

doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2021.01.28

View this article at: 10.3978/j.issn.1000-4432.2021.01.28

· 专家访谈 ·

编者按：2021年1月4日，华东师范大学的李大力教授(图1)应邀到中山大学眼科中心进行学术交流(图2, 3, 4)，开展了主题为“基因编辑技术在基因治疗中的应用研究”的学术讲座。作为眼科中心的官方出版刊物，《眼科学报》编辑部对李教授进行了专访，以飨读者。

华东师范大学李大力教授：基因编辑前景广阔，但也要守住伦理道德底线

辛贵云

(AME出版社)



图1 李大力教授

李大力教授，PhD，华东师范大学生命科学学院研究员，博士生导师，基金委杰出青年基金获得者。2007年获湖南师范大学遗传学博士学位，毕业后在华东师范大学工作至今。现为华东师范大学生命医学系主任主任，上海市调控生物学重点实验室副主任。

多年来通过优化创新基因编辑技术，围绕罕

见病的模型构建和基因治疗，开展了深入研究。开发了精度和活性更高的新型胞嘧啶碱基编辑器(命名为：hyCBE)和新型双功能碱基编辑器(命名为：A&C-BE_{max})等多种碱基编辑系统，以血友病和 β 地中海贫血等单基因遗传病为模型，建立了基于基因编辑技术的遗传病基因治疗新策略。迄今，共发表SCI论文90余篇，作为通讯作者在*Nature Biotechnology*，*Nature Cell Biology*，*PNAS*和*Cell Research*等高水平期刊发表论文30多篇。



图2 李教授在眼科中心进行学术分享

收稿日期 (Date of reception): 2021-01-22

通信作者 (Corresponding author): 辛贵云, Email: xingy@amegroups.com



图3 李教授在眼科中心进行学术分享



图4 李教授在眼科中心进行学术分享

《眼科学报》：作为基因编辑领域研究的先锋之一，您能跟我们分享一下目前血友病(hemophilia)和 β 型地中海贫血(thalassemias)等单基因疾病基因编辑技术的研究进展吗？

李大力教授：基因编辑治疗 β 型地中海贫血的技术，在国际和国内的进展都非常快。2020年12月在《新英格兰医学杂志》(*New England Journal of Medicine*)发表了CRISPR Therapeutics公司通过CRISPR基因编辑技术，用靶向BCL11A基因的红系增强子，重新激活胎儿血红蛋白生成的策略，分别在一个 β 型地中海贫血和镰刀型贫血(sickle-cell disease, SCD)成年患者中进行了经基因编辑的自体造血干细胞移植治疗的文章。文中提到，在为期一年半左右的跟踪研究中，患者完全摆脱了输血依赖，获得了非常好的治疗效果。而在2020年底的美国血液学会(American Society of Hematology, ASH)上，该公司报道了10位患者的数据，在接受治疗后，所有患者的血红蛋白总水平都“正常或接近正常”。由于在临床上的出色表现，CRISPR治疗遗传性贫血症的工作也被美国《科学》杂志评为2020年十大科学突破。

众所周知，CRISPR Therapeutics的联合创始人之一、CRISPR技术的主要发明名人埃马纽埃尔·卡彭蒂耶(Emmanuelle Charpentier)，与詹妮弗·杜德纳(Jennifer Doudna)共同获得了2020年诺贝尔化学奖。

2020年，我们华东师范大学团队与湘雅医学院合作，采用CRISPR技术编辑患者自体造血干细胞，开展了“经 γ 珠蛋白重激活的自体造血干细胞移植治疗重型 β 型地中海贫血安全性及有效性”的临床研究。两位受试者分别为7岁和8岁的儿童，均为输血依赖的重型 β 型地中海贫血患者，通常2~3周需要接受一次输血。他们在接受治疗到目前为止约9个月的时间内，只在造血干细胞移植后的1个月内接受了一次输血。目前血红蛋白水平已经完全恢复正常，摆脱了输血依赖，取得了非常显著的治疗效果。值得一提的是，其中1例是 β^0/β^0 型重度地贫患者，是全球第一例用CRISPR技术治疗的最严重基因突变型的地中海贫血患者。

血友病方面，我们课题组也是最早使用CRISPR-Cas9基因编辑的方法来开展B型血友病临床前研究的团队。我们在2016年发表的一篇文章中报道了通过Cas9激活的位点特异性同源重组，修复凝血因子九(F9)基因中的致病碱基突变，在小鼠模型中观察到了长久的疗效。

相比于传统的基因替代疗法存在的持久性问题，基因编辑理论上有可能一次治疗终身获益。其实早在2015年，美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已经批准了桑加莫生物制药公司(Sangamo Therapeutics, Inc.)利用锌指核酸酶(ZFN)定点整合凝血因子九基因来治疗B型血友病的临床研究。虽然该疗法在2016被FDA授予孤儿药资格，但是还没有临床数据公布。

从我个人的角度来看，在动物模型中通过基因编辑在肝细胞中定点整合凝血因子基因有不错的效果，但是要应用到临床还有一定的难度，主要还是同源重组的效率不够高，而患者中的基因导入效率也是一个大的问题。不过从整个基因治疗的应用来说，血友病是相对容易突破的疾病，它对于基因编辑的效率要求没那么高。我们之前的工作就证明，动物体内只要0.5%~1%的修复率就能达到好的疗效。

当然，基因编辑治疗血友病，更多的还是通过腺相关病毒载体(Adeno-Associated Virus, AAV)

过表达的基因替代疗法，最近国际上也有很多进展。有的研究团队发现在跟踪了2~3年之后，B型血友病患者的凝血因子活性仍然很高，把出血事件概率降低了95%以上。而A型血友病的基因治疗就相对困难，因为凝血因子八(F8)基因片段非常大，无法包装进AAV载体，即便通过序列优化，B-domain缺失的F8也已经达到AAV包装上限。所以受限于病毒包装等问题，A型血友病的基因替代疗法虽然在临床上也看到了显著的疗效，但是受试者在随访的3年内，凝血因子活性呈持续下降的趋势，其长期疗效看上去不是很乐观。

《眼科学报》：您和您的团队开发了精度和活性更高的hyCBE和A&C-BE_{max}等多种单碱基编辑系统，您能跟我们分享一下在开发过程中的遇到的一些困难以及您和您的团队是如何解决的吗？

李大力教授：在hyCBE和A&C-BE_{max}开发的实际工作中，并没有碰到太多技术上的困难，我们更多的压力是来自于国际上的竞争。因为基因编辑技术应用前景十分广阔，各个国家都非常重视。而基因编辑最大的难度在于研发性能提升的原创工具，可以说是“兵家必争之地”。

开发基因编辑工具，我们能想到，其他国际上的同行未必就想不到。怎么样在最短的时间内，通过最大量、最真实的数据，最快速地完成基因编辑工具的性能鉴定，做出最终成果并发表出来，才是我们需要解决的最大问题。

我们后续可以看到，在A&C-BE_{max}这个双碱基编辑器的研发方面，与我们同期在《自然-生物技术》(*Nature Biotechnology*)杂志发表的还有另外三个课题组的类似工作，所以竞争非常激烈。在研发过程中，我们可以说投入了百分之百的精力，最终凭借团队在基因编辑领域研究的多年经验和成熟的技术体系，保障了以理论上最短的时间内完成了这些工作。

《眼科学报》：动物模型作为基础研究的一种很重要的研究手段，在您看来它的构建还有哪些可以进一步优化的地方？

李大力教授：目前动物模型的构建技术，还是能较好地满足现有的基因编辑研究需求。比方说，用CRISPR-Cas9在动物胚胎中做基因敲除，或者是引入点突变来制备动物模型，在成熟的实验室是一个常规的技术，基本上可以一次性成功。

但是要进行大片段DNA的替换、整合或者整合超过3kb的外源基因片段，效率就比较低了。如果未来基因编辑底层工具能有更多的改进，实现高效精确的大片段DNA整合，那将更好地提高复杂基因修饰动物模型构建的效率。

《眼科学报》：我们都知道从事基因编辑基础研究的最终目的是应用到临床治疗具体的疾病，但是从动物模型过渡到临床应用需要大量的验证，并且存在伦理问题，2018年深圳的“基因编辑婴儿”事件就因为伦理问题引发了巨大的争议。目前是否有一些疾病已经被批准可以通过基因编辑来治疗了呢？

李大力教授：2018年的“基因编辑婴儿”事件，我最初看到的时候以为是炒作之类的不实信息，后面核实之后，感到非常意外。因为对于生命医学研究人员来说，大家都很清楚伦理的底线在哪里。国际国内也有明文的规定不能将人类胚胎体外培养超过14天，更加不能将基因操作过的人类胚胎植入人或任何其它动物的生殖系统。这是不可触碰的红线。虽然目前人类基因的基础研究进行了很多年，但是我们对每一个基因的具体功能是不清楚的，对于基因编辑工具的具体性能也是不完全了解的，即使用最先进的方法来检测基因编辑是否脱靶，也不能百分之百保证基因操作不会有其他的问题。如果人为地改变人类生殖细胞或者胚胎的基因组，导致遗传基因的改变，对整个人类而言是非常危险的。

并且这个事件从基因治疗的概念上来说也行不通。因为艾滋病患者生育小孩可以通过辅助生殖等多种手段阻断病毒传播。虽然趋化因子受体5(C-C chemokine receptor type 5, CCR5)是HIV的共同受体之一，但在胚胎中将其敲除在理论上也是不可取的。因为CCR5这个基因在人体的其他正常功能尚不明确，敲除之后对体会产生多大的影响，目前都是未知的。所以，人类生殖细胞或者胚胎的基因编辑是非常需要注意的，而可遗传的人类基因改造是生物与医学研究人员不能触碰并且要共同守住的伦理道德底线。

在HIV治疗方面，2019年，陈虎、邓宏魁和吴昊团队在《新英格兰医学杂志》发表研究，通过CRISPR技术敲除健康供者造血干细胞中的CCR5基因，为一名患有HIV-AIDS和急性淋巴细胞白血病(T细胞型)的患者进行了骨髓移植。证明了经基因

编辑后的成体造血干细胞在人体内长期稳定的造血系统重建, 这个治疗手段不会造成可遗传的基因改变, 我觉得是一个非常理性的方法。

基因编辑CRISPR-Cas9技术从发明到应用也才几年时间, 发明时间较长的锌指核酸酶技术目前还达不到CRISPR-Cas9的效率。虽然也有团队开展锌指核酸酶技术的临床研究, 但是没有看到特别突出的成果。目前为止, 仅有几个疾病的基因编辑治疗研究被FDA批准进行临床实验, 其中包括β型地中海贫血和先天性黑矇症等。所以现在基因编辑治疗疾病仍处在临床前或者临床研究阶段, 还没有真正获批的基因治疗药物。

《眼科学报》: 在您目前主持的课题中, 有关于先天性或者遗传性视神经萎缩的研究, 未来视神经萎缩会成为您的主要研究方向吗?

李大力教授: 目前我们在这方面的研究还不是很成熟, 因为在视神经里导入基因有很大的难度。我们尝试过腺相关病毒载体玻璃体腔注射等手段, 感染效率都比较低, 对视神经萎缩的治疗研究还是很有挑战。

不过通过这个课题, 我们建立了一些遗传性视神经萎缩的动物模型, 也在开展进一步的验证实验和表型分析。如果未来进行眼睛相关的研究, 我们更多会考虑靶向视网膜色素细胞或者通过视网膜下腔注射导入基因的方式来进行治疗的研究工作。

《眼科学报》: 从您多年的科研实践出发, 您觉得我国的基因编辑技术目前在国际上处于一个什么样的水平?

李教授: 我们国家的基因编辑技术, 在国际上处于比较领先的水平。我国在基因编辑领域有一定的投入, 加上国内研究人员的兴趣浓厚, 在文章发表和专利申请数量上, 中国仅次于美国。从基础研究或者基因编辑工具的开发来看, 虽然我们没有开发很多完全意义上的概念性创新的基因编辑工具, 但是我们在碱基编辑、新的CRISPR-Cas9工具的发现和鉴定方面, 已经取得了很大的进步。

最近几年, 随着国内的细胞治疗、基因治疗的商业化程度越来越高, 从基础到临床的研究, 我们跟美国差不多是同步的, 实践上的差距已经非常小了。从应用的角度, 特别是基因编辑在植物上应用, 众所周知, 我们国家处于一个比较领先的地位。

当然, 希望未来我们能发明更多概念性创新的基因编辑工具, 解决大片段高效精准整合的难题, 这样可以进一步拓展基因编辑技术的应用场景。

致谢

感谢李大力教授对稿件的审校。

本文引用: 辛贵云. 华东师范大学李大力教授: 基因编辑前景广阔, 但也要守住伦理道德底线[J]. 眼科学报, 2021, 36(3): 255-258. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2021.01.28