^0 基因型输血依赖性 β -地中海贫血(TDT)，和早期脑性肾上腺脑白质营养不良 (CALD)。

图表 14: 当前获批上市的基因增补产品

给药途径	产品名称	企业名称	获批时间及机构	上市地区	适应症	递送基因片段	病毒载体
体内	Glybera	uniQure	2012.11 (EMA)	欧洲	脂蛋白脂肪酶缺乏症 (LPLD)	LPLD	AAV1
	Luxturna	罗氏 /Spark	2017.12 (FDA) 2019 (EMA)	美国, 欧洲, 澳大利亚, 加拿大	双等位RPE65基因突变导致的2型先天性黑蒙症 (LCA)	RPE65	AAV2
	Zolgensma	诺华 /AveXis	2019.05 (FDA) 2020 (EMA)	美国, 欧洲, 日本, 澳大利亚, 加拿大, 以色列, 中国台湾, 韩国	2岁以下的脊髓性肌肉萎缩症 (SMA)	SMN1	AAV9
体外	Strimvelis	Orchard/ GSK	2016.05 (EMA)	欧洲	腺苷脱氨酶ADA突变导致的重度联合免疫缺陷症(ADA-SCID)	ADA	RV
	Zynteglo	Bluebird	2019.06 (EMA)	欧洲	12岁及以上的非β0 / β0基因型输血依赖性β-地中海贫血(TDT)	β珠蛋白基因	LV
	Skysona	Bluebird	2021.07 (EMA)	欧洲	早期脑性肾上腺脑白质营养不良 (CALD)	ABCD1	LV

资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院整理

(1) Luxturna, FDA 首款基因增补产品, 有效治愈 2 型先天性黑蒙症 LCA

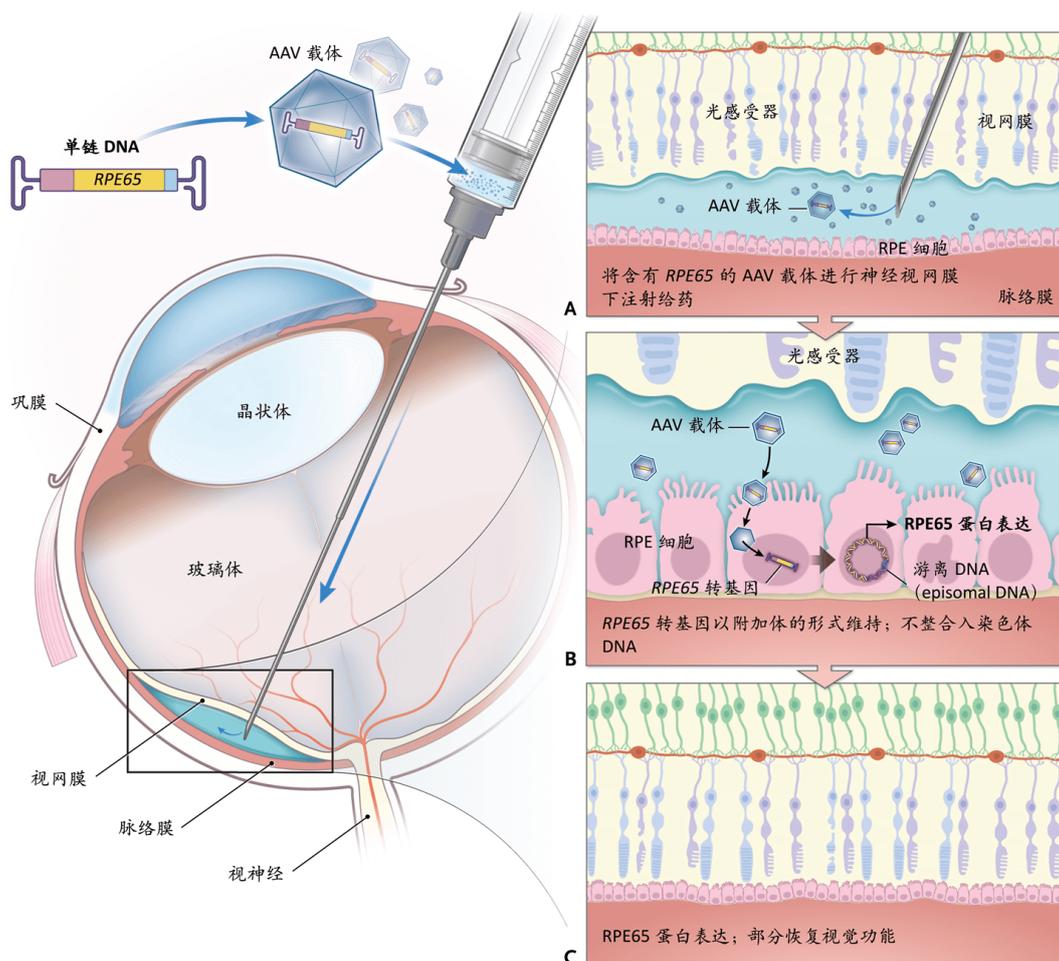
2017 年 12 月, FDA 批准了全球首款基因治疗产品 Luxturna, 用于治疗双等位 RPE65 基因突变导致的 2 型先天性黑蒙症 LCA (遗传进行性视网膜罕见病)。

致病机理: 已有研究发现了 19 个与 LCA 相关的致病基因, 其中由 RPE65 基因纯合子突变导致的 LCA 称为 LCA II 型, 约占 LCA 的 16%。RPE65 基因的产物 RPE65 (视网膜色素上皮特异性蛋白 65kDa) 是一种类维生素 A 异构酶, 其功能是将全反式视黄酯转换为 11-顺式视黄醛, 从而完成视色素的循环再生。RPE65 基因突变导致 RPE65 蛋白失去异构酶活性, 缺乏 RPE65 将导致视黄酯的局部堆积, 从而引起光感受器细胞的进行性萎缩, 不能对光发生反应, 患儿出生后即开始出现视力的逐步受损, 最终导致视力丧失。

治疗机制: Luxturna 以 AAV2 为载体, 递送正常的 RPE65 基因, 直接注射到视网膜色素上皮 (RPE) 细胞中, 使视网膜细胞重新获得合成全反式视黄酯异构酶的能力, 逐渐恢复视觉感光能力。

商业化现状: 患者只需单次注射一支即可达到治疗效果, Luxturna 每支价格 42.5 万美元, 双眼治疗费 85 万美元。2018 年, 销售额 2700 万美元, 截至 2019 年 9 月, 销售额 2800 万美元 (2019 年 10 月罗氏收购 Spark 后未披露)。

图表 15: Luxturna 基因治疗产品的作用机制



资料来源: Gene therapy beyond luxturna: a new horizon of the treatment for inherited retinal disease, 蛋壳研究院

(2) Zolgensma, FDA 批准“全球最昂贵药物”，有效治愈脊髓性肌肉萎缩症 SMA

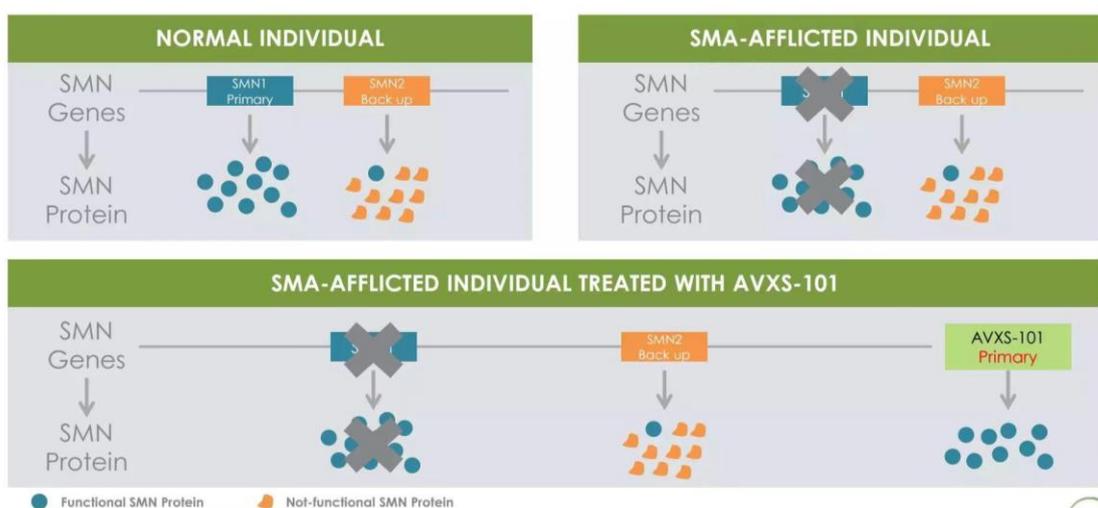
2019年5月，FDA 批准了诺华公司的 Zolgensma 产品，用于治疗 2 岁以下的脊髓性肌肉萎缩症 SMA。2018年5月，SMA 被列入国家卫健委等部门联合制定的《第一批罕见病目录》。

致病机理: SMA 是一种运动神经元性疾病，婴幼儿时期发病，由存活运动神经元 1 (SMN1) 基因突变导致。该基因编码存活运动神经元 (SMN) 蛋白，这是一种遍布全身的蛋白质，对于称为运动神经元的特异神经细胞的维持和功能至关重要，大脑和脊髓中的运动神经元控制整个身体的肌肉运动。由 SMN1 基因突变引起的 SMA 通常根据发病年龄和严重程度分为几种亚型。婴儿期发病的 SMA 是最严重和最常见的亚型。患有这种疾病的儿童抬头、吞咽和呼吸都有问题。这些症状可能在出生时出现，也可能在 6 个月后出现。在新生儿中，SMA 发病率为六千分之一至一万分之一，预计国内 SMA 患者约 1200-2000 人。常规人群中，约每 40 人~50 人就有 1 个是 SMA 致病基因携带者。

治疗机制：Zolgensma 以 AAV9 为载体，能够透过血脑屏障，将 SMN1 基因递送到中枢神经系统。

商业化现状：Zolgensma 是全球最昂贵的药物，定价高达 212.5 万美元，不过患者只需接受一次静脉注射给药，就能在细胞中长期表达 SMN 蛋白，实现长期缓解甚至治愈。目前 Zolgensma 已经在全球近 40 个国家和地区获批，2019 年获批当年销售额 3.61 亿美元，2020 年 Zolgensma 的销售额达 9.2 亿美元，同比增长 151%。2021 年销售额 13.51 亿美元，增速 47%。2022Q1 销售额 3.63 亿美元，增速 18%。2020 年 5 月，Zolgensma 被纳入日本医保，患者只需支付 30%费用，2021 年 3 月 Zolgensma 被纳入英国国家医疗服务体系。

图表 16: SMA 致病机理



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

(3) 基因增补在研管线丰富，海外不少产品已进入拟上市/上市申请或临床后期阶段

海外基因增补产品的在研管线丰富。经蛋壳研究院汇总整理，2022 年即将有 3 款拟上市产品，以及 6 款拟提交上市申请 BLA 的产品，以及十几款已经进入临床 3 期的在研管线。纵观海外基因增补技术的在研管线，我们发现，产品以体内基因治疗为主，且基于 AAV 载体；体外治疗大多基于 LV 载体，包括 Bluebird 公司的两款拟上市产品 beti-cel 和 eli-cel，PDUFA 目标日期分别为 2022 年 8 月 19 日和 2022 年 9 月 16 日。不少产品目前 beti-cel 疗法已获 FDA 优先审评资格，如果获得 FDA 的批准，预计该疗法会成为潜在的美国首个针对β地中海贫血患者的慢病毒载体基因疗法。此前 FDA 曾授予 Instiladrin 产品快速通道资格，突破性疗法认定和优先审评资格，并接收递交的 BLA。如果 2022 年获得批准，该疗法将为对 BCG 无反应的 NMIBC 患者提供一个有希望的选择。OTL-103 产品已获得 FDA 授予的孤儿药资格和罕见儿科疾病 (RPD) 资格。Etranacogene dezaparvovec 产品可能是潜在的第一个为血友病 B 患者提供持久、功能性治疗益处的基因疗法。BMN270 产品获得了 FDA 和 EMA 的孤儿药指定，用于治疗重度血友病 A。

图表 17: 海外拟上市/拟提交 BLA 的基因增补产品

给药途径	产品名称	企业名称	管线进度	适应症	递送基因片段	病毒载体	注射方式
体外	beti-cel	Bluebird	拟上市 (2022年8月19日)	β地中海贫血	β球蛋白基因	LV	静脉注射
	eli-cel		拟上市 (2022年9月16日)	18岁以下携带 ABCD1 基因突变的早期脑性肾上腺脑白质营养不良患者 (CALD)	ABCD1	LV	静脉注射
体内	Instiladrin	FerGene (Ferring)	拟上市 (预计2022年)	对卡介苗 (BCG) 响应不佳的晚期高级非肌层浸润性膀胱癌 (high grade NMIBC)	干扰素α-2b (IFNα 2b) 基因	AdV	膀胱壁细胞 (膀胱灌注)
体外	KB103	Krystal Biotech	拟提交BLA (2022年上半年)	营养不良性大疱性表皮松解症 (DEB)	表达VII型胶原蛋白 (COL7)	HSV-1	皮肤注射
	EB-101	Abeona Therapeutics	拟提交BLA (2022年底或2023年初)	隐性遗传性营养不良性大疱性表皮松解症 (RDEB)	COL7A1 胶原蛋白基因	RV	皮肤注射
	OTL-103	Orchard Therapeutic	拟提交BLA (2022年上半年)	Wiskott-Aldrich 综合征	Wiskott-Aldrich 综合征 (WAS) 基因	LV	静脉注射
体内	AMT-061	uniQure/CSL Behring	拟提交BLA (2022年上半年)	中重度至重度B型血友病	FIX Padua	AAV5	静脉注射
	BMN270	BioMarin Pharmaceutical	重新提交BLA (2022年Q2)	A型血友病	凝血因子 FVIII	AAV5	静脉注射
	PTC-AADC	PTC Therapeutics	拟提交BLA (2022年Q2)	芳香族L-氨基酸脱羧酶缺乏症 (AADCD)	人类多巴脱羧酶 (DDC) 基因	AAV2	脑内输注

资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院整理

图表 18: 海外临床 3 期的基因增补产品

给药途径	产品名称	企业名称	管线进度	适应症	递送基因片段	病毒载体	注射方式
体外	bb1111	Bluebird Bio	临床3期	镰刀型细胞贫血症	β -A-T87Q珠蛋白基因	LV	静脉注射
体内	AMT-061	uniQure	临床3期	B型血友病	FIX	AAV5	静脉注射
	SB-525(PF-07055480)	Sangamo/辉瑞	临床3期	A型血友病	VIII	AAV2/6	静脉注射
	SPK-9001 (PF-06838435)	Spark/辉瑞	临床3期	B型血友病	FIX	AAV	静脉注射
	AMT-061	uniQure	临床3期	B型血友病	FIX	AAV5	静脉注射
	BIIB111 (NSR-REP1)	Nightstar Therapeutics	临床3期	无脉络膜症CHM	CHM	AAV2	视网膜下注射
	GS010 (AAV2-ND4)	GenSight Biologics	临床3期	由ND4引起的Leber遗传病视神经病变	ND4	AAV2	玻璃体内注射
	BIIB112 (AAV8-RPGR)	Nightstar Therapeutics (渤健)	临床3期	X-连锁视网膜色素变性	RPGR	AAV8	视网膜下注射
	AAV-RPGR	MeiraGTx	临床3期	X-连锁视网膜色素变性	RPGR	AAV2/5	视网膜下注射
	SRP-9001	sarepta/Roche	临床3期	杜氏肌营养不良症(DMD)	micro-dystrophi	AAVrh74	静脉注射
	PF-06939926	辉瑞	临床3期	杜氏肌营养不良症(DMD)	mini-dystrophi	AAV9	静脉注射
	RGX-314	Regenxbio	临床3期	湿性年龄相关性黄斑变性(AMD)	VEGF	AAV8	视网膜下注射
	Generx	Angionetics	临床3期	难治性心绞痛	FGF-4	AAV5	心脏注射(导管)

资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

(4) 国内基因增补管线整体进展较慢，适应症集中于眼科遗传病及血友病

国内基因增补管线整体进展较慢，多处于临床 1 期，适应症集中于眼科遗传病和血友病。进展较快的管线包括纽福斯生物的 NR082 (NFS-01)，信念医药的 BBM-H901，朗信生物的 LX101，天泽云泰的 VGB-R04，杭州嘉因生物的 EXG001-307，以及北京中因的 ZVS101e 等。

纵观国内基因增补技术的在研管线，我们发现，产品基本为体内途径，且基于 AAV 载体，仅本导基因基于 LV 平台有相关管线。数家国内研发药企的管线获得 FDA 的孤儿药认定 (ODD)，包括纽福斯生物的 NR082 (NFS-01)，天泽云泰的 VGB-R04，北京中因的 ZVS101e。

纽福斯生物的 NR082 (NFS-01) 产品用于治疗 ND4 突变引起的 Leber 遗传性视神经病变 (ND4-LHON)。2021 年 3 月 30 日, 获得中国 IND, 2022 年 1 月 19 日, 获得美国临床批件。国内首个获得临床试验许可的眼科体内基因治疗药物, 并已于 2020 年 9 月获得美国 FDA 孤儿药认定 (ODD)。2022 年 1 月 24 日, 获欧洲药品管理局 (EMA) 孤儿药品委员会 (COMP) 授予孤儿药身份 (ODD)。2022 年 5 月 25 日, NR082 (rAAV2-ND4, 研发代号 NFS-01), 用于治疗 ND4-LHON 的 I / II 期临床试验进展顺利, 基于该试验的安全性和有效性数据, 与国家药品监督管理局 (NMPA) 药品审评中心 (CDE) 在 II 期临床试验结束会议 (EOP2) 上就拟进行的 III 期临床试验方案可行性达成一致意见。NFS-02 产品用于治疗 ND1 突变引起的 Leber 遗传性视神经病变 (ND1-LHON), 处于 Pre-IND (IND 申报准备) 阶段。2022 年 1 月 19 日, 获美国食品药品监督管理局 (FDA) 的孤儿药认定 (ODD)。

信念医药的 BBM-H901 产品用于治疗 B 型血友病。2021 年 8 月 6 日获得 IND, 2021 年 12 月 30 日完成首例给药。国内第一个获批进入注册临床试验的血友病 AAV 基因治疗药物, 也是国内第一个全身给药的罕见病基因疗法用药。

朗信生物的 LX101 产品用于治疗 RPE65 双等位基因突变的先天性黑矇 LCA。2022 年 4 月 19 日获得 IND。

天泽云泰的 VGB-R04 产品用于治疗 B 型血友病。2022 年 4 月 20 日获得 IND, 完成首例给药。2021 年 12 月获得美国 FDA 的孤儿药认定 (ODD), 这是首个中国自主研发用于血友病 B 的体内基因治疗产品获得该认定。

杭州嘉因生物的 EXG001-307 产品用于治疗 1 型脊髓型肌萎缩 (1 型 SMA)。2022 年 3 月 28 日的临床试验申请已获得 CDE 受理, 预计很快获得 IND 批件。该产品在浙江大学医学院附属儿童医院开展的临床研究完成首例受试者给药, 迄今为止其安全性及耐药性均表现良好, 接受治疗的患儿在临床医护人员的精心治疗与护理下, 已顺利出院。

北京中因的 ZVS101e 产品用于治疗 CYP4V2 突变导致的结晶样视网膜变性 BCD, 处于 Pre-IND 阶段。2021 年 8 月获得美国 FDA 孤儿药资格授权。

还有一些处于临床前研究阶段 (包含研究者发起的临床 IIT) 的管线, 包括至善唯新的 ZS801 产品用于治疗 B 型血友病, 2022 年 2 月, 据国家科学技术部政务服务平台官网显示, 由至善唯新合作发起的“ZS801 项目”——AAV (腺相关病毒) 载体表达人凝血因子 IX 基因治疗技术在血友病 B 患者中的安全性和有效性的临床研究, 即将在中国医学科学院血液病医院开展。辉大基因的 HG-004 用于治疗 2 型先天性黑蒙症 LCA, 以及本导基因的 BD211 (体外) 和 BD311 产品, 分别用于治疗地中海贫血和湿性老年性黄斑变性 (wAMD)。慢病毒载体转导自体 CD34+ 造血干细胞治疗输血依赖型 β -地中海贫血, 已完成 2 例 IIT 人体临床, 这是国内首次基于慢病毒载体基因转导技术治疗中重型地中海贫血的成功案例。基于 BDlenti 技术平台开发的基因编辑治疗湿性老年性黄斑变性 (BD311), 已完成 1 例 IIT 人体临床。

图表 19: 国内的基因增补产品管线

给药途径	产品名称	企业名称	管线进度	适应症	递送基因片段	病毒载体	注射方式
体内	NR082 (NFS-01)	纽福斯生物	临床2期	ND4突变引起的Leber遗传性视神经病变 (ND4-LHON)	ND4	AAV2	玻璃体腔注射
	NFS-02		Pre-IND	ND1突变引起的Leber遗传性视神经病变 (ND1-LHON)	ND1	AAV2	玻璃体腔注射
	BBM-H901	信念医药	临床1期	B型血友病	FIX	AAV	静脉注射
	LX101	朗信生物	临床1期	RPE65双等位基因突变的先天性黑矇LCA	RPE65	AAV	眼内注射
	VGB-R04	天泽云泰	临床1期	B型血友病	FIX	AAV	静脉注射
	EXG001-307	嘉因生物	Pre-IND	1型脊髓型肌萎缩 (1型 SMA)	SMN1	AAV	静脉注射
	ZVS101e	北京中因	Pre-IND	CYP4V2突变导致的结晶样视网膜变性BCD	CYP4V2	AAV	视网膜下注射
	ZS801	至善唯新	临床前 (IIT)	B型血友病	FIX	AAV8	
	HG-004	辉大基因	临床前	2型先天性黑蒙症 LCA	RPE65	AAV9	视网膜下注射
体外	BD211	本导基因	临床前 (IIT)	地中海贫血	β 珠蛋白基因	LV	静脉注射
体内	BD311		临床前 (IIT)	湿性老年性黄斑变性 (wAMD)	抗血管内皮生长因子的抗体基因	非整合LV	眼底注射

资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院整理

2.1.2 基因编辑技术定向精准, 功能强大

基因编辑工具“定向精准”修复, 较基因增补路径优势凸显。(1) 功能强大: 相较于基因增补技术只能介导基因的增补, 基因编辑技术作为“基因剪刀”, 可实现“基因敲除”和“基因插入”。**基因敲除:** 以基因敲除为目的时, 可以利用 Cas9-sgRNA 对 DNA 进行切割产生双链断裂, 随后细胞出于自我修复, 通过非同源末端连接 (Non homologous End Joining, NHEJ) 方式修复 DNA, 在此过程中, 将随机引入碱基的缺失或增加, 基因发生移码突变, 导致编码基因的敲除。**基因插入:** 以基因敲入或替换为目的时, 需要借助同源重组

(Homologous Recombination, HR) 原理。CRISPR/Cas9 系统中的 Cas9-sgRNA 在靶位点进行切割产生 DNA 双链断裂, 在模板 DNA 存在时, 细胞通过同源重组方式修复 DNA, 而模板 DNA 可以被人为设计成需要插入的基因或需要修复的基因, 实现目标基因的插入。

(2) 定向精准: 基因增补技术主要通过腺相关病毒 AAV 或 LV 载体递送目标基因, 这个过程存在一定的随机性。AAV 载体由于 AAV 病毒基因组不整合进宿主细胞, 因此随着细胞分裂、死亡等原因, AAV 递送的目标基因会不断被稀释, 面临耐久性问题; 而 LV 载体由于 LV 病毒会插入宿主基因组, 虽稳定性和耐久性更好, 但随机插入的方式, 面临激活基因组中的癌变基因的风险, Bluebird 公司几款基于慢病毒载体的产品在临床阶段发生过此类事件。而基因编辑技术能够做到定点整合修复突变基因, 可以删除基因编码区部分序列达到基因失活的效果, 还能作用于基因的启动子序列来增强或者减弱基因表达。比如目前最强大

的基因编辑系统 CRISPR 技术，通过 Cas9 蛋白的碱基互补配对到达靶基因部位进行精确的基因编辑。

(1) CRISPR/Cas9 是革命性的基因编辑技术

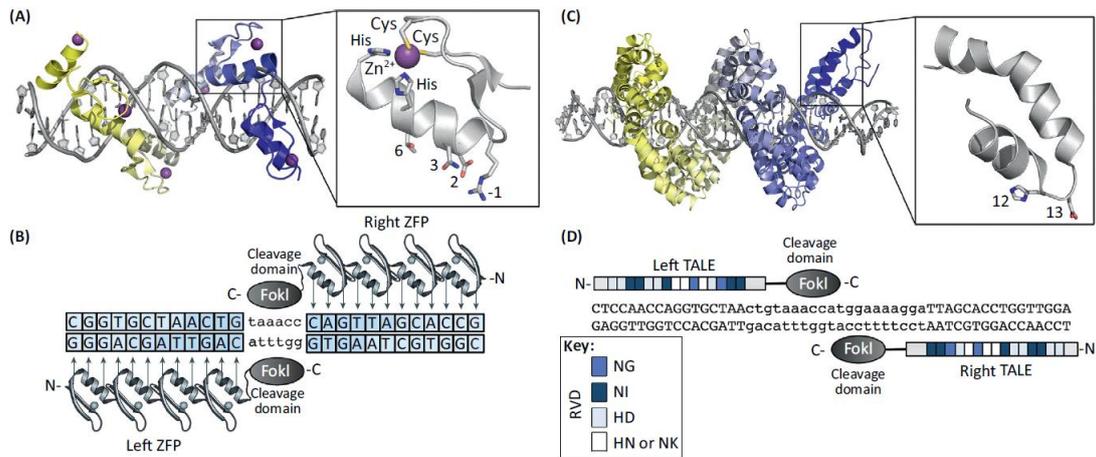
基因编辑工具的两大结构：定位+切割。ZFN 和 TALEN 通过蛋白定位，CRISPR 通过 sgRNA 定位；ZFN 和 TALEN 通过 FOK1 核酸内切酶切割，CRISPR 通过 Cas 蛋白切割。**CRISPR/Cas9 的核心优势在定位方式，sgRNA 的合成较蛋白容易很多，因此具有高效便捷、成本低廉的优势。**

2012 年，CRISPR/Cas9 技术的诞生标志着基因编辑领域的革命性突破，一改此前面临的高昂研发成本的问题，CRISPR 的技术的开发使得基因编辑变得简单、高效、便宜，契合市场需求。回顾基因编辑技术的发展历程，我们发现，早在 1996 年，第一代基因编辑技术 ZFNs 锌指核酸酶技术已经面世，但由于 Sangamo Therapeutics 公司垄断了锌指蛋白设计、筛选、优化、实验室及临床应用相关的数个关键专利，且 ZFNs 研发成本高昂，合成困难，涉及到蛋白筛选体系，因此基因编辑行业的临床转化停滞多年。直到 2011 年，第二代基因编辑技术 TALEN 转录激活样效应因子核酸酶技术诞生，其工作原理与 ZFNs 基本类似，虽然 TALEN 的识别技术较 ZFNs 设计更加简便，操作更加灵活，但其每次针对不同靶点需重复构建融合蛋白，工作繁琐仍阻碍了发展。2012 年，Jennifer Doudna 以及美籍华人科学家张峰发明了 CRISPR/Cas9 基因编辑技术，这是基因治疗领域革命性的事件。2020 年 10 月，CRISPR/Cas9 基因编辑技术发明者——法籍微生物学家 Emmanuelle Charpentier 博士和美国国家科学院院士 Jennifer A. Doudna 博士获得 2020 年诺贝尔化学奖，这两位女科学家共同发现了 Cas9 的切割作用和 crRNA 的定位作用，并将 crRNA 与 tracrRNA（辅助切割）融合成单链向导 RNA（sgRNA）。

ZFNs 和 TALEN 的基因编辑技术相对简单，可以理解为“基因剪刀”——切割特定 DNA 序列的限制酶。这些经过人工改造后的核酸酶/限制酶，可以定向切割特定位点的靶向序列，并配合 DNA 修复系统修复过程中产生的随机突变或定制的序列，从而实现基因定点改造。ZFN 技术的目的基因特异性识别基于锌指蛋白，DNA 切割依赖于 Fok I 核酸内切酶。每个锌指蛋白可识别并结合一个特异的三联体碱基，通过锌指蛋白的排列，可实现对 DNA 序列的靶向性。TALEN 工作原理与 ZFN 基本类似，DNA 切割同样依赖于 Fok I 核酸内切酶，但其目的基因特异性识别基于 TALEN 转录激活因子效应物，每两个氨基酸组合对应一个特定的碱基。

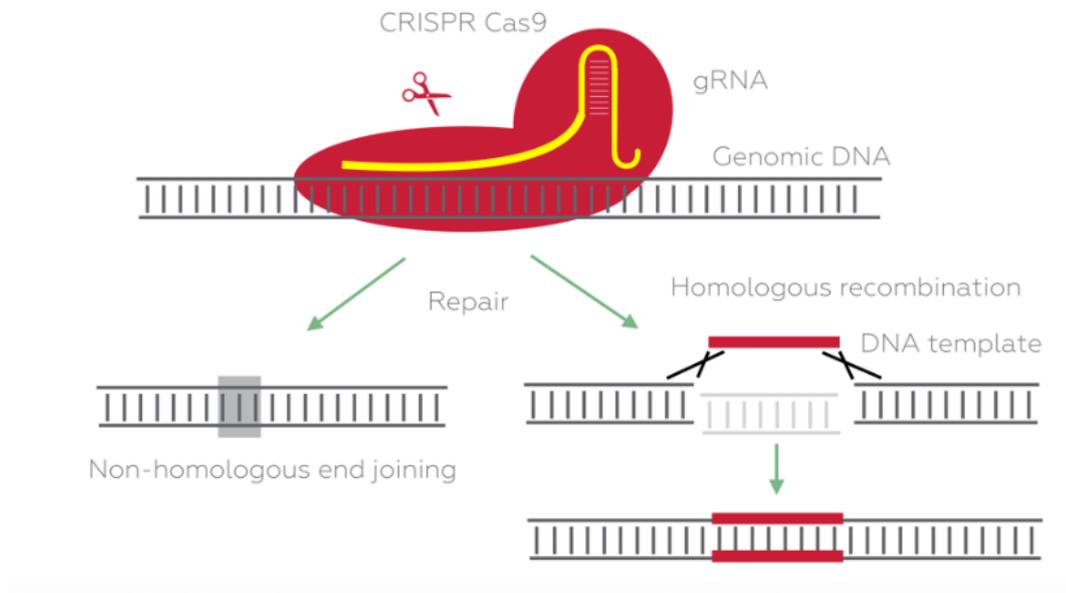
CRISPR/Cas9 是目前应用最广泛的基因编辑工具，基于细菌获得性免疫系统，防御病毒入侵的机制。这种机制在细菌和古细菌中普遍存在，在生命的进化史上，细菌为了避免病毒将病毒 DNA 整合到自己 DNA 序列上，衍生出的一种能够将病毒基因切除的特有免疫系统。2012 年，科学家们利用这种系统的作用机制，开发了 CRISPR/Cas9 基因编辑工具并运用于哺乳动物中。CRISPR/Cas9 系统由两部分组成，有核酸内切酶活性的 Cas9 蛋白和单链的 guide RNA (single-guide RNA, sgRNA)，其原理是核酸内切酶 Cas9 蛋白通过向导 RNA (guide RNA, gRNA) 识别特定基因组位点，并对双链 DNA 进行切割，造成 DNA 双链断裂，并根据需求实现基因的定向敲除或插入。

图表 20: ZFNs (图 AB) 和 TALEN (图 CD) 基因编辑技术



资料来源: ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering, 蛋壳研究院

图表 21: CRISPR/Cas9 技术原理



资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院

图表 22: 基因编辑技术对比

基因编辑技术	ZFNs	TALEN	CRISPR/Cas9
释义	锌指核酸酶技术	类转录激活因子核酸酶技术	成簇规律性间隔的短回文重复序列技术
发明时间	1996年	2011年	2012年
地位	临床转化和开发被垄断的第一代基因编辑技术	临床应用发展较为滞后的第二代基因编辑技术	突破性的第三代基因编辑技术
底物来源	存在于植物、动物和微生物中	来自植物病原体黄单胞菌属	来自细菌和古生菌针对外源DNA的适应性免疫系统
靶点识别模式	锌指蛋白ZFP-DNA识别	TALEN蛋白-DNA识别	sgRNA-DNA识别
DNA切割依赖	Fok I核酸内切酶	Fok I核酸内切酶	Cas9蛋白
编辑特点	单位点编辑	单位点编辑	多位点编辑
体内治疗递送	AAV	AAV	AAV, 慢病毒, LNP
递送难度	难	难	易
优势	无基因、序列、细胞、物种限制，通过二聚体起作用。	无基因、序列、细胞、物种限制，实验设计简单准确，而且周期短，特异性高。	序列、细胞、物种限制少，sgRNA合成容易、价格经济、实验设计灵活简便，而且周期短，适用于高通量实验，无需构建融合蛋白。
劣势	蛋白筛选和工程化困难、耗时长、价格贵、细胞毒性。且部分三联碱基对尚未发现对应锌指，依赖性强，影响特异性。	由于针对不同靶点，每次都需重复构建融合蛋白，工作繁琐。	脱靶效应较高，因为向导RNA序列比ZFN或TALEN所靶点的大部分序列更短。

资料来源：基因组编辑技术的原理及应用，蛋壳研究院

(2) 海外基因编辑管线基本由“三巨头”包揽

在基因编辑领域，研发管线集中于 CRISPR/Cas9 技术。CRISPR/Cas9 的三位发明者奠定了其成为基因编辑领域“三巨头”的基础，Emmanuelle Charpentier 教授，Jennifer Doudna 教授，以及张锋教授，分别创立了全球领先的基因编辑公司 CRISPR, Intellia, Editas。其中，CRISPR 公司的 CTX001 是全球进展最快的体外基因编辑疗法，计划在 2022 年底提交 BLA，用于治疗输血依赖性 β 地中海贫血症 (TDT) 和镰状细胞贫血 (SCD)，已获得美国 FDA 授予再生医学高级治疗产品 (RMA)、快速通道资格 (FTD) 和孤儿药资格 (ODD)，获得欧盟委员会授予 ODD。Intellia 公司的 NTLA-2001 是全球最值得期待的体内基因编辑疗法，采用 LNP 递送全核酸基因编辑药物 (Cas9 mRNA+sgRNA)，用于治疗遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性合并多发性神经病 (ATTRv PN)，2021 年 10 月，NTLA-2001 获得 FDA 授予的孤儿药资格 (ODD)。Editas 公司的 AGN-151587 (EDIT-101) 是全球首个基于体内 CRISPR 的基因编辑技术，用于治疗 Leber 先天性黑蒙症 10 型 (LCA10)，然而，早期临床结果虽证实了安全性，在疾病症状改善方面却不尽人意。

图表 23: 国外基因编辑产品管线

给药途径	产品名称	企业名称	管线进度	适应症	基因靶点	递送方式	注射方式
体外	CTX001	CRISPR Therapeutics/Vertex Pharmaceuticals	临床3期。预计2022年底提交BLA。	输血依赖性β地中海贫血症 (TDT) 和镰状细胞贫血 (SCD)	BCL11A	电穿孔	静脉注射
	OTQ923 / HIX763	Intellia/诺华	临床1/2期	镰状细胞贫血 (SCD)	BCL11A	LNP	静脉注射
	EDIT-301	Editas Medicine	临床1/2期	输血依赖性β地中海贫血症 (TDT) 和镰状细胞贫血 (SCD)	HBG	电穿孔 (Cas12a)	静脉注射
	ST-400/BIVV003	Sangamo/Sanofi	临床1/2期	输血依赖性β地中海贫血症 (TDT) 和镰状细胞贫血 (SCD)	BCL11A	AAV (ZFN)	静脉注射
体内	NTLA-2001	Intellia Therapeutics/再生元 (Regeneron)	临床1期	遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性合并多发性神经病 (ATTRv PN)	TTR	LNP	静脉注射
	NTLA-2002	Intellia Therapeutics	临床1/2期	成人遗传性血管水肿 (HAE)	KLKB1	LNP	静脉注射
	AGN-151587 (EDIT-101)	Editas Medicine/Allergan	临床1/2期	Leber先天性黑蒙症10型 (LCA10)	CEP290	AAV5 (Cas12a)	视网膜下注射
	hLB-001	LogicBio Therapeutics	临床1/2期	甲基丙二酸血症 (MMA)	MMUT	AAV3	静脉注射
	EBT-101	Excision BioTherapeutics	临床1期	HIV感染	HIV	AAV9	静脉注射

资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

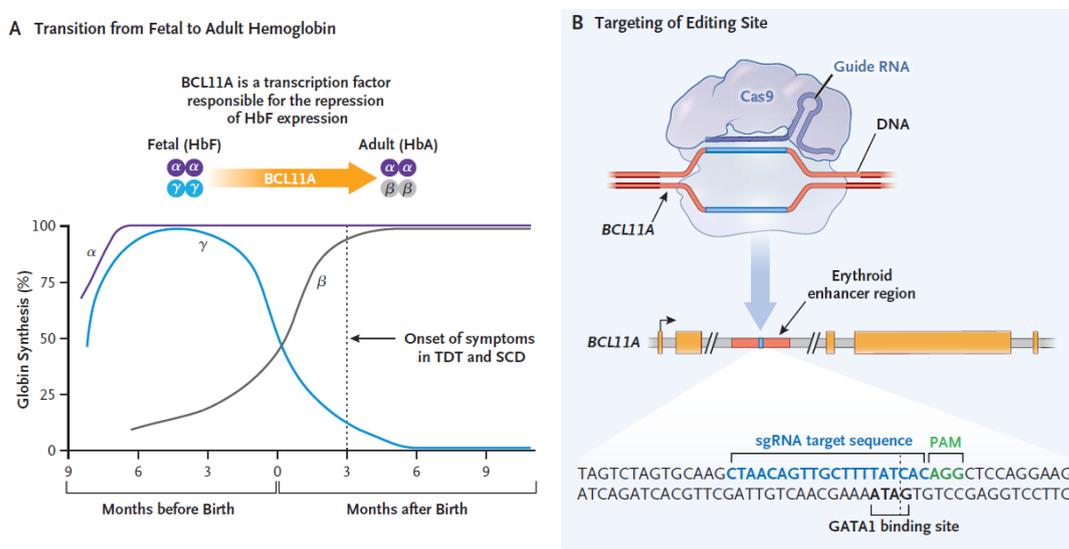
(3) CTX001——全球进展最快的体外基因编辑疗法

目前，全球进展最快的体外基因编辑疗法是 CTX001。由诺奖获得者 Emmanuelle Charpentier 于 2013 年创立的 CRISPR Therapeutics 公司和 Vertex Pharmaceuticals 公司合作研发，用于治疗输血依赖性 β 地中海贫血症 (TDT) 和镰状细胞贫血 (SCD)。CTX001 治疗 TDT 和 SCD 已获得美国 FDA 授予再生医学高级治疗产品 (RMA)、快速通道资格 (FTD) 和孤儿药资格 (ODD)，获得欧盟委员会授予 ODD。**Vertex 计划在 2022 年底提交 CTX001 用于治疗这两种适应症的全球 (包括美国 FDA) 生物制品许可申请 (BLA)。**

TDT 和 SCD 都是由于编码血红蛋白的基因发生突变而造成的血液疾病。BCL11A 基因指导胎儿到成人血红蛋白的过渡，BCL11A 是一种转录因子，负责抑制胎儿血红蛋白 (HbF) 表达。严重患者通常需要经常接受红细胞输入进行治疗，不但给患者带来不便，而且长期红细胞输入会带来铁元素过载等副作用。

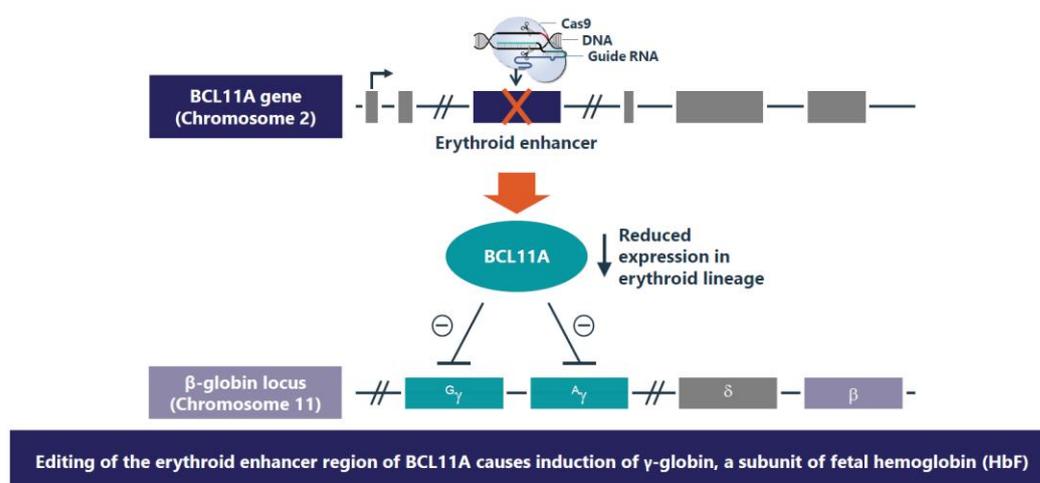
CTX001 采用体外基因编辑疗法，利用 CRISPR 技术，通过电转在体外对患者的造血干细胞进行改造后再回输。患者首先接受干细胞动员和清血采集，得到的造血干细胞和祖细胞 (HSPCs) 经 CRISPR-Cas9 制备成 CTX001，接下来在白消安清髓后，患者接受 CTX001 输注。CRISPR 技术的 sgRNA，靶向 BCL11A 基因，该基因在人体内与胎儿血红蛋白的表达密切相关。上述两种贫血的患者在婴儿期没有明显症状，就是因为体内还有较多的胎儿血红蛋白，尚未转变成成年患者体内的异常血红蛋白。通过 CRISPR-Cas9 基因编辑患者的自体造血干细胞，降低 BCL11A 基因的表达，促进红细胞中重新产生高水平的胎儿血红蛋白 (HbF)。HbF 是携带氧气的血红蛋白的一种形式，在出生时自然存在，随着婴儿的长大，血液中的血红蛋白转换为成人形式的血红蛋白。因此，通过 CTX001 治疗，可以提高 HbF 水平，缓解 TDT 患者的输血需求，并减少 SCD 患者的疼痛和使人衰弱的血管闭塞性危象 (VOC)。

图表 24: BCL11A 基因 (左图)，CRISPR/Cas9 在 CTX001 的作用机制 (右图)



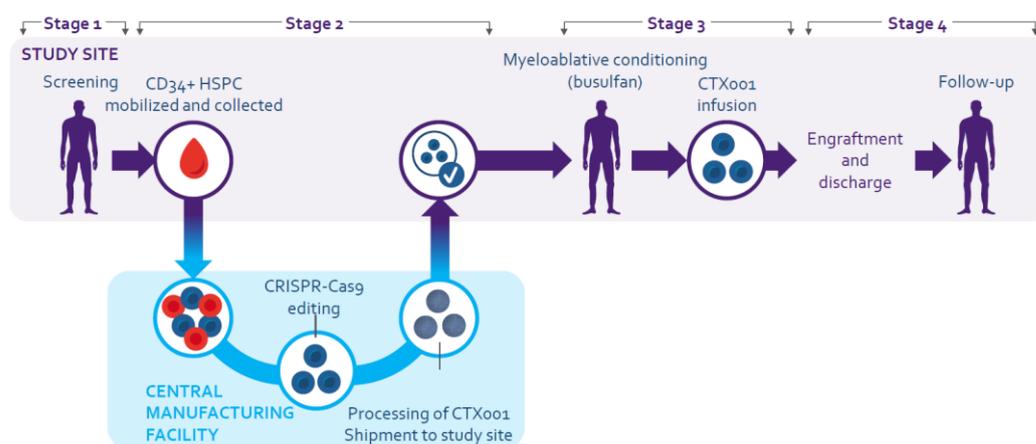
资料来源: CRISPR/Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia, 蛋壳研究院

图表 25: CTX001 治疗的作用机制，通过基因编辑提高胎儿血红蛋白的表达



资料来源: CRISPR Therapeutics, CTX001 Clinical Data Update, ASH 2020, 蛋壳研究院

图表 26: CTX001 体外治疗过程

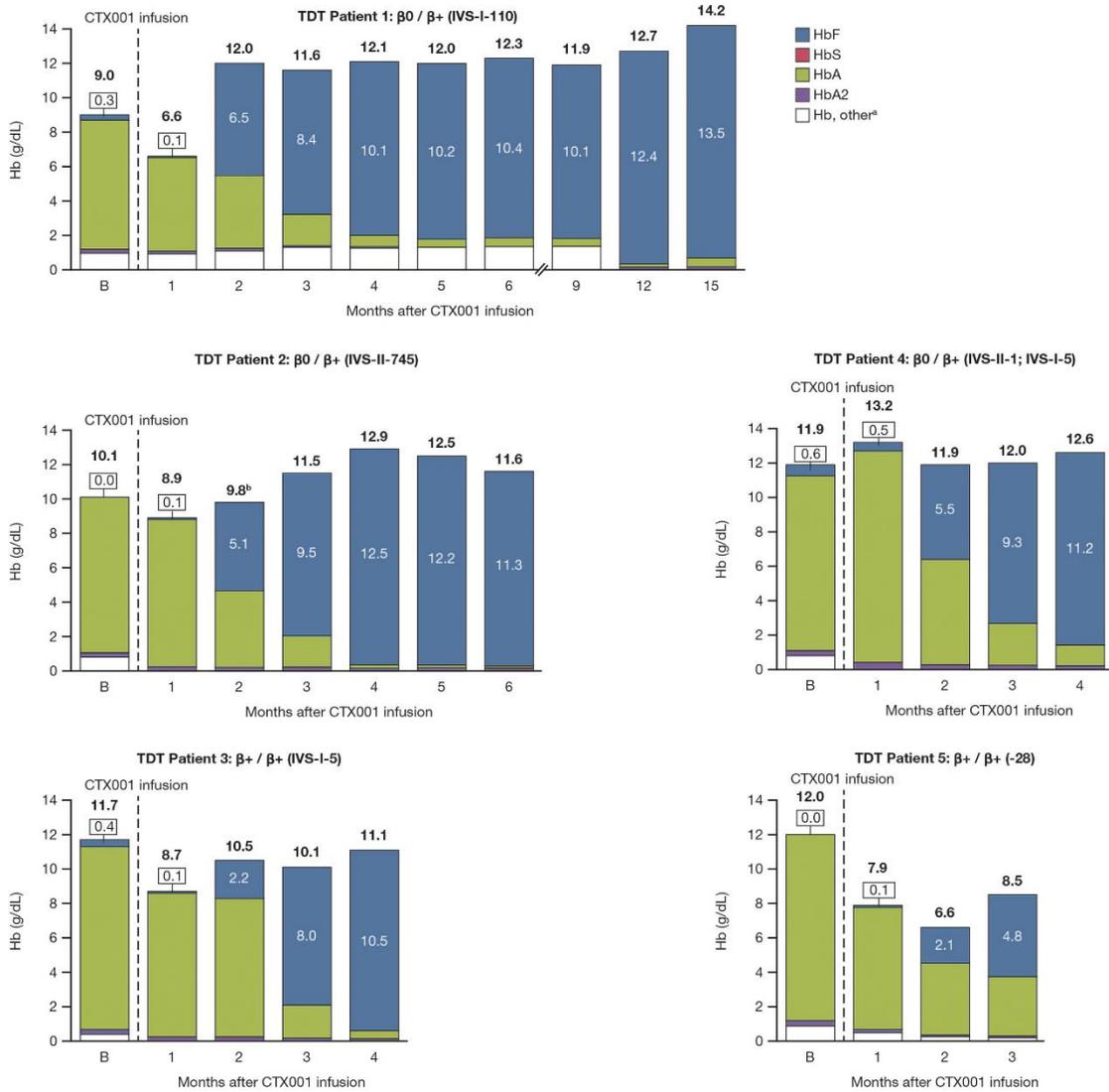


资料来源: CRISPR Therapeutics, CTX001 Clinical Data Update, ASH 2020, 蛋壳研究院

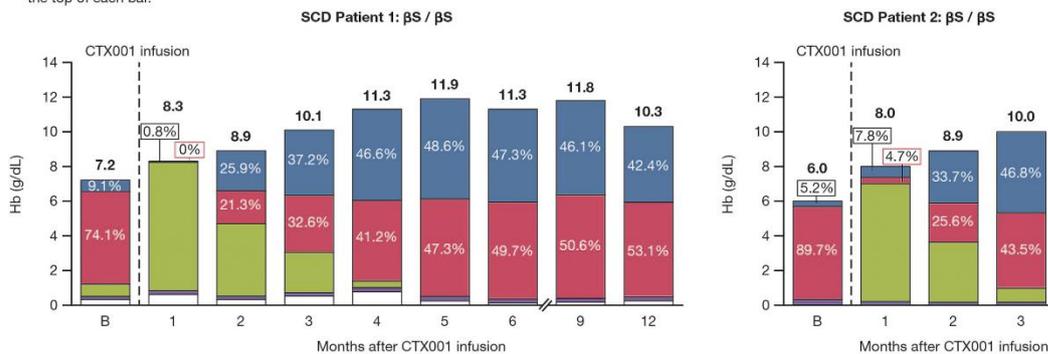
2020年11月, CRISPR Therapeutics 和 Vertex Pharmaceuticals 共同宣布了 CTX001 在 1/2 期临床试验中的研究成果。ASH 年会的摘要包括 5 名 TDT 患者和 2 名 SCD 患者的临床结果。所有患者在接受 CTX001 输注之后, 血液中 HbF 和总血红蛋白水平都有所提升。而且所有 TDT 患者在接受 CTX001 治疗 2 个月之后, 均没有再接受输血治疗, 他们的随访时间分别为 15、6、4、4、和 3 个月。两名 SCD 患者在接受 CTX001 治疗后, 均没有发生过血管闭塞性危象 (随访时间分别为 12 个月和 3 个月)。接受治疗前, 他们平均每年发生 7 次血管闭塞性危象 (VOCs)。

图表 27: CTX001 治疗 5 名 TDT 患者和 2 名 SCD 患者的临床结果

A. Hb fractionation and total Hb in patients with TDT (N=5). HbF (g/dL) is indicated within the blue bar and total Hb (g/dL) at the top of each bar.



B. Hb fractionation and total Hb in patients with SCD (N=2). Proportion (%) of HbF (blue bar) and HbS (pink bar) at each visit is indicated and total Hb (g/dL) appears at the top of each bar.



B: Baseline; Hb: hemoglobin; HbA: adult hemoglobin; HbF: fetal hemoglobin; HbS: sickle hemoglobin; SCD: sickle cell disease; TDT: transfusion-dependent β -thalassaemia.
 *Hb adducts and other variants; ^bTotal Hb from local laboratory and Hb fraction from central laboratory.

资料来源: CRISPR Therapeutics and Vertex Pharmaceuticals Announce Priority Medicines (PRIME) Designation Granted by the European Medicines Agency (EMA) to CTX001™ for the

Treatment of Sickle Cell Disease

CRISPR Therapeutics 和 Vertex Pharmaceuticals 在欧洲血液学协会 (EHA) 年会上公布了 22 名患者 (15 名 TDT 患者和 7 名 SCD 患者) 的临床结果 (截至 2021 年 3 月 30 日)。随访时间至少为 3 个月, 从 4 个月到 26 个月不等, 接受 CTX001 治疗显示出一致和持续的效果。所有 15 名 TDT 患者在 CTX001 输注后均不依赖输血, 所有 7 名 SCD 患者在 CTX001 输注后均未出现血管闭塞危象 (VOCs)。其中, 5 名 TDT 患者和 2 名 SCD 患者有超过一年的随访, 显示出对治疗的稳定和持久的效果。

EHA 报告的 15 名 TDT 患者是在 CTX001 给药后达到至少三个月随访的患者, 因此可以评估初始安全性和有效性。**有效性:** 所有 15 名患者均表现出相似的结果, 总血红蛋白、胎儿血红蛋白和输血独立性快速且持续增加。所有 15 名患者均不依赖输血, 在 CTX001 输注后 4 至 26 个月的随访范围内, 最后一次就诊时总血红蛋白从 8.9 至 16.9 g/dL 和胎儿血红蛋白从 67.3% 至 99.6% 有临床意义的改善。从 10 名至少随访 6 个月的患者中收集的骨髓等位基因编辑数据, 其中 5 名患者至少随访 12 个月, 1 名患者至少随访 24 个月, 显示出持久的效果。**安全性:** 所有 15 名患者的安全性数据与自体干细胞移植和清髓性预处理基本一致。在一名患者中报告了四项被认为或可能与 CTX001 相关的严重不良事件 (SAE): 头痛、噬血细胞性淋巴组织细胞增多症 (HLH)、急性呼吸窘迫综合征和特发性肺炎综合征。所有四个 SAE 均发生在 HLH 的背景下并已得到解决。大多数非严重不良事件被认为是轻度至中度。

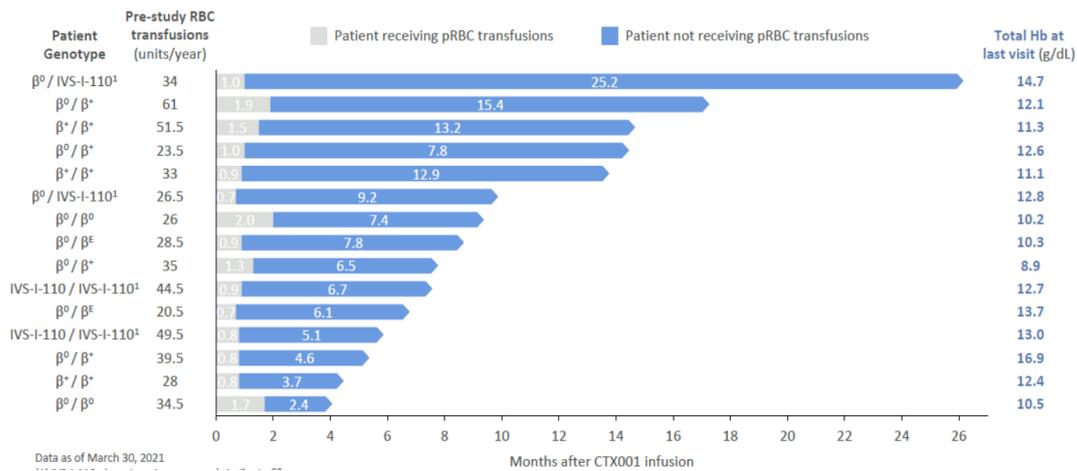
EHA 报告的 7 名 SCD 患者是在 CTX001 给药后达到至少三个月随访的患者, 因此可以评估初始安全性和有效性。**有效性:** 所有 7 名患者都表现出相似的结果, 总血红蛋白和胎儿血红蛋白快速且持续增加, 同时 VOC 也被消除。所有 7 名患者在 CTX001 输注后 5 至 22 个月的随访范围内均保持无 VOC, 并且在最后一次访问时总血红蛋白从 11 至 15.9 g/dL 和胎儿血红蛋白水平从 39.6% 至 49.6% 有临床意义的改善。从至少有 6 个月随访的 4 名患者 (其中 2 人有 12 个月的随访) 收集的骨髓等位基因编辑数据显示出持久的效果。**安全性:** 所有 7 名患者的安全性数据与自体干细胞移植和清髓性预处理基本一致。没有被认为与 CTX001 相关的 SAE, 并且大多数非严重不良事件被认为是轻度至中度。

图表 28: CTX001 治疗 15 名 TDT 患者和 7 名 SCD 患者的临床结果

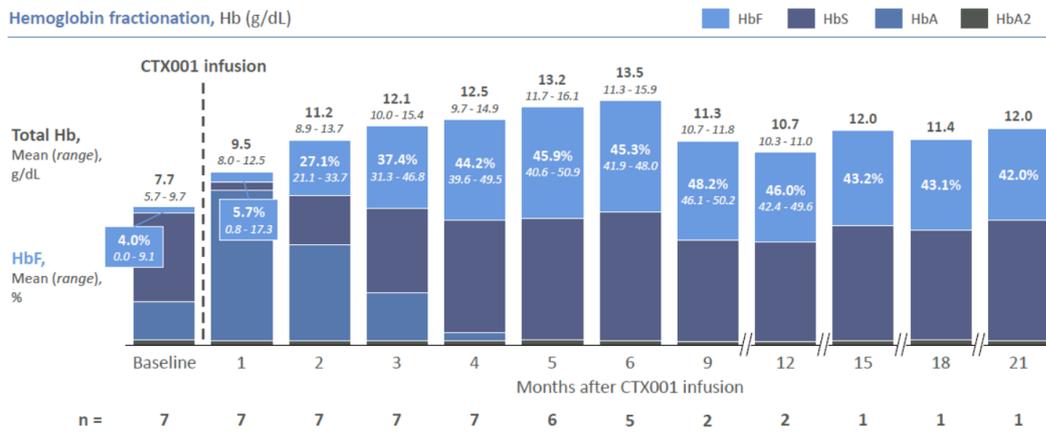
(1a) TDT: 临床意义上的 HbF 和总 Hb 在早期达到并维持



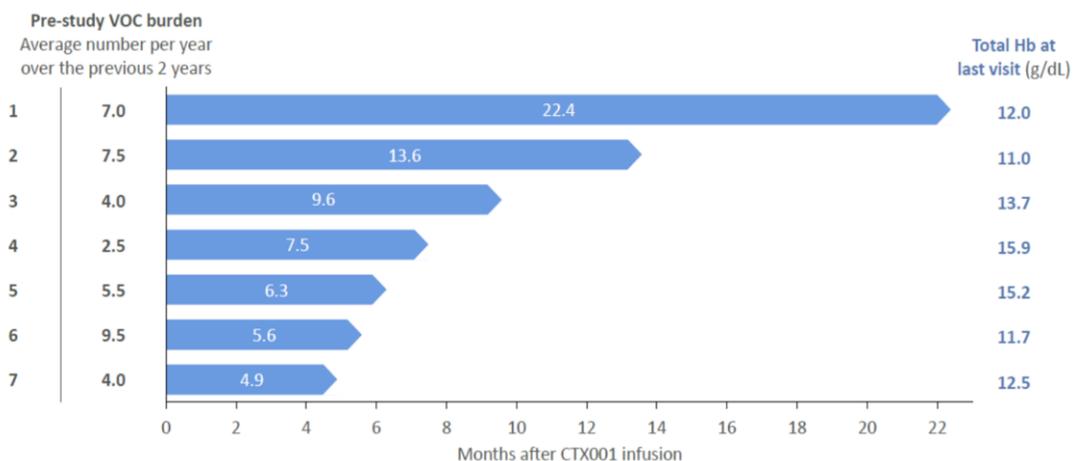
(1b) TDT: CTX001 后输血独立的持续时间



(2a) SCD: 临床意义上的 HbF 和总 Hb 在早期达到并维持



(2b) SCD: CTX001 之后无 VOC 的持续时间



资料来源: CRISPR Therapeutics 官网, Creating transformative gene-based medicines for serious diseases, 蛋壳研究院

(4) NTLA-2001——体内基因编辑

在体内基因编辑领域，NTLA-2001有望成为首个治疗ATTR淀粉样变性疾病的疗法，用LNP递送全核酸基因编辑药物（Cas9 mRNA+sgRNA）。由Intellia Therapeutics公司（NTLA.US）和再生元（Regeneron）公司（REGN.US）联合研发，用于治疗遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性合并多发性神经病（ATTRv PN）。2020年10月，Intellia Therapeutics宣布，MHRA授权该公司启动1期临床试验，将评估其基因编辑疗法NTLA-2001的安全性和有效性。2021年10月，NTLA-2001获得FDA授予的孤儿药资格（ODD）。

转甲状腺素蛋白淀粉样变性，或ATTR淀粉样变性，是一种危及生命的罕见进行性的遗传病。在老年人中，遗传性淀粉样变性基因（TTR）突变会导致甲状腺功能异常。这些错误折叠的转甲状腺素蛋白（TTR）在体内堆积形成淀粉样蛋白，导致心脏、神经和消化系统等多个组织出现严重并发症。ATTRv淀粉样变性主要表现为多发性神经病（ATTRv PN），可导致神经损伤，或心肌病（ATTRv-CM），可导致心力衰竭。据估计，全球大约有5万名患者，大部分患者从出现症状起预期生命仅为2-15年。

NTLA-2001是第一个通过静脉注射的基于CRISPR/Cas9的疗法。通过脂质纳米颗粒（LNP）递送载体，将携带靶向治病TTR基因的sgRNA和优化的spCas9蛋白的mRNA序列（后者执行精准编辑），递送至肝脏，特异性敲除TTR基因，旨在通过降低血清中TTR的浓度来治疗ATTR淀粉样变。

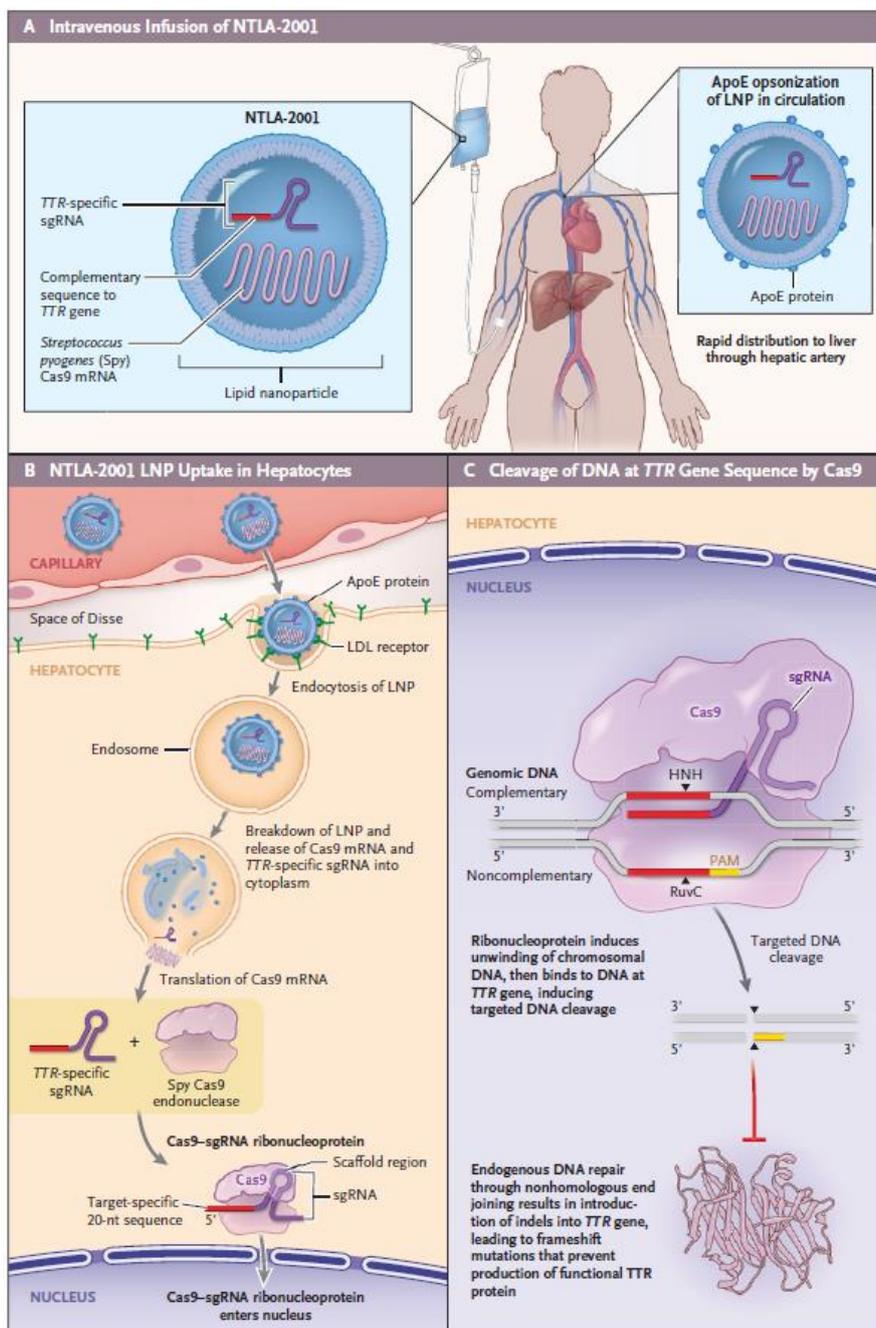
NTLA-2001治疗过程包含以下三个步骤：

A、NTLA-2001 静脉输液：NTLA-2001 LNP(脂质纳米颗粒)包裹：TTR-specific sgRNA(TTR基因向导RNA)、Complementary sequence to TTR gene(TTR基因互补序列)、streptococcus pyogenes Cas9 mRNA(化脓性链球菌-Cas9信使RNA)。脂质体LNP表面布满ApoE蛋白质，用于和肝细胞表面结合，促进肝细胞吞噬；通过肝动脉快速进入肝脏。

B、NTLA-2001 LNP 肝细胞吸收过程：NTLA-2001 LNP经毛细血管，越过disse腔，ApoE蛋白质特异性结合肝细胞表面的低密度脂蛋白受体(LDL receptor)，NTLA-2001 LNP被肝细胞内吞形成内涵体(Endosome)，NTLA-2001 LNP破裂，Cas9信使RNA和TTR基因互补序列进入细胞质，Cas9信使RNA被翻译成Cas9核酸内切酶，并与TTR基因互补序列形成Cas9-向导RNA核糖核蛋白，然后进入细胞核。

C、Cas9 核酸内切酶对 TTR 基因的切除：Cas9-向导RNA核糖核蛋白促使DNA双链解旋，精准定位TTR基因。Cas9核酸内切酶有两个功能结构域：RuvC和HNH，当两个结构域激活时，HNH核酸酶结构域剪切互补链，RuvC结构域剪切非互补链，在基因组上产生双链断裂，以此达到切除TTR基因的目的。

图表 29: NTLA-2001 的作用机制

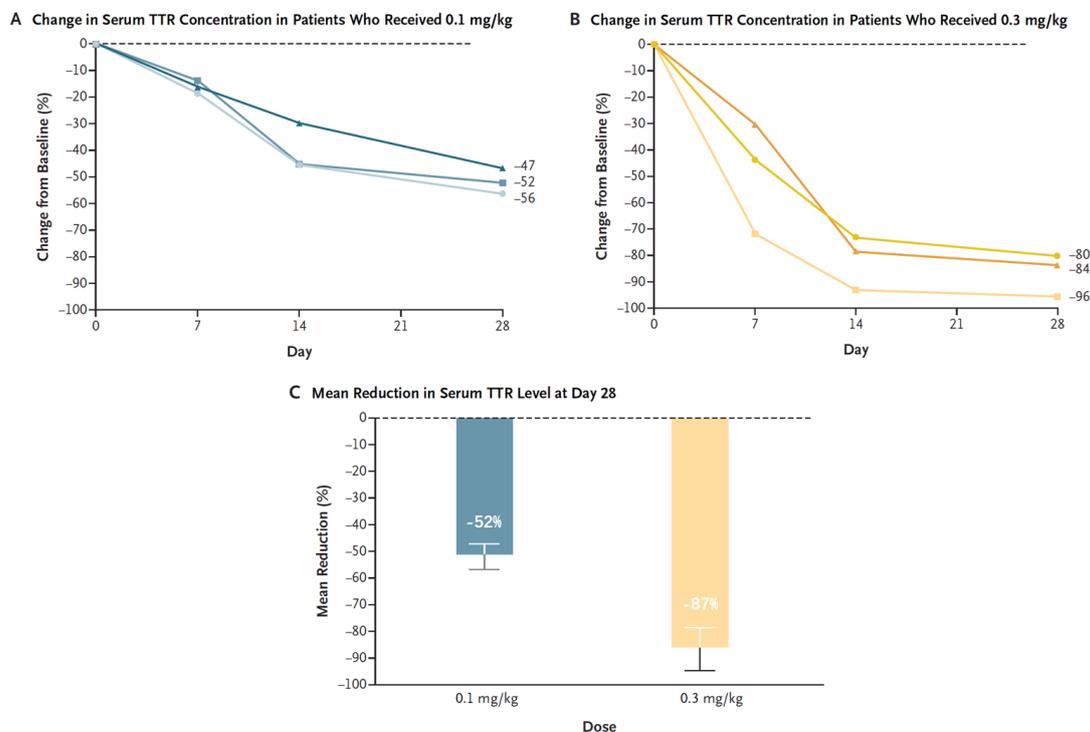


资料来源: CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis, 蛋壳研究院

2021年06月26日, 国际顶尖医学期刊《新英格兰医学期刊》NEJM发表了CRISPR体内基因组编辑疗法NTLA-2001在1期临床试验中获得积极结果, 这是首个支持体内CRISPR基因编辑安全性和有效性的临床数据。**6名接受治疗的患者中, 3名患者接受0.1mg/kg剂量, 3例患者接受0.3mg/kg剂量。有效性方面, 接受治疗28天后, 患者血清TTR的水平表现出依赖性降低, 0.1 mg/kg剂量组的患者平均降低52%, 0.3 mg/kg剂量组平均降低了87%, 并且较大剂量组有一名患者的TTR水平甚至降低了96%, 而标准治疗则往往带来约80%的TTR降低效果。安全性方面, 接受NTLA-2001治疗的6名患者表现出良好的耐受性,**

到治疗的第 28 天均未发生严重的不良反应和肝脏受损情况，值得肯定的是，研究人员使用原代人类肝细胞评估治疗剂量的 NTLA-2001 并未产生基因编辑领域的严重安全性问题“脱靶效应”。

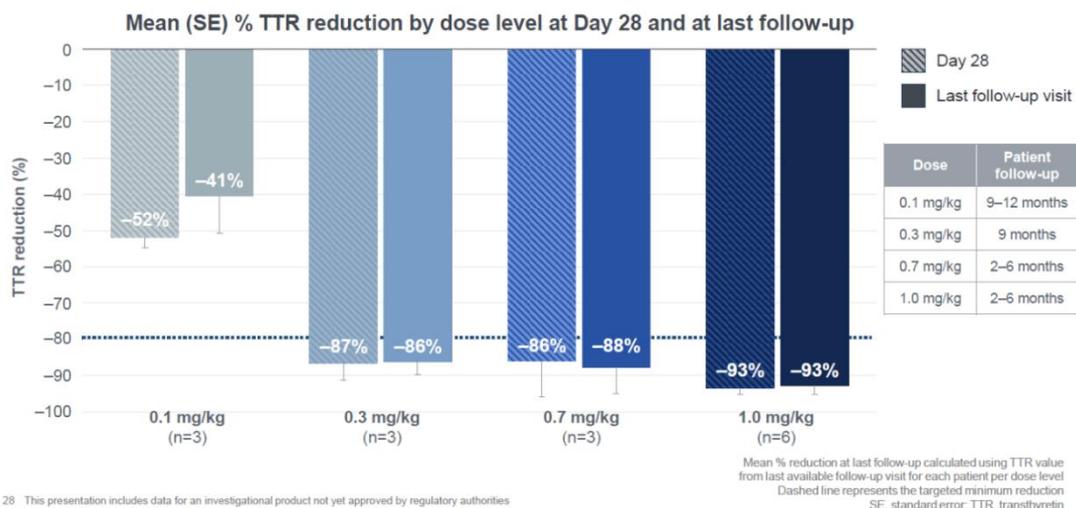
图表 30: NTLA-2001 临床 1 期 6 名患者的临床结果



资料来源: CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis, 蛋壳研究院

2022 年 3 月 1 日, Intellia Therapeutics 和再生元 (Regeneron Pharmaceutical) 公布了其体内基因组编辑候选疗法 NTLA-2001 的最新 I 期临床试验数据。此次公布的中期数据包括四个单剂量递增队列中治疗的 **15 名遗传性 ATTR 淀粉样变性伴多发性神经病 (ATTRv-PN) 患者**。有效性方面, 通过静脉输注单剂量给予 0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.7 mg/kg 和 1.0 mg/kg 的 NTLA-2001, 并测量每位患者血清甲状腺素 (TTR) 蛋白基线值的变化。NTLA-2001 治疗导致血清 TTR 的剂量依赖性降低, 并在第 28 天达到最大降低, 0.1 mg/kg、0.3 mg/kg 和 0.7 mg/kg 剂量组的三名患者平均降低分别为 52%、87% 和 86%, 1.0 mg/kg 剂量组的六名患者平均降低为 93%。随后, 研究人员们评估了他们血清中 TTR 蛋白相较于基线的水平变化, 发现 TTR 蛋白的降低水平与剂量相关。安全性方面, 在所有的四个剂量组中, NTLA-2001 的总体耐受情况良好, 大多数不良事件的严重程度较轻, 73% (n=11) 的患者报告的最高不良事件严重程度为 1 级, 最主要的不良反应包括头疼、输注相关的反应、背痛、皮疹、以及恶心, 没有观察到临床重要的肝脏发现。

图表 31: NTLA-2001 临床 1 期 15 名患者的临床结果



28 This presentation includes data for an investigational product not yet approved by regulatory authorities

资料来源: Intellia 公司官网, 蛋壳研究院

(5) 国内基因编辑管线整体仍处于临床早期阶段

国内基因编辑管线整体仍处于临床早期阶段。进展最快的是博雅辑因的体外疗法 ET-01, 处于临床 1 期, 体外疗法还有邦耀生物的 BRL101, 瑞风生物的 RM001。体内疗法包括本导基因的 BD111, 北京中因的 ZVS203e, 辉大基因的 HG-203, 以及锐正基因的相关管线。

博雅辑因的 ET-01 产品用于治疗输血依赖性β地中海贫血症 (TDT)。2021 年 1 月 18 日, 获得 IND, 2021 年 9 月 8 日, 完成首例患者入组。国内首个获国家药监局批准开展临床试验的基因编辑疗法产品和造血干细胞产品。

邦耀生物的 BRL-101 产品用于治疗β-地中海贫血。2022 年 5 月 31 日, CDE 官网显示, BRL-101 自体造血干祖细胞注射液的临床申请获得受理。BRL101 是基于邦耀生物自主研发的 ModiHSC®造血干细胞平台开发的造血干细胞基因疗法。ModiHSC®造血干细胞平台是利用 CRISPR 相关编辑系统, 慢病毒载体等技术对患者的造血干细胞进行基因修饰, 修饰后的造血干细胞回输到患者体内, 通过自我更新和分化重建修饰细胞群体, 从而达到治疗血液系统疾病的目的。

瑞风生物的 RM001 产品用于治疗β地中海贫血症, 处于临床前阶段。2022 年 5 月 6 日报道, 瑞风生物将在 2022 EHA 年会上首次公开报道 β-地中海贫血基因编辑治疗产品 RM-001 的初步临床研究成果。这是全球范围内首次报道的基因编辑修饰 γ-珠蛋白启动子的地贫临床研究, 同时也是中国药企首次在国际会议和 EHA 上报道的地贫基因编辑临床结果。

本导基因的 BD111 产品用于治疗单纯疱疹病毒性角膜炎 (HSV), 处于 Pre-IND 阶段。基于 BDmRNA 递送专利技术开发的基因编辑治疗病毒性角膜炎 (BD111), 已完成 3 例 IIT 人体临床, 是全球唯一慢病毒递送 Cas9 mRNA 技术, 世界第二例人体 CRISPR-Cas9 基因编辑治疗的人体临床研究项目。本导基因研发团队通过基因编辑和递送技术的融合, 全球首

创基因治疗递送载体——类病毒体-mRNA (VLP-mRNA)，并利用该递送技术进行了 CRISPR 基因编辑治疗病毒性角膜炎的临床前研究，实现了从角膜到三叉神经节的逆行运输，终于将潜藏在神经节的 HSV-1 病毒库清除。

北京中因的 ZVS203e 产品用于治疗 Rhodopsin 基因突变导致的常染色体显性遗传视网膜色素变性(adRP)，处于临床前阶段。

辉大基因的 HG-203 产品用于治疗湿性老年性黄斑变性 (wAMD)，处于临床前阶段。国内唯一一家拥有自主知识产权 CRISPR-Cas 基因编辑工具的企业，使用 AAV9 载体携带 RNA 编辑工具，通过玻璃体腔注射，敲低 VEGFA 基因的 mRNA。

锐正基因的体内基因编辑疗法，基于 CRISPR 技术，采用 LNP 载体递送。公司主要聚焦于细胞内包括细胞核内靶点，基于新一代安全、高效、靶向性优异的基因编辑、RNA 编辑和递送技术，行业领先算法的脱靶效应分析手段，以及经过行业验证的 CMC 工艺开发、GMP 生产和商业化经验和能力，致力于为全球患者提供能够治疗严重甚至危及生命的先天性遗传疾病和后天获得性疾病的创新药物和治疗方案。

图表 32：国内基因编辑的产品管线

给药途径	产品名称	企业名称	管线进度	适应症	基因靶点	递送方式	注射方式
体外	ET-01	博雅辑因	临床1期	输血依赖性β地中海贫血症 (TDT)	BCL11A	电转	静脉注射
	BRL-101	邦耀生物	Pre-IND	β-地中海贫血	γ珠蛋白基因	LV	静脉注射
	RM001	瑞风生物	临床前	β-地中海贫血	HBG	电转	静脉注射
体内	BD111	本导基因	Pre-IND	单纯疱疹病毒性角膜炎 (HSV)	UL8/UL29 (病毒 HSV-1)	LV	视网膜下腔注射
	ZVS203e	北京中因	临床前	Rhodopsin基因突变导致的常染色体显性遗传视网膜色素变性 (adRP)	RHO	AAV	视网膜下腔注射
	HG-203	辉大基因	临床前	湿性老年性黄斑变性 (wAMD)	VEGFA	AAV9	玻璃体腔注射

资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

2.2 基因治疗的递送方式

基因治疗研发的核心是递送方式，病毒载体由于其天然转导效率高的优势被广泛应用，其中，腺相关病毒载体 AAV 是全球目前临床研究和使用的最多的载体。通过前文阐述基因治疗的具体定义及技术路径，我们发现，基因治疗过程中必不可少的关键步骤就是外源基因的导入，即“递送方式”。目前递送方式可分为两大类，一类是病毒载体（生物学方法），一类

是非病毒载体（物理和化学法）。经人工改造失去致病能力的病毒载体是当前被广泛应用的递送方式，关键优势在于其天然转导效率高。重组腺相关病毒载体 rAAV 是临床应用最广泛的载体，因为 AAV 是目前最安全的病毒载体，不仅免疫原性低，非致病性，同时具备不整合宿主基因组保障安全性和组织靶向特异性的优势。

2.2.1 病毒载体是基因治疗的关键钥匙

基因治疗的一大核心是递送方式，理想的递送方式需具备多项要素。前文已经详细阐述基因治疗的作用机制，理论上，只要将目标基因精准递送到患者的靶细胞即可起到治疗效果，但实际上，基因达到靶细胞的效率，即“递送效率”并不理想，例如眼科疾病的递送效率仅 20-40%，而脑科疾病甚至低于10%。因此，从需求出发，理想的基因治疗载体需具备如下**特征**：首先能够剔除自动复制自身载体的能力，具有高转导效率，能感染分裂和非分裂的细胞；能靶向特定的细胞，且可以长期稳定表达转基因；同时具有较低的免疫原性或致病性，不会引起炎症；具备足够的空间来递送大片段的治疗基因；从商业化角度，需具备大规模生产（稳定可纯化易制备）的工艺等优点。

经人工改造失去致病能力的病毒载体是当前被广泛应用的递送方式，关键优势在于其天然转导效率高。目前基因治疗的递送方式可分为两大类，一类是病毒载体（生物学方法），一类是非病毒载体（包括物理和化学法）。病毒载体具备转导效率高、具有靶向组织特异性的核心优势，但存在免疫原性较高，慢病毒随机插入基因组致癌风险等安全性问题，以及规模化放大生产的瓶颈有待突破，代表性的病毒载体包括腺相关病毒 AAV，慢病毒 LV，逆转录病毒 RV，腺病毒 AdV 等。非病毒载体免疫原性低，可搭载外源基因容量较大，且操作简单，成本低，但存在转染效果差，递送效率低，靶向性差等症结问题，代表性品种包括质粒或裸露的 DNA，脂质体 LNP，以及物理电穿孔法等。因此，目前人工改造的病毒是基因治疗中最常用的载体，根据 ASGCT 数据，89%在研 CGT 项目采用病毒载体作为递送系统。

图表 33：基因治疗的递送方式

递送方式	优势	劣势	代表性品种
病毒载体	递送效率高	免疫原性高	腺相关病毒AAV
		随机插入基因组致癌的风险 (RV/LV)	慢病毒LV
	具有靶向组织特异性	成本高，生产放大难度高	逆转录病毒RV
		可搭载外源基因容量有限（小于8kb）	腺病毒AdV
非病毒载体	操作简单，成本低	转染效果差，递送效率低	质粒或裸露DNA
	免疫原性低，安全性高	靶向性差	脂质体LNP
	可搭载外源基因容量较大（几十kb）	细胞毒性（LNP，电穿孔法）	电穿孔法

资料来源：公开信息，蛋壳研究院

2.2.2 AAV 是最常用的病毒载体

天然病毒本身具备强感染性及天然将自身基因导入靶细胞的优势，因此病毒载体一旦经人

工改造，剔除其“致病能力”，即可在利用病毒“强感染性”进行外源基因导入的同时，避免病毒本身致病性给患者带来的安全隐患。以逆转录病毒为例，病毒感染细胞并表达基因的过程：病毒先与细胞表面的受体结合，通过内吞进入细胞，病毒逆转录酶将病毒 RNA 逆转录为 DNA 并插入宿主基因组中，因此病毒的遗传信息可以永久性地存在于宿主细胞中，并随细胞的分裂传递给子代细胞。因此，基因治疗的过程即，首先经人工改造得到低毒性、复制缺陷的工程病毒载体，利用基因重组技术将目标基因添加到病毒载体基因组中，再利用病毒感染患者细胞并表达自身基因组的天然能力，在细胞内表达患者自身缺失基因的功能性拷贝，并产生相应功能性蛋白，达到治疗目的。

病毒载体是否整合进宿主细胞基因组，决定了药物的应用场景。回顾我们前文梳理的已获批上市的基因增补产品，可以发现，当前获批的三款体内基因治疗产品 Glybera、Luxturna 和 Zolgensma 均采用腺相关病毒 AAV 载体，而获批的三款体外基因治疗产品 Strimvelis、Zynteglo 和 Skysona 分别采用逆转录病毒载体 RV 和慢病毒载体 LV（第二代逆转录病毒）。**这是因为**，逆转录病毒载体 RV、慢病毒载体 LV 由于能整合进宿主细胞基因组这一特性，常用于体外 CGT 将目的基因导入造血干细胞或 T 细胞（细胞治疗 CAR-T）中，实现基因的长期表达；而腺相关病毒载体 AAV 和腺病毒载体 AdV 由于感染过程温和、表达长效等优势，常用于体内 CGT，避免外源基因随机插入致癌的风险。

AAV和LV是CGT领域最常用的病毒载体。常见的病毒载体包括逆转录病毒载体RV，慢病毒载体LV，腺相关病毒载体AAV和腺病毒载体AdV。

逆转录病毒载体 RV：逆转录病毒 RV 呈球形，是具有囊膜的单链 RNA 病毒，直径为 80-130nm。RV 由两条相同的单链 RNA、逆转录酶以及包裹其外的核衣壳和包膜组成。第一代逆转录病毒以 γ -retrovirus 和 C-type retrovirus 为代表，其中 γ -逆转录病毒载体能整合到宿主细胞基因组中，1990 年作为第一个被 FDA 批准的病毒载体用于针对 ADA-SCID 的临床试验中。**优劣势：**逆转录病毒 RV 虽具备长期稳定的基因表达，感染细胞谱系广的优势，但面临着潜在基因毒性，基因插入突变的风险，同时不具有组织靶向特异性，以及仅感染分裂细胞（对神经细胞等终末分化细胞导致的基因疾病无用）等劣势。2000 年代，就有患者在接受逆转录病毒基因治疗后患上白血病，FDA 也因此停止了数十项逆转录病毒基因治疗临床试验。相关研究表明，RV 整合目标位点的选择不是随机的，病毒载体优先靶向某些区域，产生原癌基因的顺式激活或抑癌基因的抑制，以及内源性基因与病毒蛋白相互作用的反激活。

慢病毒载体 LV：由于第一代逆转录病毒 RV 存在的安全性问题，第二代逆转录病毒应运而生，代表性产品如慢病毒载体 LV。慢病毒载体 LV 来源于 HIV-1 型病毒，也是具有囊膜的单链 RNA 病毒。**优劣势：**相较于逆转录病毒 RV，慢病毒载体 LV 能够转染分裂或非分裂细胞，在适应症的拓展上更具优势，同时，慢病毒 LV 基因插入方式，使得诱发癌病的风险降低，提升安全性（因为慢病毒的基因组随机插入宿主细胞基因组的编码区，专一性不强，避免集中插入癌症基因附近、激活原癌基因，因此诱癌风险降低）。不过，慢病毒作为第二代逆转录病毒，仍面临着潜在基因毒性，基因插入突变的风险，同时不具有组织靶向特异性等弊端。回顾第一章对基因治疗发展历程的阐述，Bluebird 公司的两款基于慢病毒载体 LV 的基因治疗产品 LentiGlobin 和 Skysona，分别于 2021 年 2 月和 8 月因安全性问题（患者出现急性髓细胞白血病（AML）和骨髓细胞异常增生症（MDS））被暂停临床试验。但经调查，虽然 LV 整合了患者的 VAMP4 基因，但无证据表明 VAMP4 基因与 AML 或基因

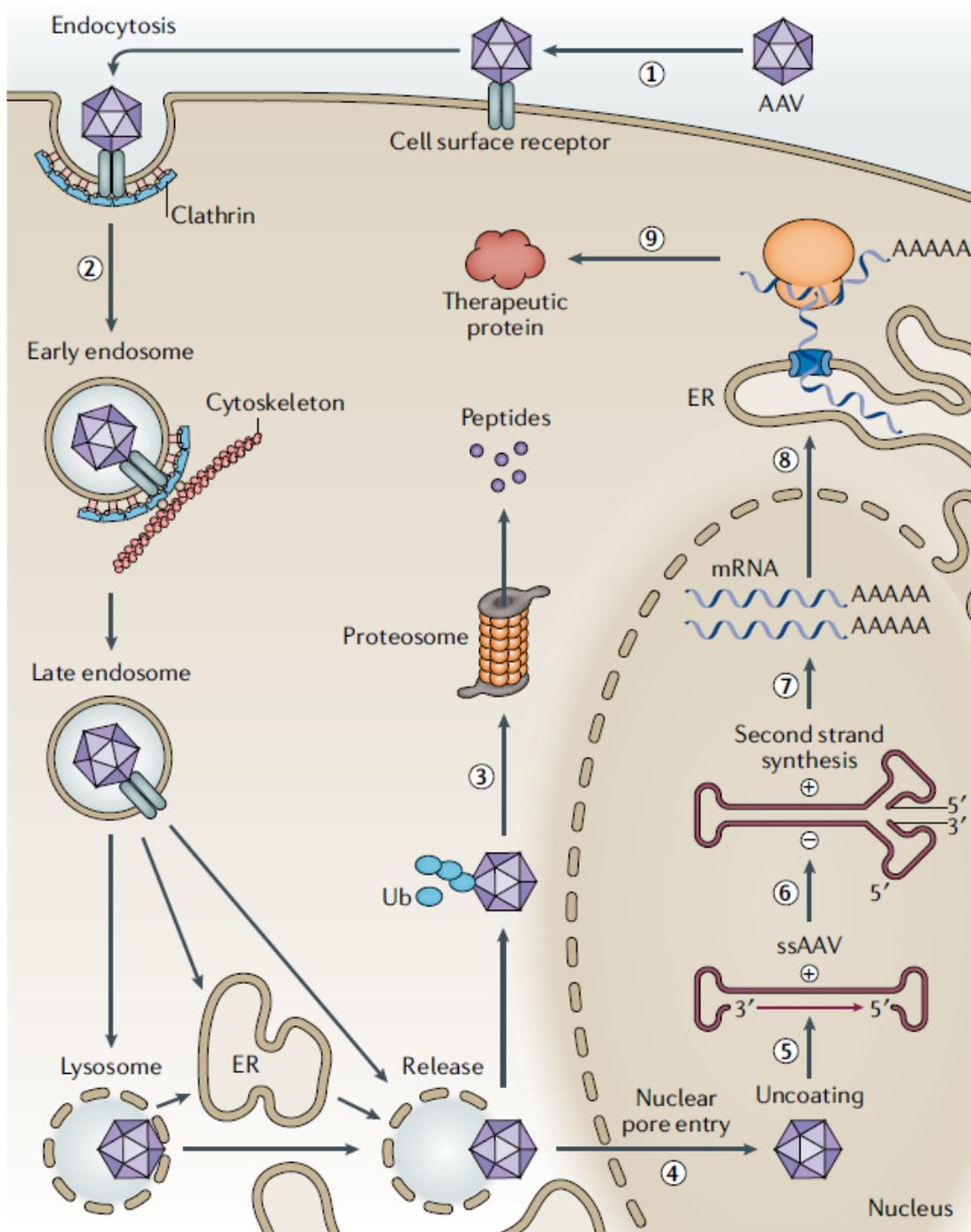
组稳定性相关，因而，2021年12月，FDA授予 Skysona 产品优先审查。

腺相关病毒载体 AAV：AAV 是微小病毒科家族成员之一，是一类无法自主复制、无被膜的 20 面体微小病毒，其直径仅 18-26nm，含有 4.7kb 左右的线状单链 DNA 作为基因组。临床采用的重组腺相关病毒载体（recombination adeno-associated virus, rAAV）是在非致病的野生型 AAV 基础上改造而成的基因载体，**rAAV 已成为基因治疗的主要递送载体。**

rAAV 只需保留 ITRs，将原基因组替换为目标基因实现重组载体的构建。野生型的 AAV 基因组包括 Rep 基因（AAV 复制和包装蛋白）和 Cap 基因（AAV 外壳蛋白），两侧有两个末端反向重复序列(ITRs)。重组载体 rAAV 携带的衣壳蛋白与野生型 AAV 基本相同，但 rAAV 衣壳内的基因组中编码病毒蛋白的部分被删除，被替换为治疗性转基因（GOI）。值得一提的是，AAV 基因组中唯一被保留的部分是 ITRs，只有 145 bp 的 ITRs 对于 rAAV 的增殖是必要的，ITRs 引导基因组的复制和病毒载体组装，在载体生产和确保在细胞中持久转导发挥重要作用。移除 96%的 AAV 基因组，不仅最大化 rAAV 携带目标基因的容量，同时降低病毒载体的免疫原性和细胞毒性。

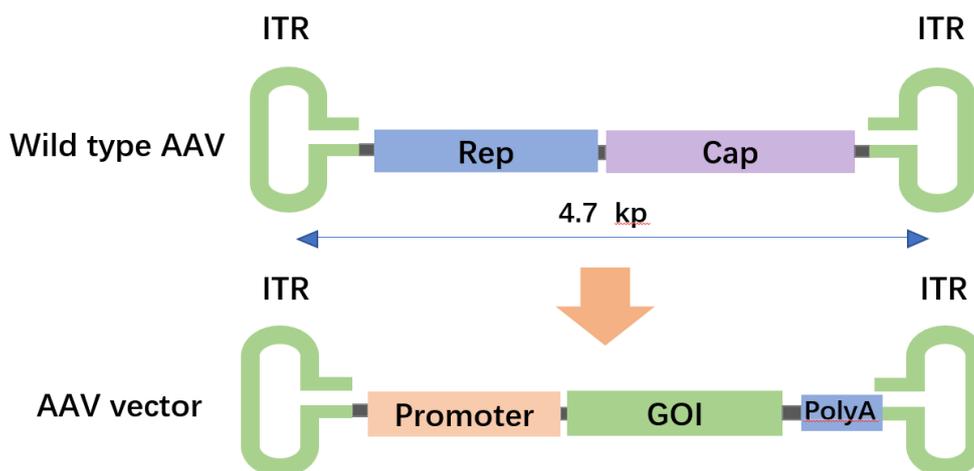
研究表明 AAV 通过在细胞表面结合主受体和共受体感染靶细胞，从而触发其内吞进入内小体。AAV 病毒粒子从核内体中释放并在细胞核周围区域积累。AAV 病毒粒子一旦进入细胞核，就会脱壳并释放其单链基因组，并将其转化为双链 DNA (dsDNA)模板，在双链 DNA 模板上进行转基因的转录和翻译。

图表 34: rAAV 载体转导过程



资料来源: Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy, 蛋壳研究院

图表 35: 野生型和重组 AAV 图示



资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院

AAV 核心优势: 安全性, 不整合宿主基因组, 靶向组织特异性。 AAV 是目前最安全的病毒载体, 免疫原性低, 非致病性。因为 AAV 缺乏独立复制能力, 只有当辅助病毒 (腺病毒、单纯疱疹病毒) 存在时才能复制、感染并裂解宿主细胞, 否则只能达到溶源性潜伏感染 (感染宿主细胞并潜伏, 但不会裂解宿主细胞)。AAV 相较于逆转录病毒和慢病毒的核心优势还体现在两方面, 不整合宿主基因组和组织靶向性。一是不整合宿主基因组避免致癌风险, 同时能做到长期稳定, 尽管 AAV 没有基因组的整合, 但 AAV 基因组进入体内后, 跟组蛋白结合, 形成一个类似染色体的结构, 非常稳定不会被降解。目前人体内的数据比较有限, 但在狗的 B 型血友病实验中, 给药 13 年以后效果依然非常好。二是组织靶向性提高特异性, 目前已发现 AAV 至少有 12 种天然血清亚型及 120 多种变型, 每一种 AAV 血清型具有不同的组织趋向性, 可靶向不同的组织。不过, AAV 由于自身基因组小, 可搭载的外源基因有限, 而且 AAV 不整合宿主基因组, 因此其搭载的外源基因可能随着细胞的分裂而稀释。

图表 36: AAV 不同血清型的组织靶向特异性不同

血清型	组织亲和性
AAV1	肌肉, 心脏, 骨骼肌(包括心肌), 神经组织
AAV2	中枢神经, 肌肉, 肝脏, 脑组织, 眼,
AAV3	肌肉, 肝脏, 肺, 眼
AAV4	中枢神经, 肌肉, 眼, 脑
AAV5	肺, 眼, 中枢神经, 关节滑膜, 胰腺
AAV6	肺, 心脏
AAV7	肌肉, 肝脏
AAV8	肝脏, 眼, 中枢神经, 肌肉
AAV9	心脏, 肌肉, 肺(肺泡), 肝脏, 中枢神经
DJ	肝脏, 视网膜, 肺, 肾脏
DJ/8	肝脏, 眼, 中枢神经, 肌肉
RH10	肺, 心脏, 肌肉, 中枢神经, 肝脏

资料来源：公开信息，蛋壳研究院

图表 37：AAV 不同血清型对相同的组织和细胞具有不同的感染效率

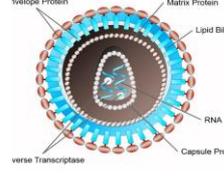
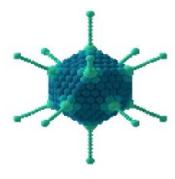
CELL LINE	AAV-1	AAV-2	AAV-3	AAV-4	AAV-5	AAV-6	AAV-8	AAV-9
HUH-7	13	100	2.5	0	0.1	10	0.7	0
HEK293	25	100	2.5	0.1	0.1	5	0.7	0.1
HELA	3	100	2	0.1	6.7	1	0.2	0.1
HEPG2	3	100	16.7	0.3	1.7	5	0.3	ND
HEP1A	20	100	0.2	1	0.1	1	0.2	0
911	17	100	11	0.2	0.1	17	0.1	ND
CHO	100	100	14	1.4	333	50	10	1
COS	33	100	33	3.3	5	14	2	0.5
MEWO	10	100	20	0.3	6.7	10	1	0.2
NIH3T3	10	100	2.9	2.9	0.3	10	0.3	ND
A549	14	100	20	ND	0.5	10	0.5	0.1
HT1180	20	100	10	0.1	0.3	33	0.5	0.1
MONOCYTES	1111	100	ND	ND	125	1429	ND	ND
IMMATURE DC	2500	100	ND	ND	222	2857	ND	ND
MATURE DC	2222	100	ND	ND	333	3333	ND	ND

备注：AAV-2 作为标准，感染效率为 100，ND = 未检测。

资料来源：In vitro and in vivo gene therapy vector evolution via multispecies interbreeding and retargeting of adeno-associated viruses，蛋壳研究院

腺病毒载体AdV：AdV是无包膜的双链DNA病毒，直径70~90nm，和AAV一样不整合宿主基因组。**优劣势：**AdV虽然也提供组织靶向特异性，但免疫原性高，系统给药可导致全身炎症反应，已有致死病例记录，且AdV在机体内表达持续时间仅3周，较AAV载体过于短期。目前常用的AdV亚型为5型和2型。我国目前有两款已上市的腺病毒载体药物，深圳赛百诺的重组人P53腺病毒注射液（今又生）和上海三维的重组人5型腺病毒注射液（安柯瑞）。

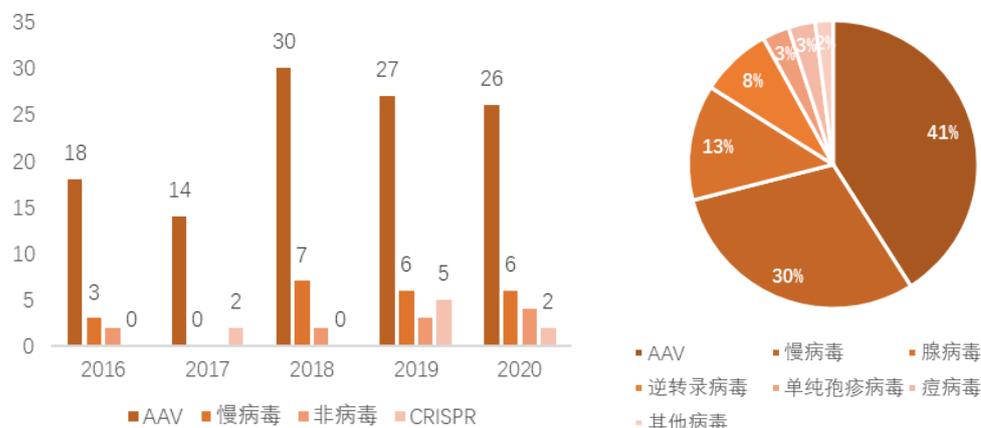
图表 38：各种病毒载体的基本参数及优劣对比

病毒载体	逆转录病毒载体RV	慢病毒载体LV	腺相关病毒载体 AAV	腺病毒载体AdV
模式图				
简述	1990年，第一个被FDA批准的病毒载体，用于针对ADA-SCID的临床	第二代逆转录病毒，来源于HIV-1型病毒，在拓展转染细胞类型及降低致癌风险上有所改进	AAV无法独立复制，是目前最安全的病毒载体，免疫原性低，非致病性	免疫原性高导致安全性低，且基因表达持续时间短
核酸类型	单链ssRNA	单链ssRNA	单链ssDNA	双链dsDNA
病毒直径	80-130nm	80-100nm	18-26nm	70-90nm
搭载容量	6-7kb	8kb	<5kb	7-8kb
靶细胞	仅转染分裂细胞	分裂/非分裂细胞	分裂/非分裂细胞	分裂/非分裂细胞
转导效率	-	70%	70%	100%
免疫原性	一般	一般	弱	强
安全性	低，不可接受的致命疾病；高风险的插入性癌发生	可接受的致命疾病；存在插入性癌发生的风险	高	低，系统给药可导致全身炎症反应，已有致死病例记录
基因整合	随机整合并稳定遗传	随机整合并稳定遗传	不整合	不整合
表达丰度及速度	高水平表达，细胞水平72h表达	高水平表达，细胞水平72h达到稳定，在体水平约表达较差，约需要96h表达	低水平表达，细胞水平需要7天左右，动物水平需要表达2周	高水平表达，细胞水平36h可达到高峰，在体水平约72h达到高峰
表达持续时间	稳定表达，有被沉默风险	稳定表达	稳定表达6个月以上	3周
优势	长期稳定基因表达；感染细胞谱系广	长期稳定的基因表达；可感染所有细胞	不整合宿主基因，免疫原性低，非致病性；血清型可直接提供组织靶向性	血清型可直接提供靶向性
劣势	病毒载体自我复制；潜在基因毒性；基因插入突变；不具有靶向性；仅感染分裂细胞（神经细胞等终末分化细胞无用）	病毒载体自我复制；潜在基因毒性；基因插入突变；不具有靶向性	可搭载目的基因片段较小；缺乏持久的基因表达，目的基因可能被稀释	较强的免疫原性；基因表达持续时间短
代表产品	Strimvelis, Yescarta	Zynteglo, Skysona, Kymriah	Glybera, Luxturna, Zolgensma	Gendicine (今又生), Oncorine (安柯瑞)

资料来源：Entering the Modern Era of Gene Therapy, 和元生物官网, 蛋壳研究院

AAV 是全球临床研究和使用的最多的载体。基于 AAV 的细胞与基因治疗临床试验，是临床试验中使用最多的病毒载体。

图表 39: 技术公开的基因疗法交易 (左图), 全球 CGT 临床试验载体占比 (右图)

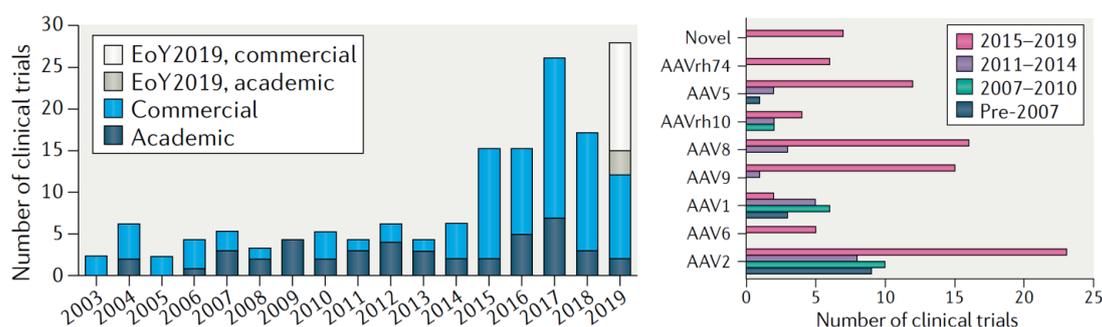


资料来源: An Analysis Of The Gene Therapy Viral Vector Landscape, 蛋壳研究院

全球采用 rAAV 的基因治疗临床试验数量激增。根据 Nature Reviews Drug Discovery 披露, 从 2003 年到 2019 年, 使用 AAV 作为载体的临床研究逐年增多, 就目前来看, 大多数研究处于临床早期阶段。2003-2019 年合计登记 149 项临床试验。每年启动的试验数量从 2010 年的 5 项增加到 2017 年的 26 项。

AAV 亚型中, AAV2 最常用, AAV8 和 AAV9 近年增多。从临床试验来看, AAV 主要用于眼部、大脑、肌肉和肝脏疾病的治疗中。据 Dmitry A. Kuzmin 等统计, AAV2 血清型使用最多, 其最具安全性和有效性。2015 年以来, AAV8 和 AAV9 逐步成为治疗中枢神经系统疾病 CNS 的临床选择。

图表 40: 采用 rAAV 临床数量激增 (左图), AAV 不同血清型的临床数量 (右图)



资料来源: Nature Reviews Drug Discovery, The clinical landscape for AAV gene therapies, 蛋壳研究院

3 CGT CDMO 解决病毒载体规模化生产的瓶颈，助推商业化进程

基因治疗产业链的中游即基于基因增补和基因编辑技术路径，进行基因治疗药物研发的药企，而上游是病毒载体的生产制备厂商，为基因治疗的实施提供基础保障，下游则是各类罕见病/遗传病患者。第二章，我们已经阐述基因治疗的两大技术路径以及相关产品细节，发现基因治疗药物的价格普遍极其高昂，2019年FDA批准的诺华的Zolgensma产品用于治疗2岁以下的SMA，定价高达212.5万美元，有“全球最昂贵药物”之称。而EMA于2012年和2016年批准的两款基因治疗产品Glybera和Strimvelis，均因商业化销售堪忧，分别于2017年被迫退市和2018年被GSK出售。因此本章，我们着眼于基因治疗产业链的上游CGT CDMO，解决病毒载体规模化生产的瓶颈，降低生产成本，助推基因治疗的商业化进程。

3.1 基因治疗产业链的上游主导病毒载体的生产，是基因治疗商业化的核心

基因治疗产业链可分为上游，中游和下游。

上游是病毒载体的生产厂商。病毒载体的生产步骤包括：目的基因制备，病毒载体构建，重组病毒培养，重组病毒纯化（层析&过滤等），质量控制等环节，各环节涉及多种设备及试剂耗材。海外企业例如赛默飞，思拓凡等基本覆盖了病毒载体生产的全流程，国内企业在各环节上有所侧重，例如主营病毒载体构建的企业包括和元生物，药明生基，金斯瑞，诺唯赞等，重组病毒培养与纯化的企业包括宜明细胞等。

中游是基因治疗的制药企业，包括基因增补，基因编辑两类药企。基因增补的国外企业包括已有产品上市的罗氏（Spark），诺华（AveXis），Orchard（GSK），Bluebird，uniQure等，基因增补的国内企业包括纽福斯生物，信念医药，天泽云泰，朗信生物，北京中因，至善唯新，本导基因，辉大基因等。基因编辑的国外企业包括CRISPR发明者创立的CRISPR，Intellia，Editas，基因编辑的国内企业包括博雅辑因，本导基因，北京中因，瑞风生物，辉大基因，克睿基因，邦耀生物，正序生物等。

下游是各类罕见病/遗传病患者。包括2型先天性黑蒙症（LCA），脊髓性肌肉萎缩症（SMA）， β -地中海贫血（TDT），A/B型血友病，遗传性视网膜病变等。

图表 41: 基因治疗产业链及参与企业

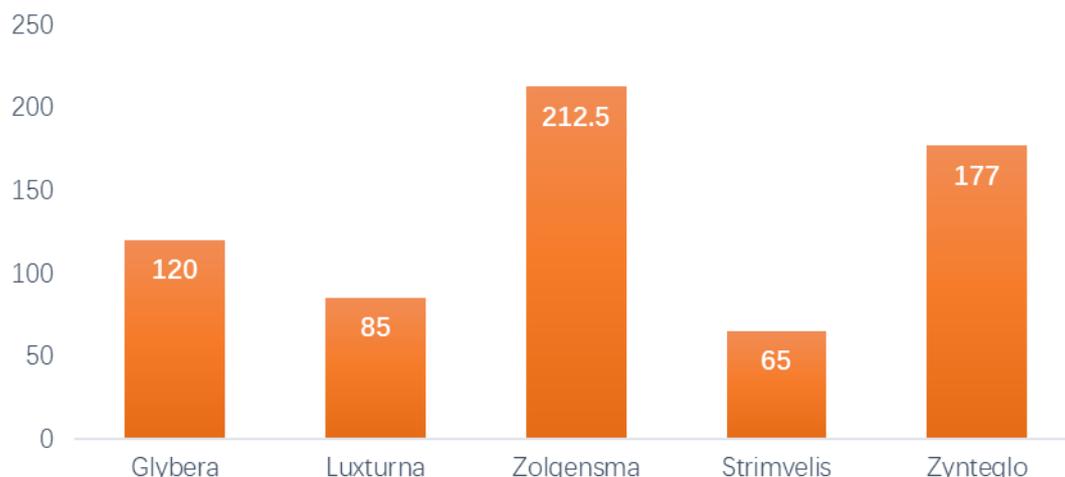


资料来源: 公开信息, 蛋壳研究院整理

病毒载体的规模化生产是基因治疗合理商业化定价的核心。第一章我们已经阐述, 基因治疗的研发优势, 体现在一旦解决递送方式, 研发难度反而较传统药物更低。第二章也阐述了, 病毒载体由于其天然转导效率高的优势, 已经成为基因治疗的主流递送方式。然而, 病毒载体的规模化生产面临诸多瓶颈, 不仅导致产能供需缺口大, 同时反映到基因治疗终端产品的商业化定价极其高昂。来自加拿大国家研究委员会人类健康治疗研究中心的科学家们在《Cell & Gene Therapy Insights》上发表的文章中指出, “稳健且经济的病毒载体生产是细胞和基因治疗商品化的核心挑战之一”。

首先, 基因治疗产品的商业化定价普遍极其高昂。回顾第二章梳理的已上市产品, 其中, 2019年FDA批准诺华的Zolgensma产品, 定价高达212.5万美元(合人民币1400万元)/次, 有“全球最昂贵药物”之称, 其余几款产品的平均治疗费用也在100万美元以上。此前, EMA于2012年和2016年批准的两款基因治疗产品Glybera和Strimvelis, 均因商业化销售堪忧, 分别于2017年被迫退市和2018年被GSK出售。究其原因, 除了罕见病适应症患者基数本身较少以外, 基因治疗研发及生产成本过高导致的终端商业化定价极其高昂, 且保险支付体系欠缺, 导致实际有支付能力的患者寥寥无几。

图表 42：基因治疗药物定价极其高昂，单位（万美元）



资料来源：公开资料，蛋壳研究院

控制病毒载体的生产成本是基因治疗产品合理定价的关键。一来，根据《纽约时报》的报道，基因治疗研发费用中 1/3 用于上游病毒载体的生产制备，降低病毒载体的生产成本能有效控制终端定价；二来，随着基因治疗给药范围的扩大，对病毒载体的需求量呈指数级增长，带来终端定价的显著攀升。从终端产品的商业化定价，我们发现，Luxturna 采用视网膜下腔注射，定价 85 万美元，而全身静脉注射的 Zolgensma 售价高达 212 万美元。因为从局部的眼部注射，到大脑，再到肌肉，甚至全身血液注射，每个患者所需的病毒载体数量呈指数级差异。

图表 43：基因治疗所需 AAV 数量随系统性给药呈指数级增长

递送部位	对病毒载体的需求量 (vg)
眼睛	10^{11}
大脑	10^{12}
肝脏	10^{14}
肌肉	10^{15}
血液	10^{15}

资料来源：Nature Reviews Drug Discovery，蛋壳研究院

3.2 病毒载体的规模化生产存在诸多壁垒，产能极度短缺

病毒载体的生产涉及多项工艺，步骤繁琐。病毒载体生产的上游（USP）主要包括病毒构建（转染）和细胞扩增培养，下游（DSP）则包括细胞裂解、澄清、浓缩、洗滤、层析纯化、精制及除菌过滤等多项工艺。

图表 44：病毒载体的生产步骤繁琐

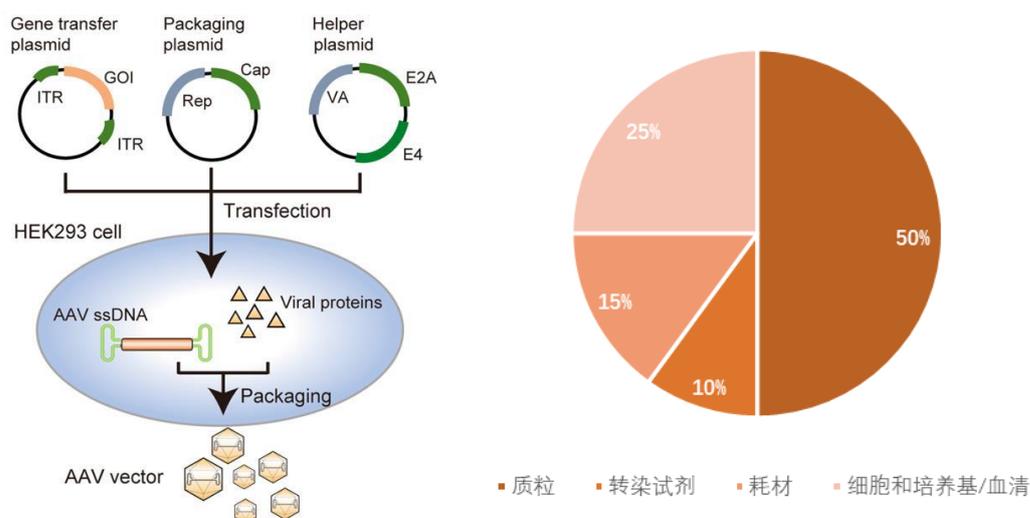


资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

rAAV 最常用的生产方式是经典的 HEK293 细胞/三质粒共转染系统。由于 AAV 缺乏独立复制能力，需要在辅助病毒存在的情况下，才能增殖子代病毒。但生产制备过程中，难以清除辅助病毒颗粒，造成细胞基因毒性。因此目前，重组 rAAV 的生产不采用辅助病毒，而是采用 pHelper 质粒。经典的 HEK293 细胞/三质粒共转染系统 (Helper-free AAV 包装系统)，通过将 3 个质粒共转染到 HEK293 细胞中，然后从细胞裂解物和培养基中分离纯化 AAV。rAAV 的三质粒系统：包含目的基因 GOI 的质粒，与复制 REP 和衣壳 CAP 有关的 AAV 血清型质粒，以及 AAV 辅助质粒 (提供从腺病毒中分离的辅助基因)。

质粒DNA是AAV的核心原材料和主要成本来源。根据Polyplus公司披露，GMP级别质粒占 AAV生产成本的40-60%。质粒价格约为10-30万美元/g，在贴壁培养方式中占成本的20%，在悬浮培养中则达到38%。质粒用量大约为1μg/106个细胞。对于病毒载体生产，每升生物反应器大约平均需要0.5mg质粒DNA进行瞬时转染细胞，各厂家依据所用转染试剂的不同，每升生物反应器的质粒需求量也有所差异。

图表 45：HEK293 细胞/三质粒共转染系统（左图），病毒载体生产成本（右图）



资料来源：International JVA of Hematology, Polyplus, 蛋壳研究院

病毒载体的生产面临诸多工艺壁垒及人才壁垒。病毒载体生产的上游（USP）难点包括：质粒是 AAV 的主要成本来源，如何减少瞬时转染所需的质粒数量以及提高转染效率；如何提高细胞培养密度，扩大产能。下游（DSP）主要难点在层析纯化环节，目前病毒载体 DSP 整体收率仅 20-30%，难点在于 USP 中存在的空壳病毒（不含有治疗基因但会引起免疫反应），如何降低空壳率。正是由于病毒载体的工艺开发难度大，国内具备良好病毒经验、工艺背景和丰富生产管理经验的复合型人才招聘极度稀缺。

病毒载体的生产有很高的资金壁垒。CGT CDMO 需重资产投入（数亿美元），才能建立符合 cGMP 标准的厂房及设备。下图列示了病毒载体生产的各环节需要的各类设备及试剂耗材，设备包括生物反应器，离心机，层析柱等，试剂耗材包括质粒、培养基、HEK293 细胞等。然而，病毒载体生产所需的设备和试剂耗材基本依靠进口，成本更为高昂。

图表 46：病毒载体的生产各环节所需设备及试剂耗材



资料来源：公开信息，蛋壳研究院

全球病毒载体的产能极度短缺，且短期无法解决产能瓶颈。目前市场上能够大规模生产质粒 DNA 和病毒载体的 CDMO 公司相对较少，大多数具备生产能力的 CDMO 公司都处于供不应求的状态。据 L.E.K 统计，CGT CDMO 全球平均等待时间长达 16 个月，甚至 2 年。据 Roots Analysis 分析，病毒载体产能至少需要增加 1-2 个数量级，未来才能满足产品需求。

3.3 CGT CDMO 解决病毒载体的生产瓶颈，产业链上必不可少的参与者

前文，我们已经阐述了基因治疗产业链的上游主导病毒载体的生产，是基因治疗商业化的核心。然而，病毒载体的规模化生产面临诸多瓶颈，门槛极高，当前面临产能极度短缺的现状。和传统创新药研发产业链类似，CGT 领域也衍生出了一类提供生产研发外包服务的 CDMO 企业，帮助药企降本增效，提升研发效率。

病毒载体的生产门槛高，大量初创平台缺乏上游生产线的配置实力。根据沙利文，CGT 在临床前和临床阶段的研发费用是传统药物的 1.2-1.5 倍，因为 CGT 病毒载体生产成本高，各类活性及安全性测试繁琐。回顾 3.1 和 3.2 小节，基因治疗产业链上游的病毒载体的生产制备步骤繁琐、工艺难度大、制备周期长，且需要多种设备及相关试剂耗材的支持。然而，这些上游设备及试剂目前仍主要依靠进口，国产化率不到 10%。同时，CGT 基础研究和技

术孵化往往源自高校、科研院所、医疗机构、初创型技术公司，尽管其在基因功能研究、基因编辑技术和疾病模型等方面具有扎实的学术背景，但对产业化和商业化知之甚少。更重要的是，对于大量初创型的研发平台来说，并不具备大额投入固定资产投资全套生产装置的能力。而对于大型药企，更应当将资源侧重于药物研发和临床试验本身，而无需重复建设符合 cGMP 的生产设备及配套的纯化、质检设备。

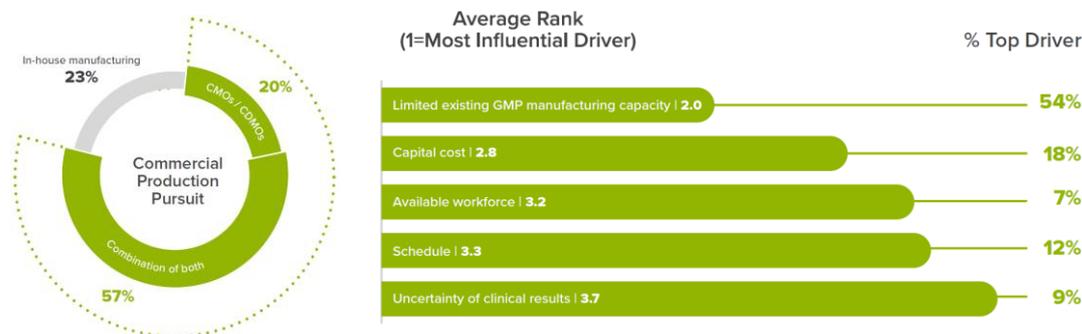
图表 47: CGT 与传统药物的研发费用对比 (百万美元)

	发现阶段	临床前阶段	临床 I 期	临床 II 期	临床 III 期
传统药物	400-450	200-250	70-80	180-200	400-500
CGT 药物	900-1100		800-1200		

资料来源: 沙利文, 蛋壳研究院

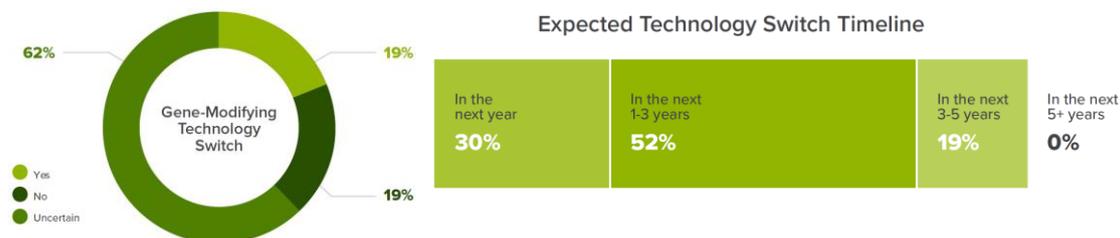
CGT CDMO降本增效, 其生产外包渗透率远高于传统药物。据J.P.Morgan统计, 基因治疗的外包渗透率超过65%, 远超传统生物制剂的35%。2021年, CRB对150家基因治疗企业的调研显示, 仅23%的企业选择完全自主搭建产线, 绝大多数企业选择完全 (20%) 或部分 (57%) 外包给CDMO生产。究其原因, 药企选择CDMO外包的主要原因是缺乏GMP级的生产产能 (占54%), 另外18%和12%的企业从研发成本和研发周期角度考虑。另外, 根据CRB调查, 高达81%的公司表示未来5年可能发生研发技术的更换, 而FDA要求产品申报IND时必须明确生产工艺, 一旦有重大变更需重新申报, 因此CDMO为药企提供了多样化工艺的灵活选择, 避免了药企由于技术变更导致的生产工艺变更的转换成本。

图表 48: CGT 企业生产模式 (左图), CGT 企业选择 CDMO 的原因 (右图)



资料来源: CRB: Cell and Gene Therapy Industry Report - Final (19Oct2020), 蛋壳研究院

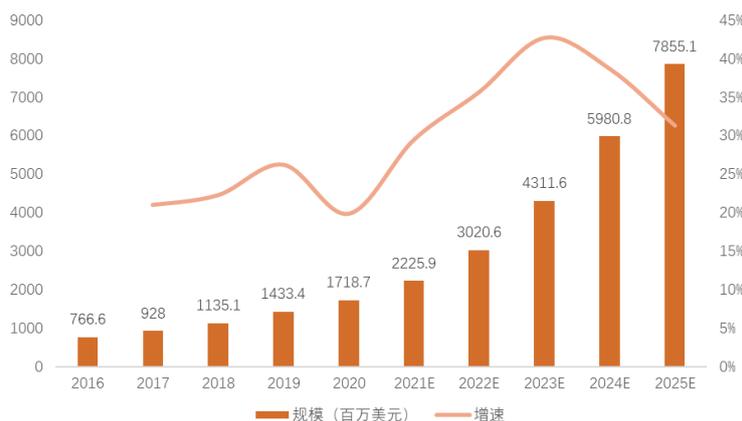
图表 49: CGT 企业更换技术意愿 (左图), CGT 企业技术更换时间 (右图)



资料来源: CRB: Cell and Gene Therapy Industry Report - Final (19Oct2020), 蛋壳研究院

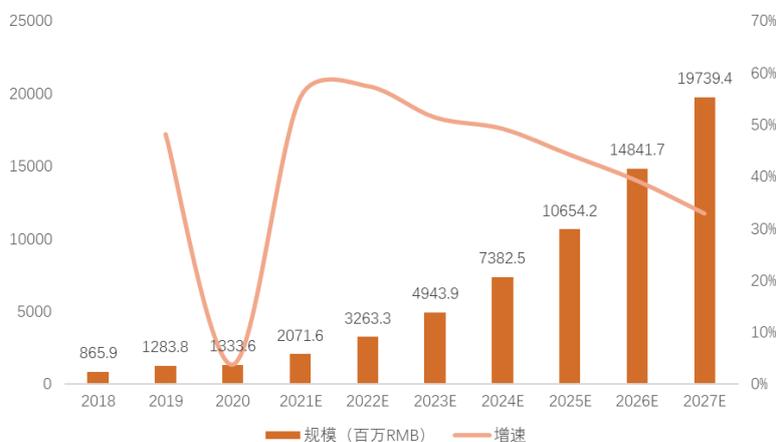
CGT CDMO 市场快速扩容。据沙利文, 全球 CGT CDMO 市场规模从 2016 年 7.67 亿美元增长至 2020 年 17.19 亿美元, 年复合增长率 22.4%。预计 2025 年市场规模达 78.66 亿美元, 2020 年至 2025 年复合增长率达 35.5%。中国 CGT CDMO 从 2018 年至 2022 年, 市场规模由 8.7 亿人民币预计增至 32.6 亿人民币, 预计 2027 年市场规模达 197.4 亿人民币。CGT CDMO 将迎来黄金期, 未来将有更多公司通过并购或扩张布局这一领域。

图表 50: 全球 CGT CDMO 市场规模及增速



资料来源: Frost & Sullivan, 蛋壳研究院

图表 51: 中国 CGT CDMO 市场规模及增速



资料来源: Frost & Sullivan, 蛋壳研究院

4 三维度剖析基因治疗的挑战及趋势展望（技术+生产+商业化）

4.1 基因治疗面临技术&生产&商业化的多重挑战

4.1.1 技术挑战

基因治疗的两大技术路径，基因增补和基因编辑虽然在治疗罕见病等遗传病领域展现出巨大潜力，但依旧存在各自的技术挑战。例如，由于目的基因的制备相对容易，因此基因增补的技术挑战集中于递送载体本身，包括如何提升转导效率，提高靶向组织特异性，AAV 载体容量小，以及可能面临的免疫障碍（适应性免疫反应和先天免疫反应）等。而基因编辑面临的最大的技术挑战即脱靶效应——CRISPR 编辑系统对体内非目标区域的 DNA 双链进行了错误切割——可能引发的安全性问题。

(1) 递送载体的技术挑战

(A) 转导效率：第二章已经阐述，基因治疗的一大核心就是转导效率，即目标基因到达靶细胞的效率，转导效率越高，目标基因才能更好地发挥治疗作用。

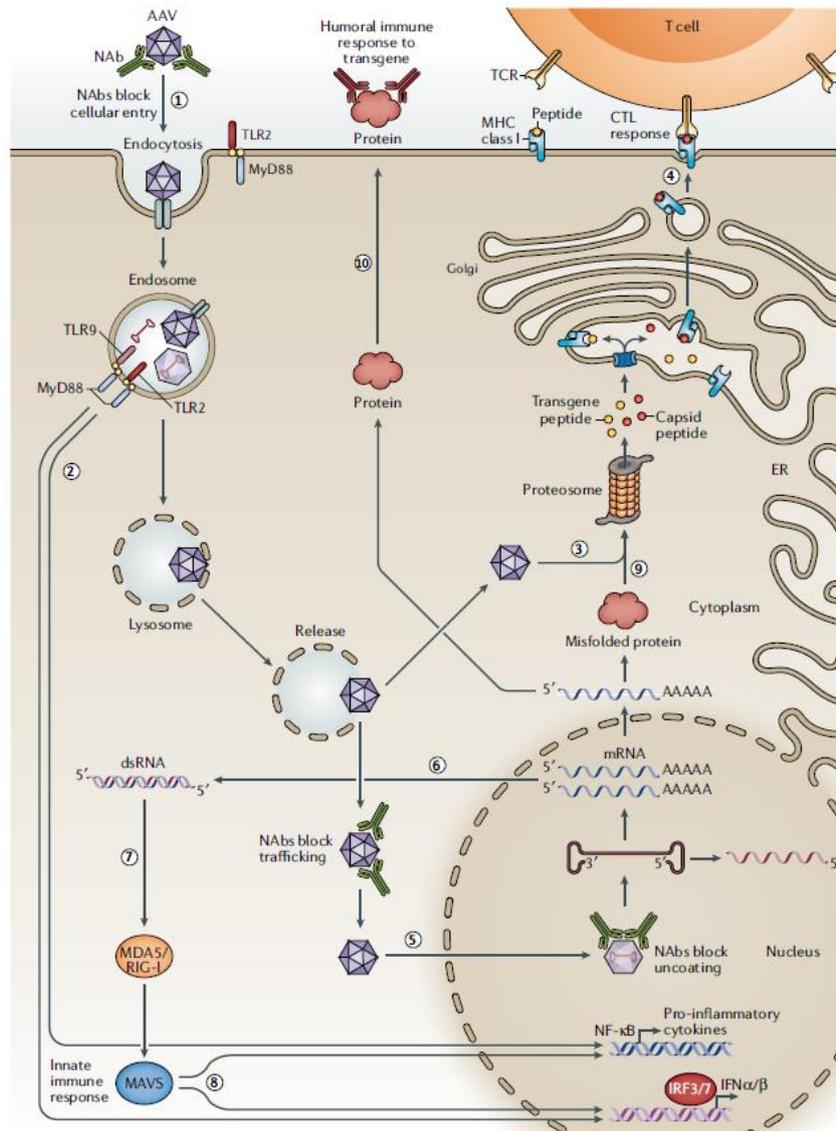
(B) 靶向组织特异性：研究表明，特异性表达是基因治疗的核心，在脱靶组织或细胞类型中的基因表达可能导致毒性或触发不必要的免疫反应。由于不同适应症的患病部位不同，比如眼部，肌肉，脑组织等，提高转基因过程的靶向组织特异性有助于提升治疗效果。AAV 进入细胞的过程依赖于细胞表面糖基化受体识别 AAV 衣壳蛋白，因此 AAV 衣壳蛋白决定了其靶向组织特异性。不过，自然发现的 AAV 品种有限，前文已经列示，目前已分离和研究的自然血清型为 12 个。

(C) AAV 载体容量小：AAV 作为微小病毒科家族成员之一，病毒基因组小，能搭载的目标基因容量只有 4.7kb，无法搭载过大的基因片段，比如编码肌营养不良蛋白的基因(治疗杜氏肌萎缩症所需的基因)，FVIII(用于治疗血友病 A)和视网膜特异性磷脂转运 ATP 酶 ABCA4(用于治疗视网膜变性疾病如黄斑变性疾病)等。

(D) 免疫障碍：宿主免疫反应是 AAV 载体基因治疗能否有效转导并长期表达的重要障碍。临床数据显示，AAV 载体在低剂量给药时，免疫反应不强烈，但在高剂量给药时可能引起较为强烈的炎症免疫反应，对组织器官表现出毒性效应，同时免疫反应还会抑制药效。**免疫反应主要包括适应性免疫反应(adaptive immunity)如 CTL 应答、中和抗体 NAbs，以及对 AAV 转导后的先天免疫反应 (innate immunity)。****CTL 应答：**在 rAAV 转导过程中，衣壳的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)应答会清除 rAAV 转染的靶细胞，导致治疗失败，而 CTL 反应的水平依赖于靶细胞上呈现的衣壳特异性抗原的水平，这和器官移植手术中的急性免疫排斥类似。**中和抗体 NAbs：**中和抗体(NAbs)结合到腺相关病毒(AAV)载体病毒粒子的表面，以防止 AAV 病毒粒子与靶细胞相互作用并进入靶细胞，并阻止 AAV 病毒粒子在细胞核内的有效的细胞内运输和脱壳。流行病学分析表明，约 40-80%的人血清抗 AAV 抗体呈阳性反应，这表明人源性衣壳可能并不是最理想的基因治疗载体。因为已经存在的 AAV 衣壳免疫，可能面临还未递送目标基因，就被免疫系统消灭的风险，从而降低转导效

率。同时，AAV 中和抗体的存在也可能影响基因治疗多次给药的治疗效果，已发表的研究表明，约 50%的人感染 AAV 后可能有中和抗体，尤其对于需全身使用 AAV 载体才能成功治疗的患者，例如患有神经系统疾病和肌肉紊乱的患者，NABs 尤其成问题。**先天免疫反应：**研究显示，在 rAAV 转导成功后，衣壳和基因表达盒均能引起先天免疫反应，主要是由于衣壳在核内体中被降解之后，AAV 基因盒暴露出来，被 TLR 受体识别。会产生类似移植手术中的慢性免疫排斥反应，导致基因治疗药物在体内发生长期毒性、表达量无法控制，并很快在体内沉默。

图表 52：影响 rAAV 基因治疗的免疫学障碍



备注：（1）中和抗体(NABs)结合到腺相关病毒(AAV)载体病毒粒子的表面，以防止 AAV 病毒粒子与靶细胞相互作用并进入靶细胞，并阻止 AAV 病毒粒子在细胞核内的有效的细胞内运输和脱壳；（2）AAV 病毒粒子通过内吞作用进入细胞后，在核内体中降解，使 AAV 基因组或衣壳暴露于 toll 样受体 9 (TLR9)或 TLR2 等受体，通过 MYD88 驱动途径触发先天性免疫应答，需要注意的是，不同类型的细胞可能包含不同的先天免疫传感器；（3）一些 AAV 病毒粒子能成功逃脱核内体进入细胞质，它们的衣壳在蛋白酶体中被

泛素化并降解为小肽和表位；(4) 这些小肽和表位被装载在 MHC I 类分子上，呈现在靶细胞表面，使细胞被识别，并最终被特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)反应所消除；(5) AAV 病毒粒子到达细胞核并脱壳；(6) 转录发生，正链和负链 RNA 由 AAV 基因表达盒的 ITRs 生成，并输出到细胞质中形成双链 RNA；(7) 双链 RNA 被 dsRNA 传感器 MDA5/RIG-I 识别，(8) 激活了先天免疫反应；(9) 转基因表达后，任何错误折叠的蛋白在蛋白酶体中被降解，(4) 产生的小肽和表位再次结合 MHC I 类并触发 CTL 对转基因组的反应，以至于 AAV 转导的靶细胞可被转基因特异性 CTL 识别和清除；(10) 最后，治疗产物可被分泌到循环中，并被抗原呈递细胞吸收以激活 B 细胞，产生抑制剂，通过体液免疫反应中和治疗蛋白。

资料来源：Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy，蛋壳研究院

(2) 基因编辑的技术挑战

(A) 脱靶效应 (Off-target effect)：虽然 CRISPR 基因编辑系统理论上能够，通过 sgRNA 与目标 DNA 的碱基互补配对来识别需要编辑的位点，实现对任何基因组序列的精准定点修饰。野生型 Cas9 蛋白切割双链 DNA 形成双链断裂 (Double-strand Breaks, DSBs)，从而增加脱靶效应的几率。2022 年 3 月 2 日，发表在 Nature 的研究显示，通过冷冻电镜观察到，当 sgRNA 在第 18-20 个碱基错配时，此时配对结构较松散，但 Cas9 酶并没有放弃前进，而是通过一个手指状结构紧紧抓住错配区，从而稳定了 RNA-DNA 双链，使其表现地像正确配对，为 Cas9 对 DNA 的切割铺平道路，从而导致严重的安全性问题“脱靶效应”——即 CRISPR 编辑系统对体内非目标区域的 DNA 双链进行了错误切割，导致染色体重排，要么切除了具有功能活性的基因，导致各种生理或信号异常；要么切除了抑癌基因，导致细胞癌变风险增加。

(B) Cas9 酶自身的大尺寸：CRISPR-Cas9 基因编辑技术，除了面临潜在的脱靶效应外，Cas9 酶自身的大尺寸也是限制其更广泛应用的一大难题。目前广泛使用的 Cas9 核酸酶具有较大的分子尺寸 (通常大于 1000 个氨基酸)，而广泛应用于基因治疗中的腺相关病毒 (AAV) 载体的承载容量却十分有限，在容纳 CRISPR 核酸酶与 sgRNA 的编码序列之余往往难以承载更多其他功能元件，这严重限制了其在基因治疗等领域的应用。

4.1.2 病毒载体的生产瓶颈

第三章，我们已经阐述了病毒载体的生产瓶颈。**病毒载体生产的上游 (USP) 难点包括：**如何减少瞬时转染所需的质粒数量以及提高转染效率，从而降低质粒成本 (AAV 主要成本来源)；如何提高细胞培养密度，扩大产能。

下游 (DSP) 主要难点在层析纯化环节，尤其是去除空壳病毒。因为 AAV 常用于体内基因治疗，对纯度要求高。去除工艺相关杂质 (细胞基质、培养基组分等) 较容易，采用核酸酶、超滤、亲和层析即可；但产品相关杂质如空壳病毒、降解产物等较难去除。目前病毒载体 DSP 整体收率仅 20-30%，难点在于上游 USP 粗液中大量存在的空壳病毒 (占比高于 70%)，其不含有治疗基因但衣壳蛋白本身会引起免疫原性风险。而且，空壳病毒会和完整病毒衣壳竞争感染患者细胞表面有限的受体，导致转导效率降低，因此为了保证治疗效果，空壳率越高需要越大的治疗剂量，从而带来高剂量副作用，尤其对于靶向大脑、脊髓等体积较小的组织。

4.1.3 商业化困境

回顾第一章我们对基因治疗发展历程的阐述，EMA 于 2012 年和 2016 年批准的两款基因治疗产品 Glybera 和 Strimvelis，均因商业化销售堪忧，分别于 2017 年被迫退市和 2018 年被 GSK 出售。

一方面，罕见病适应症的患者基数本身较少。Glybera 用于治疗脂蛋白脂肪酶缺乏症 LPLD，该疾病过于罕见，发病率约为 1/100 万且误诊率较高。上市期间仅 1 位患者接受了该治疗。Strimvelis 用于治疗腺苷脱氨酶 ADA 突变导致的重度联合免疫缺陷症(ADA-SCID)，该疾病极为罕见，每年欧洲仅新增 15 例患者，因此截至 2017 年，仅 2 名患者接受治疗。直到 2018 年 4 月，GSK 将 Strimvelis 出售给 Orchard 时，仅 5 例患者接受了该治疗。

另一方面，基因治疗产品的商业化定价极其高昂。第三章我们已经阐述，基因治疗的产品 2019 年 FDA 批准诺华的 Zolgensma 产品，定价高达 212.5 万美元（合人民币 1400 万元）/次，有“全球最昂贵药物”之称，其余几款产品的平均治疗费用也在 100 万美元以上。基因治疗研发成本过高导致的终端商业化定价极其高昂，加之保险支付体系欠缺，导致实际有支付能力的患者寥寥无几。

4.2 从技术&生产&商业化维度，展望基因治疗发展趋势

4.2.1 技术趋势，提高基因治疗的安全性、有效性及耐久性

(1) 递送载体的技术趋势

由于 AAV 载体由基因组和衣壳蛋白两部分组成，为了克服递送载体的技术挑战，往往从这两部分着手。为提高转导效率，采用“基因表达盒工程”。为提高靶向组织特异性，采用“衣壳工程”，因为 AAV 衣壳蛋白决定了其靶向组织特异性——AAV 进入细胞的过程依赖于细胞表面糖基化受体识别 AAV 衣壳蛋白。针对 AAV 载体容量较小的问题，有两类改进方案，一是将大体积的目的基因分包到两个（或多个）载体，再利用 ITR 序列的同源重组合并 AAV 基因组，二是只截取保留目的基因的功能性片段。为克服机体的免疫障碍，也可以从“基因表达盒工程”和“衣壳工程”着手。

(A) 为提高基因转导效率，发展趋势：利用“基因表达盒工程”，方法有三。

(1) 突变 AAV 载体上的 ITRs（末端反向重复序列）：因为 ITRs 会启动单链 AAV 基因组合成 dsDNA，导致 AAV 转导效率受限。突变 ITRs 防止 Rep 蛋白剪切，产生特异性的自互补 AAV (scAAV) 中间体。研究表明，由 scAAV 编码的 GFP 或 FIX 比传统单链 AAV 载体编码的 GFP 或 FIX 表达更快，表达水平更高。重磅产品 Zolgensma 的核心正是 scAAV 载体。

(2) 使用组织特异性启动子：因为启动子与基因表达量和表达时限相关。过往 rAAV 载体使用的启动子大多为单向通用型启动子，但使用组织特异性启动子可开启一个更具细胞特异性和自然的表达谱，增加目标基因表达效能，并且不易沉默。另外，开发具备基因开关作用的诱导型启动子，可能改变过往基因治疗被认为永久性改变患者遗传物质且无法被关闭或调整的风险。

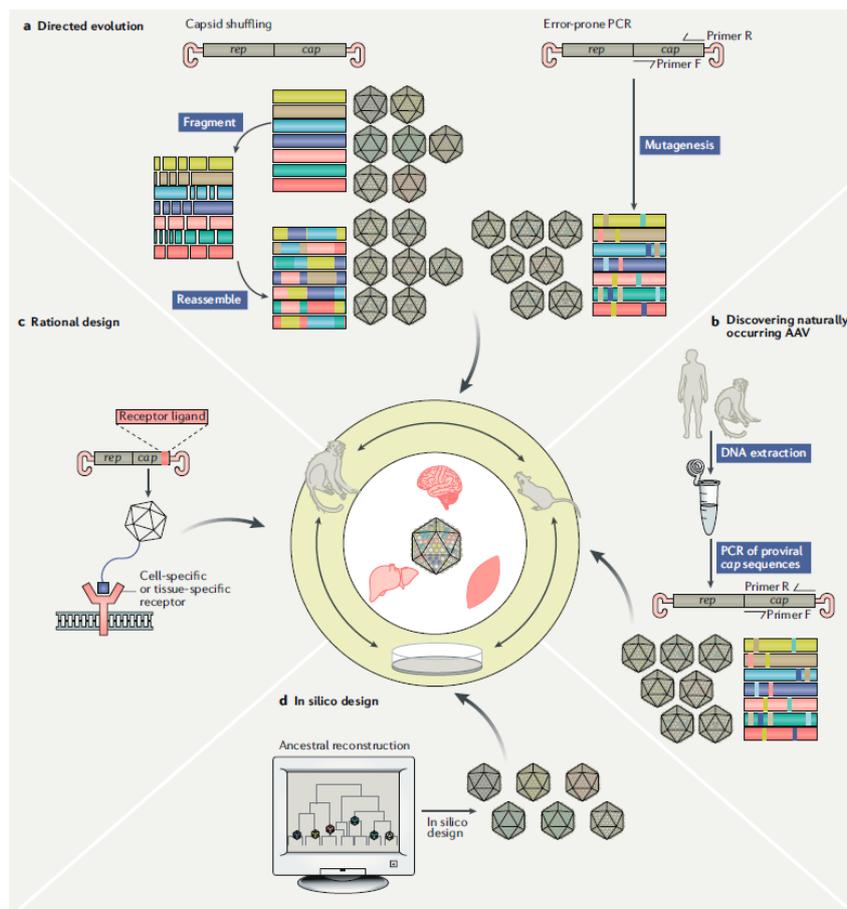
(3) 优化转基因密码子：当前临床使用的大多数治疗性转基因，来自未经密码子优化的自然基因序列。研究表明，编码 FVIII 的 rAAV 载体的密码子优化序列比含有野生型

FVIII 序列的 rAAV 载体诱导的 FVIII 表达水平更高。而且，同一个基因经过不同供应商优化后，表达量会比野生型序列增加 2-9 倍不等。

(B) 为提高靶向组织特异性，发展趋势：利用“衣壳工程”改造得到新的 AAV 衣壳蛋白，方法有三。

(1) 合理设计：一是将特定多肽序列嫁接在衣壳表面，让它们可以与特定细胞表面的受体相结合。二是扰乱细胞对衣壳蛋白的降解过程，定点突变表面暴露的酪氨酸残基，通过抑制蛋白酶体降解和促进细胞内转运，促进靶细胞转导。**(2) 定向进化：**即模拟自然进化机制，在衣壳蛋白中引入大量随机突变，然后在选择压力下筛选出具有特定生物性质和特征的衣壳。**(3) 生物信息学和计算机辅助设计：**通过比较不同 AAV 的衣壳蛋白序列，推断出衣壳蛋白的进化过程，并且发现衣壳蛋白上具备高度多样性的区域。结合高通量测序，使用生物信息工具设计衣壳变异库，以确定允许操作的高变异性区域。多家公司都已布局 AAV 衣壳蛋白发现平台，包括 Sarepta、Roche/Spark、诺华/Avexis、武田和 CRISPR Therapeutics。2021 年，哈佛大学 George Church 等人创立的 Dyno 获得了近 1 亿美元的 A 轮融资，该公司通过机器学习和高通量筛选建立了 AAV 衣壳蛋白改造的平台。最近发表的一项研究显示，他们从 AAV2 野生型序列的一个 28 个氨基酸片段获得了 110,689 个工程衣壳，变种数超过了天然 AAV 序列的多样性。

图表 53：“衣壳工程”主要方式



资料来源：Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery, 蛋壳研究院

(C) 针对 AAV 载体容量小的问题，发展趋势：（1）**双重 AAV 载体：**即利用 ITR 序列的同源重组合并 AAV 基因组。将大体积的基因表达盒分到两个或多个载体，运送到相同的细胞，病毒在细胞核中脱壳后，片段之间同源重组形成完整的转基因组。已在动物身上成功传递了 2-3 个独立 AAV 载体，并成功表达了功能性肌萎缩蛋白。（2）**交叉包装 AAV 基因组：**将 AAV 基因组交叉包装到其他细小病毒的衣壳中。（3）**基因片段剪切：**对于较大的基因片段，只截取其有功能的区域，例如递送 FVIII 基因，去除 B-domain；递送 DMD 基因，保留 micro-DMD 片段等。

(D) 针对免疫障碍，包括克服适应性免疫（CTL 应答，中和抗体 NAbs）和先天免疫反应两方面。

(D1) 为克服 CTL 应答，发展趋势：（1）**“基因表达盒工程”：**使用组织特异性启动子可限制 AAV 病毒粒子转导到靶细胞(例如在肌肉或肝脏中)，阻止其在抗原呈递细胞中的表达，降低转基因诱导的 CTL 反应。或引入内源性 miRNA 介导的调控机制，在抗原呈递细胞中下调转基因表达，降低基因表达 CTL 反应。（2）**“衣壳工程”：**AAV 衣壳的磷酸化位点突变，以避免泛素化和蛋白酶体介导的衣壳降解，逃脱了衣壳特异性 CTL 介导的对转导的靶细胞清除。

(D2) 针对 AAV 中和抗体（NAbs）的存在，发展趋势：（1）**非人源性 AAV 衣壳：**使用从非人灵长类动物以及其他脊椎动物中分离的 AAV 衣壳蛋白，已有证据表明，从非人灵长类动物和猪身上获取的 AAV 衣壳不受人体 AAV 中和抗体影响，且转导效率理想；（2）**AAV 衣壳改造：**基于对 AAV 病毒粒子如何与特异性单克隆抗体相互作用的理解，合理设计和定向进化 AAV 衣壳突变体，不仅能够逃脱 NAb 活性，同时不影响转导效率和组织特异性。AAV 颗粒上的 NAb 识别位点可能在进化上是保守的，并位于一个特定的区域，该区域残基的合理突变可以使突变病毒规避 NAb 的识别。例如 AAV2 单克隆抗体 A20 识别 AAV2 衣壳的多个残基，包括 VP1 的 265 残基区域，并阻断 AAV2 转导，通过合理的设计，AAV2 衣壳被设计成 AAV2.5，它在 VP1 的 265 残基处发生突变，使 A20 无法识别或阻止 A20 对细胞的转导。

(D3) 为克服先天免疫反应，发展趋势：（1）**基因表达盒工程：**降低 TLR9 对其 CpG 位点的识别，如肌肉注射 CpG 缺失的 AAVrh32.33 载体后，在效应 T 细胞浸润较少的情况下实现持久性转基因表达。（2）**整合干扰 TLR 结合的寡核苷酸：**基于某些寡核苷酸可以干扰 TLR9-靶点结合的认识，整合寡核苷酸，如来自端粒的(TTAGGG)₄ 序列，进入 AAV 基因表达盒中，降低了小鼠 TLR9 介导的先天免疫应答，增加了 AAV 转导效能。（3）**组织特异性启动子：**选择合适的组织特异性启动子降低先天免疫反应，有助于降低炎症副反应，已有研究显示，组织特异性启动子可以避免 AAV 对视网膜的组织破坏和炎症反应的发生。

(2) 基因编辑的技术趋势

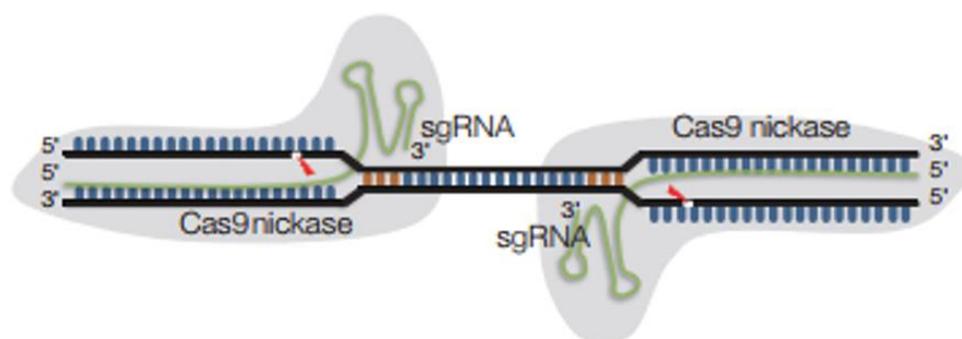
首先，基因编辑的大势所趋是从体外到体内基因编辑，降低治疗费用；从单基因到多基因编辑，为更广泛的适应症提供治疗方案。以下，重点阐述为克服基因编辑系统的“脱靶效应”的相关发展趋势。由于 CRISPR/Cas9 系统由 Cas 蛋白和 sgRNA 两部分组成，当前大部分改进策略基于 Cas 蛋白，其中以 Cas9 的系列突变体居多，而基于 Cas13 的 RNA 单碱基编辑近年也成为研发的热点。

(A) 基于 Cas 蛋白的改造策略

(A1) Cas9 系列突变体：由于野生型 Cas 切割 DNA 双链断裂，为降低脱靶效应，可通过特定位点氨基酸的突变获得单链靶向剪切功能的 Cas9 切刻酶（Cas9 nickase, Cas9n）或者全失活的 Cas9（dead Cas9, dCas9）等。

Cas9n (Cas9-nickase)：切割单链断裂 (Single-strand Breaks, SSBs)。通过使 Cas9 蛋白的 HNH 或 RuvC 核酸酶结构域失活实现。单链缺口会通过高保真的碱基切除修复以减少脱靶效应。CRISPR/Cas9-nickase 基因编辑技术的原理与 ZFN 和 TALEN 类似，两个 Cas9n/sgRNA 复合物同时靶向一个位点，分别切割其中一条 DNA 链，实现双链断裂，诱导 NHEJ 或者 HR 修复。**研究表明，该系统的脱靶效率最高降低近 4 个数量级。**

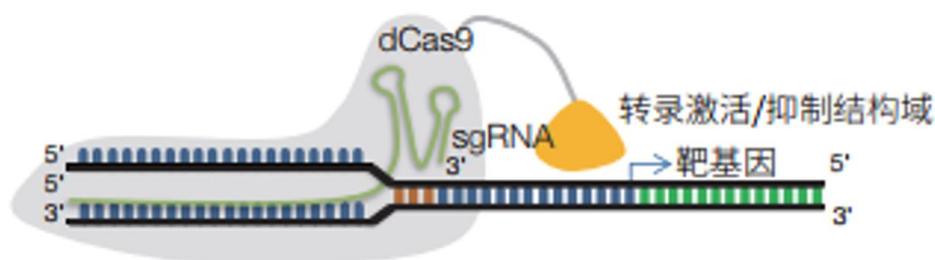
图表 54：CRISPR/Cas9-nickase 基因编辑技术



资料来源：基因编辑技术：进展与挑战，蛋壳研究院

dCas9 (dead Cas9)：失活 Cas9，与抑制或激活因子融合，调控基因表达。由于脱靶效应是由于切割 DNA 产生，所以科学家利用不具备 DNA 切割能力，但仍然可以在 sgRNA 指导下与相应的 DNA 特异性结合的失活 Cas9(dCas9)，与转录抑制因子或者激活因子融合，实现靶基因的抑制与激活。

图表 55：基于 CRISPR/dCas9 的转录调控技术

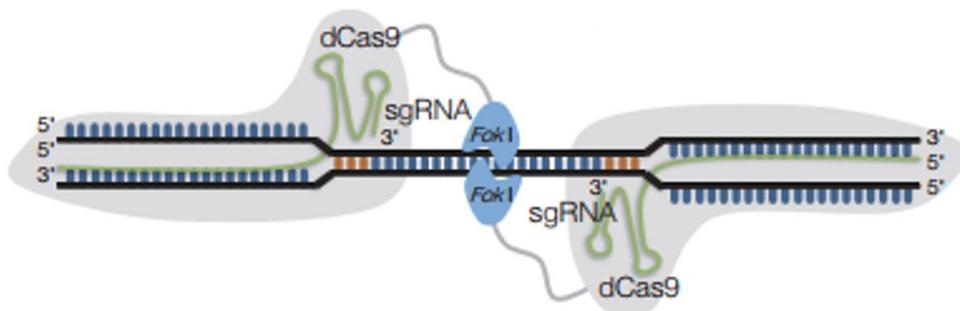


资料来源：基因编辑技术：进展与挑战，蛋壳研究院

fCas9 (dCas9-FokI)：dCas9+Fok I 核酸内切酶形成融合蛋白，实现切割。理论上 dCas9/sgRNA 只能单纯靶向引导，无法切割 DNA 断裂，类似于 ZFN 或 TALEN 的 DNA 结

合结构域。启发于前两代基因编辑技术，通过引入 Fok I 核酸内切酶的切割结构域，与 dCas9 连接成融合蛋白 fCas9，能够实现切割。研究表明，fCas9 的特异性比野生型 Cas9 高出 140 倍以上，比 Cas9n 至少高出 4 倍。

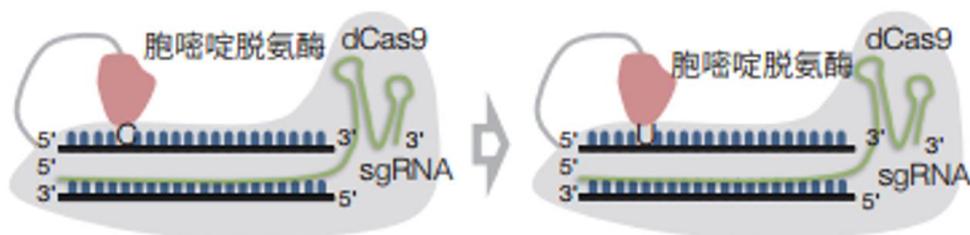
图表 56: CRISPR/dCas9-FoK I 基因编辑技术



资料来源: 基因编辑技术: 进展与挑战, 蛋壳研究院

基于 dCas9 的单碱基编辑 (BE) 技术。 Cas9 的突变体 Cas9n、dCas9 不切割双链 DNA，但可以靶向定位。启发于 CRISPR/dCas9-FoK I 融合蛋白的设计，通过结合能够催化特定碱基转换的蛋白/结构域，构建 CRISPR/Cas9n/dCas9 导向的单碱基编辑技术。dCas9 相当于一种连接子 (linker)，通过蛋白融合嫁接不同生物活性的酶。例如，(1) Liu 课题组将源自大鼠的胞嘧啶脱氨酶 (APOBEC1) 与 dCas9 融合，发现其可以定点将 C 转变为 U，然后在后续的 DNA 修复作用下实现 C: G 碱基对到 T: A 的转变。随后日本神户大学的 Kondo 课题组及上海交通大学的常兴课题组也报道了类似研究成果。(2) 为了实现 A: T 到 G: C 的转换，Liu 课题组通过改造大肠杆菌的 tRNA 腺苷脱氨酶 (TadA)，获得了第 7 代腺嘌呤碱基编辑器 (adenine base editors, ABEs)。即，C 到 T 以及 G 到 A 碱基之间的自由转换已经实现，将来有可能做到 4 种碱基的任意转换。(3) 2016 年，哈佛大学刘如谦实验室将 dCas9 与胞苷脱氨酶融合，在 sgRNA 指导下不是切割基因而是纠正基因的单碱基突变。

图表 57: 基于 CRISPR/dCas9 的单碱基编辑技术



资料来源: 基因编辑技术: 进展与挑战, 蛋壳研究院

SuperFi-Cas9: 基于 Cas9 脱靶机制的发现，大幅降低脱靶概率。 为降低脱靶效应，研究者已经对 Cas9 蛋白进行多种突变体优化，不过突变体的切割速率同时也明显降低。2022 年 3 月 2 日，美国德州大学奥斯汀分校的研究团队在 Nature 期刊发表“Structural basis for

mismatch surveillance by CRISPR-Cas9”。研究团队首先利用冷冻电镜对 CRISPR-Cas9 产生脱靶效应的结构特征进行解析，发现了 Cas9 的手指状结构导致了脱靶，并在此基础上开发出了兼具低脱靶效应和高切割速率双重优势的 Cas9 突变体——SuperFi-Cas9。SuperFi-Cas9 的手指状结构部分被改造成远离 DNA，从而在错配时，不会用来稳定错配结构。SuperFi-Cas9 的脱靶概率比原始版本 Cas9 要降低 4000 倍，而且编辑效率一样高。目前，研究团队已经证明了 SuperFi-Cas9 在试管中对 DNA 的编辑，在活细胞中测试的实验正在进行中。

(A2) Cas12a：需要富含 T 碱基的 PAM 序列，与基于 Cas9（富含 G 碱基的 PAM 序列）的碱基编辑系统互补，使基因编辑应用面更为全面。由于 CRISPR 基于 PAM 序列识别提供靶向性，而 CRISPR/Cas9 受富含 G 碱基的 PAM 序列限制，不能实现任意序列的靶向。当前广泛使用的 Cas9 家族核酸酶作为效应因子的 CRISPR/Cas9 属于 II 型 CRISPR/Cas 系统，而几乎所有的古细菌和众多的细菌都采用 CRISPR/Cas 机制进行免疫防御，例如在普氏菌和弗朗西斯氏菌属（Prevotella 和 Francisella 1）中存在另一个 II 类 CRISPR/Cas 系统，被归为 V 型 CRISPR/Cas 系统。2015 年，张锋团队证实 V 型系统中的 Cpf1（CRISPR from Prevotella and Francisella 1）（现称“Cas12a”）能在人类细胞中介导有效的基因编辑。Cas12a 需要富含 T 碱基的 PAM 序列，有助于其在基因组富含 A/T 碱基的物种中使用。类似 fCas9，上海科技大学的陈佳课题组将失活的 dCas12a 与大鼠源的胞嘧啶脱氨酶（APOBEC1）融合，研究证实其有效催化人类细胞中 C 到 T 碱基的转换。

(A3) 基于 Cas13 的 RNA 单碱基编辑，拓展基因编辑技术的应用领域。除了基于 DNA 层面编辑，张锋团队发现 CRISPR 蛋白家族的 C2c2（现称 Cas13a）具有 RNA 靶向和编辑功能，包括 Cas13a/b/c/d。2017 年，张锋团队基于 Cas13 蛋白开发了更加高效的 RNA 单碱基编辑器。这些技术都获得了大额的风险投资，成为当下热门的赛道。

(B) sgRNA 改造：由于 sgRNA 结构和组成可能引起脱靶效应，研究表明，增加或减少 2-3 个核苷酸的 sgRNA 能减少错配率，增加靶序列的专一性。通过创造新的 sgRNA 设计规则并建立人体和小鼠的全基因库，用基因库设计出的 sgRNA 能够有效减少 CRISPR/Cas9 系统的脱靶效应。

(C) PAM 序列的长度：研究显示，较长的 PAM 序列能够有效地减少脱靶效应。这表明更长的 PAM 序列在全基因组中，特异性更高，潜在的脱靶位点少，帮助进一步增强靶序列的专一性。例如，金黄色葡萄球菌（Staphylococcus aureus）Cas9 蛋白（SaCas9）识别的 PAM 区为 NNGRRT（NNGAAT、NNGAGT、NNGGAT 和 NNGGGT），嗜热链球菌（Streptococcus thermophilus）Cas9 蛋白（StCas9）的 PAM 序列为 NGGNG 和 NNAGAAW，脑膜炎双球菌（Neisseria meningitidis）Cas9 蛋白（NmCas9）的 PAM 序列为 NNNNGATT。

(D) 针对 Cas 蛋白过大的问题，开发小型 Cas 酶。例如，斯坦福大学团队于 2021 年 9 月在 Molecular Cell 期刊发表，设计了一款全新的迷你 CRISPR 系统——CasMINI，它就像“瑞士军刀”一般，小巧玲珑却又功能众多，更容易传递到哺乳动物细胞中。同时，CRISPR 先驱、诺奖得主 Jennifer Doudna 教授共同创立的基因编辑公司 Mammoth Biosciences 也在开发小型 Cas 酶，包括 Cas14 和 Cas ϕ ，该公司于 2021 年 9 月获得 1.95 亿美元新融资，估值超过 10 亿美元。

4.2.2 病毒载体的生产优化趋势，降成本+扩产能

第三章我们已经阐述，病毒载体生产的上游主要包括转染和细胞扩增培养，其中，转染方式包括瞬时转染和稳定转染，细胞扩增培养方式包括贴壁培养和悬浮培养。目前，转染工艺以多质粒共转染的瞬时转染为主，目前约 70% 产品使用贴壁细胞，包括 FDA 批准的两款基因疗法；而细胞扩增以贴壁培养工艺更为成熟应用。由于病毒载体的产能极度短缺，从提高产量并降低生产成本的商业化角度出发，未来“**稳定转染+悬浮培养**”将占据主流趋势，且二者本身互相验证，稳定转染通常更适应悬浮的细胞系。病毒载体生产的下游包含环节众多，其中最核心的环节是层析纯化，当前面临 DSP 回收率低的问题，未来应当从降低空壳率角度改进生产工艺，例如应用分析型超速离心技术（AUC）等。

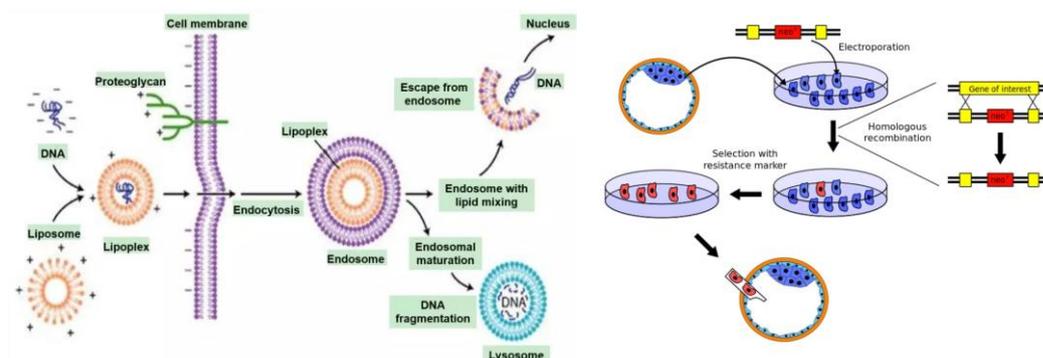
(1) 上游：稳定转染+悬浮培养

稳定转染的关键优势在于，避免使用昂贵的质粒带来的成本优势。由于质粒是 AAV 生产中的核心原材料和主要成本来源。因此，降低质粒的使用量，能有效降低 AAV 的生产成本。

瞬时转染，是指将含有目标基因的病毒质粒和用于辅助病毒增殖的质粒同时递送给工具细胞来生产病毒载体的方式，常见即 HEK293 细胞/三质粒共转染法。瞬时转染，只要将遗传物质递送到细胞即可，无需整合进宿主细胞基因组。因此转染的遗传物质在细胞内停留的时间有限，并且不会转移至其他新的分裂细胞中。**优劣势：**采用瞬转生产病毒载体，工艺相对简单，且收获高效缩短研发时间。但生产过程需要昂贵的 GMP 级质粒用于多质粒转染，而且下游还需要额外的纯化步骤，以清除辅助质粒、细胞 DNA 和转染试剂等。另外，瞬时转染难以大规模悬浮培养细胞。

稳定转染，是指通过基因修饰，改变细胞系的宿主基因组，获得目标基因的持续稳定表达。需将目标基因和病毒包装基因插入生产细胞系（293T 细胞），以此构建稳定表达的生产重组病毒的细胞系。**优劣势：**稳定转染，通过前期的基因修饰使目标基因稳定表达，避免使用多质粒转染步骤对昂贵质粒的高需求量，有效降低生产成本，使整个 COG 减少 15-30%。另外，稳转细胞系可以达到更高的细胞密度，适合大规模的细胞悬浮培养。不过，建立稳转细胞系，前期需投入较高的成本和时间（约 1 年）。

图表 58：瞬时转染和稳定转染的图示



资料来源：What is the Difference Between Transient and Stable Transfection, 蛋壳研究院

图表 59：瞬时转染和稳定转染的对比

	含义	优势	劣势
瞬时转染	将含有目标基因的病毒质粒和用于辅助病毒增殖的质粒同时递送给工具细胞来生产病毒载体，常见 HEK293 细胞/三质粒共转染法。	(1) 只要将遗传物质递送到细胞即可，无需整合进宿主细胞基因组。工艺相对简单，且收获高效，缩短研发时间。	(1) 遗传物质在细胞内停留时间有限，且不会转移至其他新的分裂细胞中。 (2) 需要昂贵的GMP级质粒用于多质粒转染。 (3) 下游还需额外纯化步骤，以清除辅助质粒、细胞DNA和转染试剂等。 (4) 难以大规模悬浮培养细胞。
稳定转染	通过基因修饰，改变细胞系的宿主基因组，获得目标基因的持续稳定表达。	(1) 通过前期的基因修饰使目标基因稳定表达，避免使用多质粒转染步骤对昂贵质粒的高需求量，有效降低生产成本。 (2) 稳转细胞系可以达到更高的细胞密度，适合大规模的细胞悬浮培养。	(1) 建立稳转细胞系，前期需投入较高的成本和时间（约1年）。

资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

细胞悬浮培养的关键优势在于，产能及成本优势。一是易于放大至生物反应器生产规模，二是显著提高单位体积的细胞培养密度，三是采用无血清培养基，简化下游纯化步骤。前文已经阐述，基因治疗对病毒载体的需求量随给药范围的扩大呈指数级增长，因此规模化生产成本更低的悬浮培养必将成为主流趋势。目前大部分公司正在从贴壁培养技术过渡到悬浮培养技术，据CRB披露，约有65%的公司正在或即将建设悬浮细胞病毒载体生产平台。

贴壁培养，是指细胞紧密附着于固相表面进行生长的方式，通常使用需要血清（FBS）的贴壁 HEK293T 细胞系。**优劣势：**虽工艺成熟，但由于培养装置表面积的大小直接限制了细胞扩增的数量，只能通过增加相同培养系统单元的数量或使用更大的设备来提升产量。因此在 GMP 条件下，贴壁培养难以执行大规模生产，不仅设备投资金额大，管理难度大幅增加，且工艺放大时所需的质粒及转染试剂用量大，成本高。同时贴壁培养依赖于动物源血清培养基，下游纯化步骤较多。

悬浮培养，是指在不断搅动或摇动的液体培养基里，培养单细胞和小细胞团的培养方式，用于非贴壁依赖性细胞（SF9 昆虫细胞）培养，或某些经过驯化适应后的贴壁依赖性细胞（HEK293 细胞）。**优劣势：**相比于贴壁培养，悬浮培养易于从实验室规模的摇瓶或转瓶放大至生物反应器规模的生产，无需繁琐的细胞附着和酶/机械解离。同时，悬浮培养细胞系基本可生长于无血清培养基，不仅降低成本，还能简化下游纯化的步骤。据 COG 测算，利用悬浮反应器的单位成本明显较低，且随着需求量的增加显著减少。不过，悬浮培养需克服的难点在于，细胞易成团，且驯化无血清悬浮细胞系的耗时较长（8-18 个月）。

图表 60：贴壁培养和悬浮培养的细胞密度

培养方式	培养设备	收获体积 (L/单元)	细胞密度
贴壁 (括号内为表面积, m ²)	10层细胞工厂CF10 (0.6)	2	
	中空纤维生物反应器HF (2)	5.33	5×10 ⁴ 个细胞/cm ²
	固定床反应器FB (66)、FB (133)、FB (333)	100、200、500	2×10 ⁵ 个细胞/cm ²
	微载体生物反应器RMmc(60)、RMmc(120)、RMmc(240)、RMmc(600)	50、100、200、500	
悬浮 (括号内为体积, L)	一次性搅拌罐生物反应器SUB (50)、SUB (100)、SUB(200)、SUB(500)、SUB (1000)	50、100、200、500、1000	3.18×10 ⁵ 个细胞/ml
	SUB (50)	2000	1.27×10 ⁶ 个细胞/ml

资料来源：Pubmed, 蛋壳研究院

图表 61：细胞的贴壁培养与悬浮培养的对比

	含义	优势	劣势
贴壁培养	细胞紧密附着于固相表面进行生长的方式，通常使用需要血清 (FBS) 的贴壁 HEK293T细胞系。	(1) 工艺成熟。	<p>(1) 培养装置表面积直接限制了细胞扩增的数量，只能通过增加相同培养系统单元的数量或使用更大的设备来提升产量。因此在GMP条件下，贴壁培养难以执行大规模生产，不仅设备投资金额大，且管理难度大幅增加。</p> <p>(2) 工艺放大时所需的质粒及转染试剂用量大，成本高。</p> <p>(3) 贴壁培养依赖于动物源血清培养基，下游纯化步骤较多。</p>
悬浮培养	在不断搅动或摇动的液体培养基里，培养单细胞和小细胞团的培养方式，用于非贴壁依赖性细胞 (SF9 昆虫细胞) 培养，或某些经过驯化适应后的贴壁依赖性细胞 (HEK293细胞)。	<p>(1) 悬浮培养易于从实验室规模的摇瓶或转瓶放大至生物反应器规模的生产，无需繁琐的细胞附着和酶/机械解离。</p> <p>(2) 悬浮培养细胞系基本可生长于无血清培养基，不仅降低成本，还能简化下游纯化的步骤。</p>	(1) 细胞易成团，且驯化无血清悬浮细胞系的耗时较长 (8-18个月)。

资料来源：公开信息，蛋壳研究院整理

(2) 下游：降低空壳率

降低空壳率是提升下游收率的关键。由于空壳病毒不仅会和完整病毒竞争感染患者细胞，导致治疗剂量增加；而且空壳病毒本身的衣壳蛋白，存在引发过度免疫反应的风险。因此，降低空壳率是提升下游生产效率的关键。由于空壳病毒和完整病毒物理上高度相似，采用高通量、敏感准确的分析工具来检测完整衣壳/空衣壳/部分完整衣壳的表征差异，能够有效识别各类病毒衣壳。目前精度较高的方法是应用分析型超速离心技术（AUC），AUC 可以表征 AAV 病毒颗粒的特性，精准测定 AAV 病毒载体空壳率。

4.2.3 商业化趋势

前文已经分析，基因治疗产品商业化失败的案例，源于罕见病患者基数较少，以及商业化定价极其高昂两方面原因。因此，为了解决商业化困境，一方面，基因治疗的适应症将逐渐从罕见病拓展至肿瘤以及慢性病（乙肝/三高等）等常见病，另一方面，在病毒载体的生产工艺不断优化，基因治疗产品的研发成本降低的背景下，加之保险支付体系的完善，未来能够负担基因治疗费用的患者将大幅提升，市场推广前景更为广阔。

一方面，**适应症从罕见病拓展至常见病，实现“单次治疗”。**目前基因治疗的适应症主要集中在罕见病，但基因治疗“从根治愈，单次给药”的优势具备巨大吸引力，随着 AAV 病毒载体技术及生产工艺越发成熟，越来越多的基因治疗在研管线的适应症拓展至常见病。比如，Regenxbio 的 RGX-314 用于治疗湿性年龄相关性黄斑变性 wAMD，RGX-501 用于纯合子家族性高胆固醇血症 HoFH，以及舒泰神的 STSG-0002 用于治疗乙肝。针对 wAMD 的治疗，目前雷珠单抗、阿柏西普等抗 VEGF 的重磅药，每月高频率眼内注射不够便捷，而 RGX-314 基于 AAV8 载体，直接递送 anti-VEGF fab 基因到眼内，“单纯治疗”临床结果显示了良好的安全性和有效性。针对 HoFH 单基因病的治疗，目前 RNAi 药物 Inclisiran 基于 GalNac 偶联技术平台递送，而 RGX-501 基于 AAV8 载体，递送 LDLR 基因到肝脏，“单次给药”。针对乙肝的治疗，目前强生和罗氏的两款 RNAi 药物 JNJ-2989 和 DCR-HBVS 也是基于 GalNac 偶联技术平台递送，而舒泰神的 STSG-0002 基于 AAV 载体，递送靶向 HBV 基因组的 shRNA 序列。

另一方面，**保险支付体系日趋完善。**目前基因治疗药企大多与保险公司合作，推出“分期付款”模式，且按疗效付款/无效退款。比如，诺华允许部分保险公司在 5 年内以每年 42.5 万美元对 Zolgensma 进行分期支付，美国的保险公司则推出“商业保险 CGT 专项保单”，实现商保全额覆盖，参保者按月支付保费即可。比如 Bluebird 提出，患者可采用五次分期付款的支付模式，其中首次付款是在 Zynteglo 输注时支付，当患者此后不再需要输血治疗 TDT 的情况下，才分四年支付剩余的四次款项。此外，蓝鸟生物与德国多家法定医疗保险公司签订支付协议，并且规定仅在治疗有效的情况下支付治疗费用。再比如，Spark Therapeutics 提出新的支付方式：第一年患者支付一定的预付款，如果 20 年后基因疗法依然有效，患者将补全治疗费用。

免责声明：

本报告的信息来源于已公开的资料和访谈，蛋壳研究院对信息的准确性、完整性或可靠性不作保证。本报告所载的资料、意见及推测仅反映蛋壳研究院于发布本报告当日的判断，过往表现不应作为日后的表现依据。在不同时期，蛋壳研究院可能发布与本报告所载资料、意见及推测不一致的报告。蛋壳研究院不保证本报告所含信息保持在最新状态。同时，蛋壳研究院对本报告所含信息可在不发出通知的情形下做出修改，投资者应当自行关注相应的更新或修改。

版权申明：

本文档版权属于蛋壳研究院/北京蛋黄科技有限公司，未经许可擅自，蛋黄科技保留追究法律责任的权利。



研究团队

万羽西

蛋壳研究院高级研究员

邮箱: wan.yx@vcbeat.net



蛋壳研究院 (VBR)：

蛋壳研究院关注全球医疗健康产业与信息技术相关的新兴趋势与创新科技。蛋壳研究院是医健产业创投界的战略伙伴，为创业者、投资人及战略规划者提供有前瞻性的趋势判断，洞察隐藏的商业逻辑，集合产业专家、资深观察者，尽可能给出我们客观理性的分析与建议。

蛋壳研究院提供服务：

初创项目竞争力评估；初创项目战略规划；创投细分领域定制研究；蛋壳VIP会员研报畅读。

更多信息，请关注动脉网微信公众号：VCbeat



联系电话：023-67685030

电子邮箱：research@vcbeat.net