



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2024.04.007

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.04.007>

· 综述与讲座 ·

# 基因治疗在遗传代谢性肝病中的应用进展

张银纯 梁普平 郝虎

**[摘要]** 遗传代谢性肝病 (IMLD) 是由于基因缺陷而导致肝脏代谢异常的一大类疾病,其病因复杂多样,临床表现差异大,以黄疸、肝脏肿大、肝酶增高和低血糖为主要表现,多数在婴幼儿和儿童期发病。目前对于 IMLD 较为有效的治疗方法是进行活体肝移植和肝再生疗法,但供体肝脏稀缺、手术风险高、免疫排斥反应等风险导致其临床应用存在较大限制。基因治疗是指通过导入外源正常基因或修饰细胞内源突变基因来治疗疾病的一种生物医学手段。随着科技与医疗上的发展与进步,日益成熟的基因治疗手段被认为是除肝移植外的一种更高效、更安全地彻底治愈 IMLD 的方法。本文将重点对 IMLD 基因治疗的进展和现状进行论述。

**[关键词]** 遗传代谢性肝病; 基因治疗; 现状和进展

**[中图分类号]** Q789

**[文献标识码]** A

遗传代谢性肝病 (IMLD) 是由于各种基因缺陷而导致肝脏代谢异常的一大类疾病,这类疾病的临床表型差异显著,以黄疸、肝脏肿大、肝细胞损害和低血糖为主要表现,并常合并肝脏外损伤。其种类繁多,尽管每种疾病的发病率不高,但由于疾病谱广,总体发病率较高<sup>[1-3]</sup>。IMLD 包含多种不同的遗传性罕见病,通常具有单一或多个致病基因,目前手术和药物治疗的方法非常有限,且疗效欠佳并通常给患者带来极重的负担。随着测序技术对致病基因的解析及分子生物学的快速发展,基因治疗已经发展为一种重要的遗传疾病治疗手段。目前靶向肝脏的基因治疗已被认为是除肝移植、肝再生治疗外一种更高效、更安全且可能彻底治愈 IMLD 的方法<sup>[4]</sup>,包括急性间歇性卟啉<sup>[5]</sup>、鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症<sup>[6]</sup>、肝豆状核变性<sup>[7]</sup>、Crigler-Najjar 综合征<sup>[8]</sup>等。本文将概述基因治疗在 IMLD 中的应用进展,总结分析当前基因治疗存在问题及潜在解决方案,以期为基因治疗在 IMLD 中的研究和应用提供借鉴和参考。

## 一、IMLD 基因治疗策略

基因治疗包括体外基因治疗和体内基因治疗两种不同方式,IMLD 的治疗通常采用体内基因治疗的方

式<sup>[9]</sup>。体外基因治疗是将患者的细胞 (通常是成体干细胞) 从体内分离在体外进行培养,然后向体外培养的细胞中导入能表达正常基因的载体,或者通过基因编辑修复体外培养细胞中的病因突变,最后将以上细胞回输至患者体内以进行疾病的治疗。体内基因治疗则是直接使用病毒或非病毒载体将正常基因导入患者病灶或全身从而弥补突变基因的功能缺失,或者是直接向患者病灶或全身导入基因编辑工具从而在体内修复患者突变基因的治疗方法 (图 1)。基因编辑是通过位点特异性核酸酶定点切割靶基因进而激发靶点处 DNA 的损伤修复,或者利用位点特异性碱基脱氨酶或 DNA 糖基化酶直接催化碱基的置换,从而修饰靶基因的遗传工程技术。其主要包含锌指核酸酶 (ZFN)、TALEN 核酸酶 (TALEN)、Cas 核酸酶、单碱基编辑器 (BE) 和先导编辑器 (PE) 等。其中,基于规律成簇间隔短回文重复序列及其相关蛋白 (CRISPR/Cas) 系统的 Cas 核酸酶、单碱基编辑器由于效率更高、使用更便利等优势而发展最为迅猛。如 Cas 核酸酶和单碱基编辑技术已被用于纠正人源化鸟氨酸氨甲酰转移酶小鼠模型<sup>[6]</sup>、肝豆状核变性小鼠模型<sup>[7]</sup>、甲基丙二酸血症小鼠模型<sup>[10]</sup>和苯丙酮尿症小鼠模型<sup>[11]</sup>等,其纠正了部分临床表型且提升了模型小鼠的存活率。

## 二、基因治疗递送载体系统

体内基因治疗是 IMLD 最常用的基因治疗策略,如何安全有效地实现靶基因特异递送是基因治疗药物面临的一个重要挑战。目前体内基因治疗主要运用两

基金项目:广州市科技计划项目 (2024B03J0191)

作者单位:510655 广州,中山大学附属第六医院 (张银纯、郝虎);

中山大学生命科学学院 (梁普平)

通讯作者:梁普平, E-mail: liangpp5@mail.sysu.edu.cn; 郝虎, E-mail:

haohu@mail.sysu.edu.cn

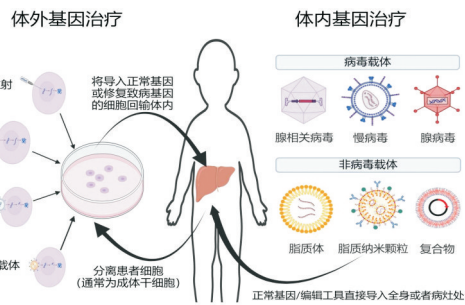


图 1 IMLD 基因治疗策略和载体系统

种递送系统,即病毒和非病毒载体。其中病毒载体主要包括逆转录病毒(RV)、慢病毒(LV)、腺病毒(AdV)、腺相关病毒(AAV)等。非病毒载体主要包括脂质体、纳米载体等<sup>[12-14]</sup>(图 1)。与病毒载体相比,非病毒载体较为安全,其不依赖于病毒基因组,不受基因组包装能力的限制,且通常具有较低的免疫原性,还可通过化学修饰进行调节,易于控制且成本较低。考虑能高效用非病毒载体进行递送的仅有肝脏、脾脏等少数器官,而病毒载体如 AAV 载体则能靶向多种组织器官,如肝脏、神经、肌肉等。同时病毒载体亦存在一些缺点:如可能引起较为强烈的宿主免疫反应,载体随机整合至基因组,包装能力有限导致无法递送大片的 DNA。目前 IMLD 基因治疗的载体主要包括 AdV、AAV、LV 和脂质纳米颗粒(LNP)<sup>[8]</sup>,其具体特点见表 1。

三、IMLD 基因治疗的应用进展

靶向肝脏的基因治疗已成为 IMLD 最有效的方法之一,目前在多种疾病的诊疗研究中均取得一定的进展,主要包括尿素循环障碍、有机酸血症、肝豆状核变性、苯丙酮尿症和糖原代谢障碍等。

1. 尿素循环障碍:尿素循环障碍是指因参与尿素循环的酶和转运蛋白缺陷,导致氨基酸分解代谢产生的氨不能通过尿素循环形成尿素排出体外,引起血氨升高为特征的一组遗传代谢病<sup>[15]</sup>。据估计,尿素循环障碍总体发病率至少为 1/35 000<sup>[16]</sup>。目前对于氨甲酰磷酸合成酶 I 缺乏症的临床前研究中,基于 AAV 的基因治疗明显改善了其临床表型,提升了该小鼠模型的存活率,并使血氨和血氨基酸水平正常化<sup>[17]</sup>。鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症基因治疗的研究较为广泛,如 Yang 等<sup>[18]</sup>使用双 AAV 系统递送 CRISPR/Cas9 核酸酶至新生鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏小鼠模型中,一个 AAV 表达化脓性链球菌 Cas9 (SpCas9),另一个表达 gRNA 并提供供体模板 DNA,可修复 10% 肝细胞突变。Wang 等<sup>[19]</sup>使用了双 AAV 系统,一个 AAV 载体递送 OTC 基因,一个 AAV 载体则递送 CRISPR/Cas9 进行同源定向修复以纠正 10% 的 OTC 等位基因中的 G > A 突变,以此实现长期修复。同时,针对鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症基因治疗的多项临床试验也在招募阶段,包括Ⅲ期临床试验(NCT05345171)、I / II 期临床试验(NCT05092685)<sup>[20]</sup>。通过 LNP 等非病毒载体递送 mRNA,可有效纠正肝脏靶向和表型,包括鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症<sup>[21]</sup>、精氨酸琥珀酸裂解酶缺乏症<sup>[22]</sup>和精氨酸酶缺乏症<sup>[23]</sup>。

然而,AAV 的基因治疗在动物试验模型中也显示出明显的局限性,如 CRISPR/Cas9 编辑技术仅针对某些突变位点,而为了克服这个问题,wang 等<sup>[6]</sup>和 Cunningham 等<sup>[24]</sup>研究开发了整个转基因整合策略,通过核酸酶介导的同源重组序列在宿主基因组的特定位点进行整合,且在鸟氨酸氨甲酰转移酶缺陷小鼠模型中得以验证其有效性。

表 1 IMLD 基因治疗常用的载体/递送技术特点及应用<sup>[8,12-14]</sup>

载体名称	特点	优点	缺点
LV	1. 单链 RNA 病毒; 2. 高效靶向肝脏; 3. 可包装整合 >10 kb 转基因 DNA	1. 可整合到宿主基因组,使宿主细胞长时间(数周)稳定表达外源基因; 2. 可感染分裂和非分裂细胞; 3. 高效基因转移; 4. 低免疫原性; 5. 包装容量大等	1. 可能产生可复型慢病毒; 2. 致癌风险
AdV	1. 无包膜双链 DNA 病毒; 2. 可包装整合约 37 kb 转基因 DNA	1. 可感染静止和分裂细胞; 2. 无需基因组整合,可实现目的基因瞬时、高丰度的表达,不整合到染色体中,无插入致突变性; 3. 包装容量大	引起强烈的免疫反应
AAV	1. 无包膜单链 DNA 病毒; 2. 高效靶向肝脏; 3. 可包装整合 <4.8 kb 转基因 DNA	1. 无需基因组整合,能使宿主细胞长时间(数年)稳定表达外源基因; 2. 低免疫原性; 3. 宿主范围广和高感染率; 4. 神经传导效率较高; 5. 多种血清型	1. 需要重复给药(生长期肝脏); 2. 包装容量小; 3. 不同血清型之间转导效率存在差异; 4. 表达速度慢
LNP	1. 由可电离和阳离子脂质、胆固醇、磷脂和 PEG 脂质组成; 2. 高效靶向肝脏; 3. 可包装整合 >15 kb mRNA	1. 体内给药安全性较高,低毒性和免疫原性; 2. 包装容量较大; 3. 生产简便,价格较便宜	1. 需要多次重复给药; 2. 神经传导效率低下

2. 有机酸血症:有机酸血症也称为有机酸尿症,是由于体内有机酸代谢过程中酶的功能缺陷,导致体内有机酸及其旁路代谢产物蓄积,从而引起的一类疾病<sup>[25]</sup>。目前,在甲基丙二酸血症、丙酸血症和遗传性酪氨酸血症 I 型等致病基因治疗的临床前研究也取得重要进展,如 AAV 介导的基因编辑治疗在新生和幼年甲基丙二酸血症小鼠模型中均可纠正其临床表型<sup>[16,26]</sup>,同时也进行了 AAV 介导的 *MUT* 基因 I/II 期临床试验(NCT04581785),但试验过程中因患者出现血栓性微血管病变等并发症而终止;LNP-mRNA 基因治疗也在小鼠模型中取得一定进展<sup>[27]</sup>,且正在招募 I/II 期临床试验(NCT04899310)患者。而在丙酸血症的基因治疗中,LNP 递送 *PCCA-PCCB* 双基因 mRNA 也可纠正丙酸血症的临床表型<sup>[28]</sup>,且正在招募 I/II 期临床试验(NCT04159103)患者。Dongho Choi 团队<sup>[29]</sup>利用 BE 和 PE 成功纠正遗传性酪氨酸血症 I 型小鼠肝祖细胞,并通过再移植后延长小鼠存活时间。

3. 肝豆状核变性:肝豆状核变性又称为 Wilson 病,是由于 *ATP7B* 基因缺陷导致的铜代谢障碍性疾病,目前主要以铜螯合剂和锌盐治疗为主。对于肝豆状核变性的基因治疗研究较为广泛,包括 AAV8 递送全长 *ATP7B* 基因治疗<sup>[7,30]</sup>、双 AAV 载体介导的 *ATP7B* 基因治疗<sup>[31]</sup>均在成年 Wilson 小鼠模型中获得了成功,同时目前针对肝豆状核变性的 I/II 期临床试验(NCT04537377、NCT04884815)也提示具有一定的临床疗效。

4. 苯丙酮尿症:苯丙酮尿症是由于苯丙氨酸代谢途径中的酶缺陷,导致苯丙氨酸及其酮酸蓄积的代谢性疾病。目前对于苯丙酮尿症的基因治疗研究较为广泛,Vonada 等<sup>[32]</sup>开发了体内慢病毒基因治疗策略,通过 Cypor 酶系统解决生长肝脏中 AAV 介导的转基因表达游离丢失的问题。通过 AAV2/8 载体递送 CRISPR/Cas9 可纠正苯丙酮尿症小鼠模型突变位点,但肝细胞编辑效率较低<sup>[33]</sup>。AAV 介导的单碱基编辑器有效纠正了苯丙酮尿症小鼠的错义突变,并使体内苯丙氨酸水平正常化<sup>[11]</sup>。同时,LNP-mRNA 介导的基因编辑也具有同样疗效<sup>[34-35]</sup>。

5. 其他 IMLD:(1)糖原累积病 I a 型是一种由于 *G6PC* 基因突变导致葡萄糖-6-磷酸酶活性不足,糖原在肝脏、肾脏和小肠中过度累积的常染色体隐性遗传病。AAV8 介导的 *G6PC* 基因靶向肝脏治疗,可减少玉米淀粉的使用和维持血糖水平正常<sup>[36]</sup>,目前正进行 I/II 期临床试验(NCT03517085)。mRNA 治疗也在该疾病中具有纠正低血糖和减少肝脏肿瘤发生的疗效<sup>[37]</sup>,其 I/II 期临床试验(NCT05095727)也正处于

招募阶段。(2)Crigler-Najjar 综合征是由胆红素尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (*UGT1A1*) 活性降低或缺乏所导致的非结合性高胆红素血症。研究者将 GeneRide 系统与靶向插入位点的 CRISPR/Cas 系统联合,在 Crigler-Najjar 综合征小鼠模型中将编辑效率提高 20~50 倍,且预测部位未观察到脱靶效应<sup>[38]</sup>。最近 Généthon 开发的基因疗法 GNT0003,利用 AAV8 载体表达编码 *UGT1A1* 的转基因,有效降低患者血清胆红素水平<sup>[39]</sup>。(3)转甲状腺素蛋白淀粉样变性是由于 *TRR* 基因突变导致肝脏产生错误折叠的转甲状腺素蛋白而引起多脏器淀粉样变性。LNP 递送 *TRR* 基因 CRISPR/Cas9 编辑(NTLA-2001)的 I/II 期临床试验结果提示患者血清中的转甲状腺素蛋白水平明显降低<sup>[40]</sup>,并且已经进行 III 期临床试验(NCT06128629)患者招募。(4) $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶缺乏症是以血清  $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶缺乏为特征的遗传性疾病,可导致慢性肺脏和(或)肝脏疾病。研究发现通过同源定向修复校正突变基因可防止突变型  $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶的积累,且校正后的肝细胞具有存活优势<sup>[41]</sup>。

#### 四、存在问题和潜在解决方案

众所周知,基因治疗的递送需克服复杂的细胞和组织障碍,将遗传信息传递到靶细胞中,被校正的细胞数量或正常基因表达量均需足够多才能达到矫正缺陷的治疗作用。同时还需长期维持这些作用,逃避免疫或细胞内的清除机制。同时要考虑机体免疫反应、致癌性风险、高剂量载体毒性作用等。

1. 免疫反应:目前大多数成功的用于临床前和临床研究的 AAV 仅限于天然的衣壳血清型,由于人类长期暴露于野生型 AAV 中,通常携带抗衣壳中和抗体,因此在临床上应用存在明显的局限性。抗 AAV 中和抗体的存在是全身输送的一个重要障碍,这些中和抗体干扰 AAV 进入靶细胞、细胞内运输和细胞核内的解包装,从而阻止了转导<sup>[42]</sup>。因此多种抑制 AAV 中和抗体的方法被开发,包括衣壳修饰、表面偶联和封装、血浆分离、B 和(或)T 细胞活化调节、IgG 裂解蛋白酶等<sup>[43]</sup>。如通过雷帕霉素与 AAV 载体联合组装合成的疫苗可有效阻断抗衣壳介导的体液免疫和细胞免疫<sup>[44]</sup>。使用聚合物、脂类和水凝胶的表面栓系和包封均能保护 AAV 衣壳免受中和抗体的侵袭,使其能够逃避免疫系统的检测和抗体反应。最近有研究已经证明,通过将免疫球蛋白或人血清与共价偶联 AAV 颗粒的珠子孵育,可在体外去除中和抗体/因子<sup>[45]</sup>。

2. 高载体剂量毒性:一些临床前研究发现了 AAV 载体引发的炎症反应,尤其是针对 AAV 高剂量给药。研



究人员对恒河猴与仔猪予高剂量 AAV9 ( $2 \times 10^{14}$  vg/kg) 后,出现转氨酶升高、肝衰竭和休克等不良反应<sup>[46]</sup>。Wilson 团队<sup>[47]</sup>也指出了使用高剂量基因疗法的动物会导致肝脏和神经系统损伤。Audentes 公司<sup>[48]</sup>主导的 ASPIRO 试验(NCT03199469)由于采用高剂量 AAV 病毒载体( $3 \times 10^{14}$  vg/kg)治疗 X 连锁肌小管性肌病从而导致 3 例受试患者死亡。以上研究均证实 AAV 病毒载体高剂量使用有可能导致的不良后果。据报道 AAV 的肝毒性是由先天免疫反应或适应性免疫反应介导的常见不良事件,可通过免疫调节来缓解<sup>[49]</sup>,同时这些并发症往往更易发生在已致病的肝脏中<sup>[48]</sup>,因此高剂量载体的毒性背后的机制尚不清楚。

3. 致癌风险:基因治疗的病毒载体有可能插入到人体的原癌基因中去并将其激活,从而导致癌症。一项历经十年针对患血友病的狗接受 AAV 基因治疗的研究发现,AAV 的使用可能会增加肝癌风险的基因组变化<sup>[50]</sup>,但具体致癌情况需要较长时间的随访观察。同时在一项 X-连锁严重联合免疫缺陷临床试验中,受试者也出现白血病的并发症<sup>[51]</sup>。而在对 1 例经基因治疗的 B 型血友病患者发展为肝癌的事件调查中,发现该病毒载体不太可能是导致肝癌的原因<sup>[52]</sup>。因此,AAV 载体是否真的会致癌仍是一个悬而未决的问题。目前 AAV 基因治疗相关的致癌风险多受病毒载体剂量、启动子活性和患者注射年龄等复杂因素的影响<sup>[8]</sup>,其具体机制尚未完全清楚。

4. 伦理风险:基因治疗技术的发展为目前无法治愈的 IMLD 等遗传疾病的治疗带来新希望,但也存在一定的伦理风险。因此,早在 2015 年华盛顿召开的人类基因编辑国际峰会上就明确指出“禁止出于生殖目的而使用基因编辑技术改变人类胚胎或生殖细胞”。而目前普通基因治疗针对的是体细胞,由于基因治疗导致的基因组变异不会遗传给下一代,所以伦理风险较小。目前进一步提高公众对基因治疗的认识,不断完善知情同意制度,完善相关法律法规,加强国家对基因编辑的监管审批,才能实现基因治疗在人类疾病更好的应用。

## 五、总结与展望

目前针对 IMLD 的基因治疗取得了巨大进展,包括病毒载体、非病毒载体等的不断更新换代都为各种 IMLD 基因治疗提供了更安全的选择。对载体与宿主相互作用、基因治疗存在的局限性和问题日益了解,都为完善和改进下一代基因治疗载体提供了新见解。随着递送技术和基因编辑技术的改进,未来将有更多 IMLD 患者受益于基因治疗。

## 参 考 文 献

- [1] 朱世殊,张鸿飞. 儿童遗传代谢性肝病诊治现状及展望[J]. 传染病信息,2015,28(5):270-272,292.
- [2] 梁晨,白丽,段钟平,等. 常见成人遗传代谢性肝病的流行病学特征[J]. 中华肝病杂志,2023,31(11):1224-1228.
- [3] 陈淑如,崇雨田,李新华. 遗传代谢性肝病的临床基因诊断[J]. 中华肝病杂志,2018,26(12):894-897.
- [4] Burdelski M, Rodeck B, Latta A, et al. Treatment of inherited metabolic disorders by liver transplantation[J]. J Inher Metab Dis, 1991, 14(4):604-618.
- [5] Sardh E, Harper P. RNAi therapy with givosiran significantly reduces attack rates in acute intermittent porphyria[J]. J Intern Med, 2022, 291(5):593-610.
- [6] Wang L, Yang Y, Breton C, et al. A mutation-independent CRISPR-Cas9-mediated gene targeting approach to treat a murine model of ornithine transcarbamylase deficiency[J]. Sci Adv, 2020, 6(7):eaax5701.
- [7] Greig JA, Nordin JML, Smith MK, et al. A Gene Therapy Approach to Improve Copper Metabolism and Prevent Liver Damage in a Mouse Model of Wilson Disease[J]. Hum Gene Ther Clin Dev, 2019, 30(1):29-39.
- [8] Baruteau J, Brunetti-Pierri N, Gissen P. Liver-directed gene therapy for inherited metabolic diseases[J]. J Inher Metab Dis, 2024, 47(1):9-21.
- [9] 刘国庆,时斯婧,杨灼婷,等. 肝脏靶向性基因治疗的研究进展[J]. 中国医药导刊, 2023, 25(9):881-890.
- [10] Chandler RJ, Venturoni LE, Liao J, et al. Promoterless, Nuclease-Free Genome Editing Confers a Growth Advantage for Corrected Hepatocytes in Mice With Methylmalonic Acidemia[J]. Hepatology, 2021, 73(6):2223-2237.
- [11] Villiger L, Grisch-Can HM, Lindsay H, et al. Treatment of a metabolic liver disease by in vivo genome base editing in adult mice[J]. Nat Med, 2018, 24(10):1519-1525.
- [12] Newby GA, Liu DR. In vivo somatic cell base editing and prime editing[J]. Mol Ther, 2021, 29(11):3107-3124.
- [13] Podgorski II, Harrach B, Benko M, et al. Characterization of monkey adenoviruses with three fiber genes[J]. Infect Genet Evol, 2023, 108:105403.
- [14] Akinc A, Maier MA, Manoharan M, et al. The Onpatro story and the clinical translation of nanomedicines containing nucleic acid-based drugs[J]. Nat Nanotechnol, 2019, 14(12):1084-1087.
- [15] 中国医师协会医学遗传医师分会临床生化专业委员会, 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组, 中国妇幼保健协会儿童疾病和保健分会遗传代谢学组, 等. 中国 UCD 诊断治疗和管理指南[J]. 中华儿科杂志, 2022, 60(11):1118-1126.
- [16] Seminara J, Tuchman M, Krivitzy L, et al. Establishing a consortium for the study of rare diseases: The Urea Cycle Disorders Consortium[J]. Mol Genet Metab, 2010, 100 Suppl 1(Suppl 1):S97-S105.
- [17] Duff C, Alexander IE, Baruteau J. Gene therapy for urea cycle defects: An update from historical perspectives to future prospects[J]. J Inher Metab Dis, 2024, 47(1):50-62.
- [18] Yang Y, Wang L, Bell P, et al. A dual AAV system enables the Cas9-mediated correction of a metabolic liver disease in newborn mice[J]. Nat Biotechnol, 2016, 34(3):334-338.
- [19] Wang L, Bell P, Morizono H, et al. AAV gene therapy corrects OTC deficiency and prevents liver fibrosis in aged OTC-knock out heterozygous mice[J]. Mol Genet Metab, 2017, 120(4):299-305.
- [20] Baruteau J, Cunningham SC, Yilmaz BS, et al. Safety and efficacy of an engineered hepatotropic AAV gene therapy for ornithine transcarbamylase deficiency in cynomolgus monkeys[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2021, 23:135-146.
- [21] Yamazaki K, Kubara K, Ishii S, et al. Lipid nanoparticle-targeted mRNA formulation as a treatment for ornithine-transcarbamylase deficiency model mice[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2023, 33:210-226.
- [22] Gurung S, Timmermand OV, Perocheau D, et al. mRNA therapy corrects defective glutathione metabolism and restores ureagenesis in preclinical argininosuccinic aciduria[J]. Sci Transl Med, 2024, 16(729):eadh1334.
- [23] Khoja S, Liu XB, Truong B, et al. Intermittent lipid nanoparticle mRNA administration prevents cortical dysmyelination associated with arginase deficiency[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28:859-874.
- [24] Cunningham SC, Siew SM, Hallwirth CV, et al. Modeling correction of severe urea cycle defects in the growing murine liver using a hybrid recombinant adeno-associated virus/piggyBac transposase gene delivery system[J]. Hepatology, 2015, 62(2):417-428.
- [25] 梁黎黎, 韩连书. OA 的诊治及筛查[J]. 发育医学电子杂志, 2020, 8(1):15-19.
- [26] Venturoni LE, Chandler RJ, Liao J, et al. Growth advantage of corrected hepatocytes in a juvenile model of methylmalonic acidemia following liver directed adeno-associated viral mediated nuclease-free genome editing[J]. Mol Genet Metab, 2022, 137(1-2):1-8.
- [27] An D, Frassetto A, Jacquinet E, et al. Long-term efficacy and safety of mRNA therapy in two murine models of methylmalonic acidemia[J]. EBioMedicine, 2019, 45:519-528.
- [28] Attarwala H, Lumley M, Liang M, et al. Translational Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model for mRNA-3927, an Investigational Therapeu-

- tic for the Treatment of Propionic Acidemia[J]. Nucleic Acid Ther, 2023,33(2):141-147.
- [29] Kim Y, Hong SA, Yu J, et al. Adenine base editing and prime editing of chemically derived hepatic progenitors rescue genetic liver disease[J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(9):1614-1624. e5.
- [30] Murillo O, Moreno D, Gazquez C, et al. Liver Expression of a MiniATP7B Gene Results in Long-Term Restoration of Copper Homeostasis in a Wilson Disease Model in Mice[J]. Hepatology, 2019, 70(1):108-126.
- [31] Padula A, Petruzzelli R, Philbert SA, et al. Full-length ATP7B reconstituted through protein trans-splicing corrects Wilson disease in mice[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2022, 26:495-504.
- [32] Vonada A, Tiyaboonchai A, Nygaard S, et al. Therapeutic liver repopulation by transient acetaminophen selection of gene-modified hepatocytes[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(597): eabg3047.
- [33] Richards DY, Winn SR, Dudley S, et al. AAV-Mediated CRISPR/Cas9 Gene Editing in Murine Phenylketonuria[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2019, 17:234-245.
- [34] Cacicedo ML, Weinl-Tenbruck C, Frank D, et al. Phenylalanine hydroxylase mRNA rescues the phenylketonuria phenotype in mice[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2022, 10:993298.
- [35] Perez-Garcia CG, Diaz-Trelles R, Vega JB, et al. Development of an mRNA replacement therapy for phenylketonuria[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28:87-98.
- [36] Koeberl DD, Koch RL, Lim JA, et al. Gene therapy for glycogen storage diseases[J]. J Inherit Metab Dis, 2024, 47(1):93-118.
- [37] Cao J, Choi M, Guadagnin E, et al. mRNA therapy restores euglycemia and prevents liver tumors in murine model of glycogen storage disease[J]. Nat Commun, 2021, 12(1):3090.
- [38] DeCaneva A, Porro F, Bortolussi G, et al. Coupling AAV-mediated promoterless gene targeting to SaCas9 nuclease to efficiently correct liver metabolic diseases[J]. JCI Insight, 2019, 5(15): e128863.
- [39] D' Antiga L, Beuers U, Ronzitti G, et al. Gene Therapy in Patients with the Crigler-Najjar Syndrome[J]. N Engl J Med, 2023, 389(7):620-631.
- [40] Rim JH, Gopalappa R, Gee HY. CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transferrin Amyloidosis[J]. N Engl J Med, 2021, 385(18):1722.
- [41] Song CQ, Wang D, Jiang T, et al. In Vivo Genome Editing Partially Restores Alpha1-Antitrypsin in a Murine Model of AAT Deficiency[J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(8):853-860.
- [42] Verdera HC, Kuranda K, Mingozzi F. AAV Vector Immunogenicity in Humans: A Long Journey to Successful Gene Transfer[J]. Mol Ther, 2020, 28(3):723-746.
- [43] Masat E, Pavani G, Mingozzi F. Humoral immunity to AAV vectors in gene therapy: challenges and potential solutions[J]. Discov Med, 2013, 15(85):379-389.
- [44] Meliani A, Boisgerault F, Hardet R, et al. Antigen-selective modulation of AAV immunogenicity with tolerogenic rapamycin nanoparticles enables successful vector re-administration[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):4098.
- [45] Weber T. Anti-AAV Antibodies in AAV Gene Therapy: Current Challenges and Possible Solutions[J]. Front Immunol, 2021, 12:658399.
- [46] Flotte TR Editor-in-Chief. Revisiting the "New" Inflammatory Toxicities of Adeno-Associated Virus Vectors[J]. Hum Gene Ther, 2020, 31(7-8):398-399.
- [47] Hinderer C, Katz N, Buza EL, et al. Severe Toxicity in Nonhuman Primates and Piglets Following High-Dose Intravenous Administration of an Adeno-Associated Virus Vector Expressing Human SMN [J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(3):285-298.
- [48] Shieh PB, Kuntz NL, Dowling JJ, et al. Safety and efficacy of gene replacement therapy for X-linked myotubular myopathy (ASPIRO): a multinational, open-label, dose-escalation trial [J]. Lancet Neurol, 2023, 22(12):1125-1139.
- [49] Costa-Verdera H, Unzu C, Valeri E, et al. Understanding and Tackling Immune Responses to Adeno-Associated Viral Vectors[J]. Hum Gene Ther, 2023, 34(17-18):836-852.
- [50] Nguyen GN, Everett JK, Kafle S, et al. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells[J]. Nat Biotechnol, 2021, 39(1):47-55.
- [51] Howe SJ, Mansour MR, Schwarzwaelder K, et al. Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients[J]. J Clin Invest, 2008, 118(9):3143-3150.
- [52] Schmidt M, Foster GR, Coppens M, et al. Molecular evaluation and vector integration analysis of HCC complicating AAV gene therapy for hemophilia B[J]. Blood Adv, 2023, 7(17):4966-4969.

(收稿日期:2024-03-12)

(本文编辑:高婷)

• 读者 • 作者 • 编者 •

## 2024 年 4 期《临床内科杂志》综述与讲座——“疑难罕见肝病的临床诊疗进展”栏目导读

何为疑难肝病? 暂无统一定义, 是否疑难, 仁者见仁、智者见智。罕见肝病因其罕见, 所以难诊。临床疑难罕见肝病的诊疗能力是一个医师及一个学科综合水平的体现, 易受临床经验、专业能力、技术水平和辅助科室支撑力度等因素的影响, 临床迟诊、误诊非常常见。本期“综述与讲座”栏目特别邀请中山大学附属第三医院感染性疾病科李新华教授为“疑难罕见肝病的临床诊疗进展”专栏组稿, 并邀请该领域的知名专家撰稿, 从基础到临床, 不同疾病、不同视角、多维度论述, 力争给读者一个全面而贴近临床实践的介绍。近年来, 随着二代测序技术的进步及临床普及, 已彻底改变了疑难罕见疾病的诊断模式, 也给临床医师提出了新的挑战, 如何选择恰当的检测方法、提高临床基因诊断率及正确解读基因报告等等, 困惑不小。首都医科大学附属北京佑安医院肝病中心的郑素军教授撰写的《二代测序在遗传代谢性肝病诊断应用中的挑战及思考》, 针对全外显子组测序在临床实践过程中所遇到的常见问题进行探讨, 值得临床借鉴。遗传性肝内胆汁淤积症常常困扰临床医师, 特别是 *ABCB4* 基因缺陷病, 其疾病谱广, 遗传模式及临床表现多样, 且临床表型常难以与常见疾病区分, 易被误诊、漏诊。中山大学附属第三医院感染性疾病科崇雨田教授撰写的《*ABCB4* 基因缺陷病的临床研究进展》, 全面总结了该疾病的临床特征及近年来的诊疗进展, 旨在提高临床医师对其认识。上海交通大学医学院附属瑞金医院感染科张欣欣教授撰写的《遗传性血色病的研究进展》, 结合欧美最新指南, 聚焦国内外遗传性血色病的研究进展, 并给出适用于国内患者的临床诊断思路导向图, 对我国这类患者的诊治具有很高指导价值。肝豆状核变性又称 Wilson 病, 为遗传性铜代谢异常的疾病, 是临床相对常见一种罕见病, 四川大学华西医院感染性疾病中心陈恩强教授撰写的《肝豆状核变性的诊疗进展》, 结合国内外最新指南和研究报道, 对 Wilson 病的诊疗进展进行综述, 内容紧盯前沿、与时俱进, 值得仔细阅读。卟啉病是一组少见、复杂的临床异质性疾病, 常累及多个器官和系统, 易漏诊、误诊或延误诊断, 严重影响患者的生活质量和生命安全。联勤保障部队第九〇〇医院(福建医科大学福总临床医学院)肝胆内科李东良教授撰写的《卟啉病及其肝损伤的发病机制与诊治进展》, 重点对卟啉病及其肝损伤的发病机制及诊治进展进行总结分析, 值得重点关注。李新华教授撰写的《先天性肝纤维化现状和研究进展》, 针对先天性肝纤维化这一罕见疾病, 从其致病机制、相关致病基因、病理改变、临床表现、诊断及治疗等方面进行全面总结, 以为临床提供参考。近年来, 遗传代谢性肝病的临床诊断进步显著, 然而针对性的治疗临床仍然举步维艰, 中山大学生命科学学院梁普平教授撰写的《基因治疗在遗传代谢性肝病中的应用进展》, 围绕基因治疗手段这一被认为是除肝移植外更高效、更安全地彻底治愈遗传代谢性肝病的方法, 重点对其基因治疗的进展和现状进行论述。限于篇幅, 更多精彩内容请参阅本期杂志“综述与讲座”栏目各篇文章。

您可登录万方数据库、中国知网、维普网及本刊官方网站(www.lcnkzz.com)搜索本期杂志。感谢您持续关注《临床内科杂志》!

本刊编辑部