

2023生物医药技术趋势展望

DEEPTECH



序言

生物医药是关系国计民生的重要产业，是当今世界创新最为活跃、发展最为迅猛的战略性新兴产业之一。新冠肺炎疫情全球大爆发更是凸显了生物医药的重要性，世界各国纷纷把生物医药技术及产业化提升作为国家战略。

随着生物技术的创新发展，许多创新性的技术经过多年的积累和研究的深入，逐步取得重大突破，促进了创新型药物的产业化，推动生物医药行业从具有发展潜力的高技术产业逐步转变为蓬勃发展的高技术支柱产业。

2023年，哪些生物医药技术在未来1-3年具备产业影响力、生物医药产业应用创新有哪些新趋势？

DeepTech密切关注行业发展最新动向，通过文献统计、数据分析、专家访谈等手段，洞悉生物医药技术发展趋势，探寻具备技术颠覆性、具有产业化前景的先进生物医药技术，并客观真实地阐述其发展现状，展望2023年十大生物医药技术趋势。

DeepTech正式发布《2023年生物医药技术趋势展望》研究报告。十项生物医药技术展望，涵盖了生命科学和生物医药的底层技术CRISPR-Cas基因编辑技术、酶促DNA合成、药物递送系统，从基础研究进入临床阶段的异种器官移植、CAR-NK细胞治疗、噬菌体疗法，实现赛道破冰的微生物生态疗法，以及实现产业化并将有更多创新突破的mRNA药物、抗体偶联药物、双特异性抗体。

2023年，生物医药技术新趋势将重塑产业发展格局，它们可能会对未来生物医药产业的研究方向产生重大影响。未来，生物医药底层技术的革新将推动创新药物从基础研究走向临床试验，并最终实现产业化，推动创新药物研究和生物医药产业发展进入革命性变化的时代，最终为人类的生命健康保驾护航。



2023生物医药技术趋势展望



CRISPR-Cas基因编辑技术

CRISPR-Cas Gene Editing Technology

生命科学最主要的底层技术之一，追求精准化、灵活化、迷你化，首个CRISPR基因编辑疗法将获批上市

异种器官移植

Xenotransplantation

向临床试验迈进，解决人体器官供应不足

Enzymatic DNA Synthesis

合成生物学底层技术日趋成熟，引领新一轮的DNA合成技术革命

酶促DNA合成



CAR-NK细胞治疗

CAR-NK Cell Therapy

冉冉升起的肿瘤细胞治疗新星，多个研发项目已进入临床阶段

药物递送系统

新型药物递送系统不断涌现，撑起核酸药物研发半边天



Drug Delivery System

Phage Therapy

噬菌体疗法

治疗耐药菌感染的希望



微生态疗法

+++++

Microecological Therapy

首款药物获批，微生态疗法赛道终于破冰

mRNA-based Drug

mRNA药物

新冠疫情推动mRNA疫苗获批上市，肿瘤免疫治疗和蛋白质替代治疗领域快速推进



Antibody Drug Conjugate

抗体偶联药物

魔法子弹迎来收获期，即将进入万物皆可偶联时代



双特异性抗体

双抗药物进入爆发期，将迈向更佳临床效果的高成药性平台，联合疗法、多特异性抗体

Bispecific Antibody



扫码下载



基础技术篇

基础技术的突破不断引领生物医药创新前沿



基础技术的突破不断引领生物医药创新前沿。新型基础技术的出现和改进会引领相关领域爆炸式发展，加速临床应用和产业化进程，从而解决更多尚未满足的临床需求。CRISPR-Cas系统的发现引领了基因编辑领域突破性发展，技术改进将追求精准化、灵活化、迷你化，促进基因编辑疗法的临床应用。酶促DNA合成将引领新一轮的DNA合成技术革命，实现长片段DNA高效率、高精度、低成本合成，极大地拓展DNA的应用范围，推动合成生物学的巨大进步。药物递送系统是创新药物研发不可避免的话题，新型药物递送系统在不断涌现，大幅缩短创新药物研发周期，撑起创新药物研发的半边天。

CRISPR-Cas基因编辑技术

生命科学最主要的底层技术之一，追求精准化、灵活化、迷你化，
首个CRISPR基因编辑疗法将获批上市

CRISPR-Cas系统是继ZFN、TALEN之后的第三代基因编辑技术。它的出现推动了基因编辑技术的发展，已经成为当今世界应用最广泛的基因编辑技术，成为生命科学最主要的底层技术之一。CRISPR-Cas9系统主要由Cas9蛋白和单链向导RNA (sgRNA) 所组成，其中Cas9蛋白起切割DNA双链的作用，sgRNA起向导的作用。在sgRNA的向导下通过碱基互补配对原则，Cas9蛋白可对不同的靶部位进行切割，实现DNA的双链断裂。

根据CRISPR-Cas作用模块的数量和种类，**CRISPR-Cas系统分为两大类**。第一类CRISPR-Cas系统由多个Cas蛋白亚基组成的多蛋白效应复合体和crRNA组成，又可细分为I型、III型和IV型；第二类CRISPR-Cas系统为单一蛋白效应器，又可细分为II型、V型和VI型。目前，已经鉴定的CRISPR-Cas系统中，以第一类CRISPR-Cas系统为主，占比多达90%左右，广泛分布于细菌和古生菌中。由于第一类效应复合物由多蛋白组成，基因编辑过程复杂，实用性不佳。而第二类CRISPR-Cas系统由Cas蛋白发挥DNA或RNA的切割功能，切割靶序列效率高，且单个蛋白易于改造，因而第二类CRISPR-Cas系统被最早开发并广泛应用于基因编辑中。其中，**最常用的是Cas9、Cas12a和Cas13a**。

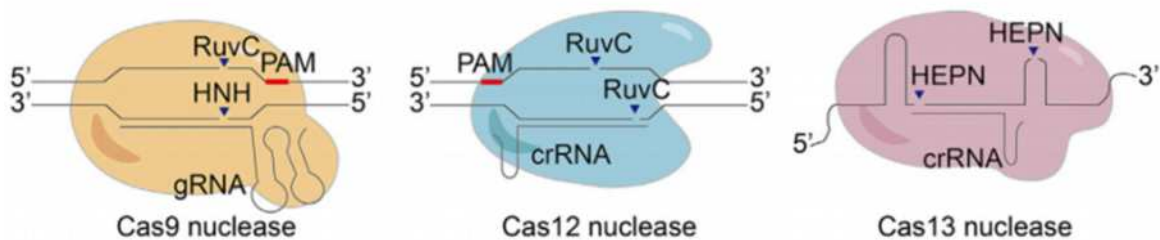


图1 | Cas9、Cas12和Cas13基因编辑原理图(来源：Molecular Cell)

CRISPR-Cas基因编辑技术

生命科学最主要的底层技术之一，追求精准化、灵活化、迷你化，
首个CRISPR基因编辑疗法将获批上市

Cas9是最早被发现和表征的二类II型效应蛋白，是目前应用最为广泛的Cas蛋白之一。Cas9是由crRNA和反式激活crRNA(tracrRNA)引导的DNA核酸内切酶。CRISPR序列转录为pre-crRNA，随后加工为成熟的crRNA，并与tracrRNA、Cas9蛋白形成核糖核蛋白复合体。当Cas9蛋白识别富含鸟嘌呤PAM序列(如NGG，其中N代表任意核苷酸)，并且crRNA与靶DNA序列互补，那么Cas9会在PAM序列上游约3-4个核苷酸对双链DNA进行切割，引发DNA双链断裂，形成平末端。

Cas12a，最早称为Cpf1，是二类V型效应蛋白，也是目前应用最为广泛的Cas蛋白之一。Cas12a同时具有DNA和RNA内切酶活性，可以不依赖于tracrRNA而将pre-crRNA加工为成熟的crRNA。Cas12a识别富含胸腺嘧啶的PAM序列(如TTN)，并在PAM序列下游对双链DNA进行切割，形成粘性末端。与Cas9和Cas12a不同，Cas13a是靶向RNA的核酸酶，属于二类VI型效应蛋白。Cas13a与crRNA、底物结合形成三元复合体后，Cas13a蛋白被激活，对底物单链靶RNA进行切割。

核酸酶	Cas9	Cas12a	Cas13a
分类	II型	V型	VI型
核酸酶结构域	RuvC and HNH	RuvC	HEPN
gRNA	crRNA和tracrRNA	crRNA	crRNA
底物	dsDNA	dsDNA	RNA
PAM	G富含(如NGG)	T富集(如TTN)	-
裂解方式	平末端	粘性末端	取决于靶向序列和二级结构

表1 | 常用Cas蛋白特征(来源: Molecular Cell, DeepTech整理)

Cas蛋白的固有缺陷限制了CRISPR-Cas系统的应用。PAM序列限制了靶目标的范围，如Cas9识别的PAM序列为NGG，在人类基因组中平均每八个碱基才有可能出现一个

CRISPR-Cas基因编辑技术

生命科学最主要的底层技术之一，追求精准化、灵活化、迷你化，
首个CRISPR基因编辑疗法将获批上市

PAM序列，严重制约了其对基因组大部分位点的编辑。脱靶效应也是CRISPR-Cas系统面临的一大问题，gRNA同靶序列的结合可以允许多个碱基的错配，这导致了基因编辑过程中会发生不可预测的脱靶，这对于精准的基因编辑来说是一个不可忽视的问题。另外，由于常用的Cas9、Cas12a和Cas13a大小接近4kb，而递送系统AAV病毒的包装上限约为4.7kb，不利于CRISPR-Cas系统的递送。这些问题都极大地影响了基因编辑的精准性、可控性、灵活性和安全性，限制了CRISPR-Cas系统新功能和应用范围的拓展。**因此，优化改造Cas蛋白、寻找更小的Cas蛋白、发掘更优的新型系统等成为近年来CRISPR-Cas系统研究的重点方向。**

优化改造Cas蛋白，提高基因编辑的精准性和灵活性。脱靶效应和PAM的序列限制是影响CRISPR-Cas系统应用的核心问题，因此需要对Cas蛋白进行优化改造，从而提高靶向特异性，克服脱靶率问题，并突破PAM限制，扩展靶序列的识别范围。目前，已经有众多工作开展，构建了多个Cas蛋白突变体。例如，通过合理设计并定向进化开发高保真的Cas9变体，得到高保真蛋白enAsCas12aHF1。新开发的两种Cas9变体SpG和SpRY，不需要特定的PAM来结合和切割DNA序列。

Cas蛋白迷你化提高CRISPR-Cas系统的递送效率。新开发的小型Cas蛋白Nsp2-SmuCas9嵌合体，长度约为1000氨基酸，可识别N4C PAM序列，但其编辑活性仍有待提高。迷你蛋白Cas14，又称为Cas12f1，只有400-500个氨基酸。近年，基于该蛋白又开发了多款迷你蛋白，如DpbCas12e(约1000氨基酸)、Cas12j(又称CasΦ，700氨基酸)、Un1Cas12f1(537氨基酸)、AsCas12f1(422氨基酸)、SpaCas12f1(497氨基酸)和CasMINI(源自Un1Cas12f1，529氨基酸)。不过这些蛋白还存在编辑活性低的问题，有待进一步改进。我国辉大基因开发了Cas13X.1(又称Cas13e.1，775氨基酸)和Cas13Y(又称Cas13f，790氨基酸)，并于2022年获得美国专利局授予专利，成为我国首个自主研发的、在美国获得专利授权的CRISPR-Cas13基因编辑工具，打破了欧美在基因编辑工具领域的专利垄断。

CRISPR-Cas基因编辑技术

生命科学最主要的底层技术之一，追求精准化、灵活化、迷你化，
首个CRISPR基因编辑疗法将获批上市

Cas蛋白变体	PAM序列	保真性	Cas蛋白变体	PAM序列	保真性
KKH SaCas9	NNNRRT	—	SpCas9-HF1	NGG	提高
RRAsCas12a	TYCV	—	SpG	NGN	—
RVRAsCas12a	TATV	—	SpRY	NYN/NRN	—
xCas9-3.7	NG/NNG/GAA/ GAT/CAA	提高	enAsCas12a-HF1	TTYN/VTTV/TRTV	提高
SpCas9- NRRH/NRTH/NRCH	NRNH	提高	LbCas12a-RVRR	TNTN/TACV/TTCV/ CTCV/CCCV	—
HypaCas9	NGG	提高	Blackjack SpCas9	NGG	提高
eSpCas9(1.0)	NGG	提高			

表2 | 部分工程化改造的Cas蛋白变体(来源: Synthetic Biology Journal, DeepTech整理)

发掘新型Cas蛋白，扩大CRISPR-Cas系统的应用范围。Cas7-11是通过大数据挖掘找到的一类独特的III-E型CRISPR-Cas系统，与传统的多组分效应蛋白复合物不同，该系统具有单一的效应蛋白Cas7-11(由传统的Cas11和Cas7融合而成)，具有crRNA加工和序列特异性RNA切割活性，为哺乳动物细胞提供了一种新的RNA敲除工具，其脱靶效应比当前的RNA敲除技术更低。

2023年首个CRISPR基因编辑疗法有望获批上市。CRISPR-Cas系统的广泛应用推动了相关生物医药技术的发展。美国Vertex制药公司和CRISPR Therapeutics公司目前正在开发基于CRISPR-Cas9系统的exa-cel疗法，使用CRISPR-Cas9技术编辑有缺陷的基因系统治疗β-地中海贫血和镰状细胞病这两种遗传性血液疾病。2022年9月，基于良好的临床试验结果，Vertex公司和CRISPR Therapeutics启动exa-cel疗法的上市申请，有望于2023年获批上市。

酶促DNA合成

合成生物学底层技术日趋成熟，引领新一轮的DNA合成技术革命

酶促DNA合成是指在不依赖于DNA模板的情况下，通过酶促反应实现DNA分子的头合成。这个技术的核心便是实现酶促反应的末端脱氧核苷酸转移酶(Terminal deoxynucleotidyl Transferase, TdT)。TdT是一种不依赖于DNA模板的单链DNA合成酶，整个催化过程中不需要经过变性、复性和延伸反应，在恒温 and 金属离子辅助的条件下，催化脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)聚合到寡核苷酸的3'末端，从而合成寡核糖核苷酸链。TdT具有无模板依赖的快速聚合活性，能够实现长链DNA合成。另外，TdT对底物的选择性较低，dNTP、核糖核苷三磷酸(rNTP)以及修饰的核苷三磷酸类似物均可以作为的TdT底物。

化学合成法在DNA合成长度、成本和环保等方面存有问题。目前，市面中最常用的DNA合成方法是固相亚磷酰胺三酯法。该化学合成法需要4-5个反应步骤，每个步骤可能会有错误，随着合成链的延长，合成的准确率会大幅下降，合成产物得率也明显下降。这导致化学合成法合成的DNA片段长度最多能达到200-300nt。若想得到更长的DNA片段，需要将短片段不断拼接组装，拼接组装过程大幅增加了长链DNA合成成本。另外，化学合成法需要大量使用有毒化学试剂，合成产生的废液、废气需要特殊处理。

酶促DNA合成技术推动DNA合成技术再次升级。

酶促DNA合成技术只需要2-3个反应步骤，可以提高DNA合成的准确率，缩短DNA合成时间。酶的高特异性支持长片段DNA的合成，或能够合成长达8000 nt的DNA序列，酶促合成技术有望将长片段DNA合成的成本降低2-3个数量级。酶促DNA合成反应在温和条件和水相中进行，整个催化合成过程绿色环保，不产生危险废物废液。与化学合成法相比，酶促DNA合成技术在DNA合成长度、准确率、成本及环保等方面具有巨大的潜力，因而被认为将引领新一轮的DNA合成技术革命。

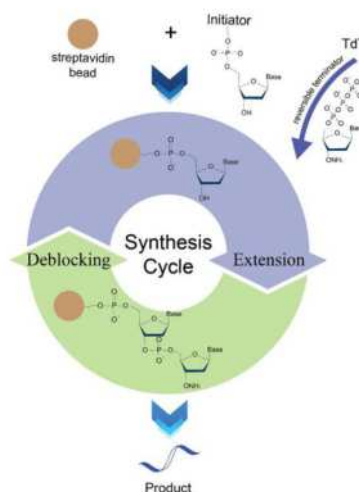


图2 | TdT两步循环合成DNA
(来源: ACS Catalysis)

酶促DNA合成

合成生物学底层技术日趋成熟，引领新一轮的DNA合成技术革命

酶促DNA合成技术日趋成熟，极具商业化潜力。目前，市场上出现了一批以酶促DNA合成技术为核心的商业化公司，如Molecular Assemblies、Nuclera、DNA Script、Ansa Biotechnologies等。Molecular Assemblies、Nuclera和DNA Script这3家公司均是以TdT酶为核心，通过修饰核苷酸分子制备带有可逆终止基团的核苷酸单体，该修饰的核苷酸单体使TdT酶每次只添加单个碱基，之后去除掉新添加碱基的可逆终止基团后开始下一个碱基的合成，进而实现DNA的合成。其中，Molecular Assemblies和Nuclera可逆终止基团选择的是3'-O-叠氮甲基，DNA Script选择的是3'-O-氨基。2022年4月，DNA Script推出基于专有酶促DNA合成技术的DNA打印机SYNTAX，并推出早期使用计划，允许客户率先使用SYNTAX平台。

Ansa Biotechnologies公司开发了dNTP-TdT偶联体介导的可逆终止合成法。该方法将碱基偶联在TdT上，酶促合成过程中每添加一个dNTP-TdT后，由于TdT共价结合在合成DNA的3'端，阻止了新碱基的继续添加，随后再通过偶联TdT的剪切、洗去、再添加实现碱基逐个添加到DNA的3'端，从而合成DNA。2022年，该公司获得6800万美元融资，用于加速基于dNTP-TdT的酶促DNA合成技术的开发，构建高通量合成仪器。

中国团队实现酶促DNA合成的重大突破，提高DNA合成的效率和准确度。2022年，中国科学院天津工业生物技术研究所江会锋团队通过生物信息学的技术筛选到高效催化活性的鸟类TdT；通过理性设计和高通量筛选策略，对筛选到的鸟类TdT进行改造，重塑ZaTdT催化活性腔，获得新的TdT突变体，即ZaTdT-R335L-K337G，该突变体的催化效率比哺乳动物TdT催化效率高3个数量级，大幅提升了对氧氨基修饰核苷酸(3'-ONH₂-dNTPs)的特异性识别和催化合成能力。利用ZaTdT-R335L-K337G可以通过两步循环步骤实现DNA的合成，平均准确率可以达到98.7%，媲美商业化的DNA化学合成法。下一步该团队瞄准长片段DNA合成，通过优化合成

酶促DNA合成

合成生物学底层技术日趋成熟，引领新一轮的DNA合成技术革命

系统，使得酶在每个催化合成步骤都保持高活性，合成500-1000nt长度甚至更长的DNA片段，并将准确率维持在99.5%-99.8%，从而解决长片段DNA合成的难题。

酶促DNA合成技术仍处于起步阶段，但是新技术的出现给高效率、高精度、低成本合成长片段DNA带来了希望，将会对DNA合成技术带来一场技术革命，代表了DNA合成的新的发展方向。DNA尤其是长片段DNA的生物合成如果能够实现，将极大地拓展DNA分子的应用范围，推动合成生物学的进步。

药物递送系统(Drug Delivery System, DDS)是将药物递送到药理作用靶点的系统，涵盖了药物制备、给药途径、位点靶向、代谢和毒理等方面的技术。在临床应用上，药物递送系统不仅发挥着将药物递送到靶点的作用，更重要的是还承担着药物靶向、药物控释、增强药物稳定性或促进药物吸收等多方面的作用，从而解决某些药物溶解度低、靶向效果弱、稳定性差等缺点，提高药物的治疗效果。

新型递送技术的突破和成熟推动了核酸药物的临床转化，撑起核酸药物研发的半边天。由于具有不稳定性、免疫原性、细胞摄取效率低、内吞体逃逸难等多方向的缺点，核酸药物从概念提出到基础研究再到有药物上市经历了较长的历程。对于核酸药物能够实现临床转化，递送系统发挥着至关重要的作用，只有通过递送才使得核酸形式的药物最终成药。目前，成熟的核酸药物递送系统有GalNac(N-乙酰半乳糖胺)偶联修饰、脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)和重组腺相关病毒(recombination adeno-associated virus, rAAV)载体。近些年来，外泌体作为一种新型的递送系统引起了研究人员的广泛关注。

GalNac偶联修饰是当前最常用的小核酸药物递送系统，是核酸药物发展历程中的重大突破。GalNac能够与肝细胞表面的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)特异性结合。之后，ASGPR和网格蛋白介导的内吞作用可以将GalNac转运至肝细胞内。GalNac偶联修饰的小核酸药物提高了小核酸进入肝细胞的效率，解决了小核酸药物靶向性差、脱靶效应严重、稳定性差的缺点，提高了小核酸的临床效果。但是，该递送系统也存在着一定的局限性，由于ASGPR在肝细胞表面特异性高表达，而在其他组织细胞中表达量极少，因而GalNac偶联修饰的小核酸药物只能靶向肝细胞并在肝细胞内发挥作用，限制了小核酸药物在其他组织器官中发挥作用。全球已经批准上市3款GalNac偶联修饰siRNA药物，即Givlaari、Leqvio和Oxlumo，均是由Alnylam公司研发，分别用于治疗急性肝卟啉症、高胆固醇血症和原发性高草酸尿症1型。

mRNA新冠疫苗让LNP递送系统声名鹊起。LNP是一种球状的包含脂质成分的实心纳米颗粒。LNP包含有4类分子，分别是可电离的阳离子磷脂、中性辅助脂质、胆固醇和聚乙二醇修饰的磷脂。这4种成分按照一定的比例组装成LNP，并在药物递送过程中发挥不同作用。可电离阳离子脂质是药物递送关键因素，在生理pH值下保持中性，降低药物的毒性和免疫原性；在低pH值下带正电，与带负电的RNA结合，并在被细胞内化后实现溶酶体逃逸。中性辅助脂质能够促进层状脂质结构的形成和稳定。胆固醇有较强的膜融合能力，能够促进mRNA的内化和进入胞质。聚乙二醇修饰的磷脂能够改善LNP的亲水，防止LNP聚集，增加稳定性，并可以避免LNP被免疫系统清除。新冠疫情促进了mRNA新冠疫苗的获批上市，BioNTech、Moderna和CureVac三家公司的mRNA新冠疫苗均使用了LNP递送技术。

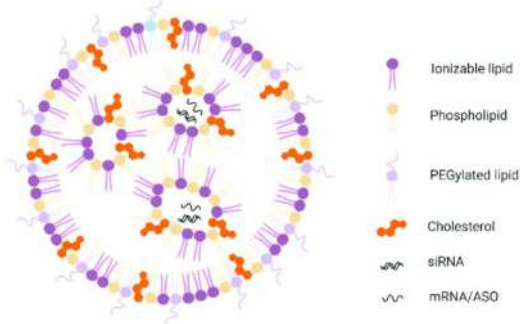


图3 | LNP的结构示意图 (来源: molecules)

在此之前，Alnylam公司基于LNP递送系统研发的siRNA药物Onpattro在美国获批上市，用于治疗肝脏甲状腺素转运蛋白(TTR)介导的淀粉样病变。该核酸药物是一款载有siRNA的LNP，通过静脉输注将药物直接递送至肝脏，通过抑制TTR的合成来发挥治疗作用。

rAAV在基因药物递送上发挥重要作用。rAAV是在非致病的野生型AAV基础上改造而成的基因载体。包裹基因表达系统的rAAV侵入靶细胞后，将包含有基因表达系统的遗传物质通过核孔复合体传递到细胞核内，最终在靶细胞中转录出相应的蛋白发挥治疗作用。rAAV也可以往靶细胞中导入shRNA或者CRISPR-Cas基因编辑系统，从而实现基因沉默或基因编辑功能，达到基因治疗目的。rAAV具有安全性高、免疫原性低、种类多样等优势，且不同血清型的rAAV具有其独特的组织特异性，可

序号	药物	公司	首次获批时期	适应症
1	Glybera	uniQure	2012-10欧盟 2017年退市	脂蛋白脂肪酶缺乏症
2	Luxturna	Spark Therapeutics	2017-12美国	遗传性视网膜疾病
3	Zolgensma	Novartis	2019-05美国	治疗2岁以下脊髓性肌萎缩症
4	Upstaza	PTC Therapeutics	2022-07欧盟	AADC缺乏症
5	Roctavian	BioMarin Pharmaceutical	2022-08欧盟	严重血友病A成人患者

表3 | 已经获批上市的AAV基因治疗药物 (DeepTech根据公开资料整理)

以实现不同组织的基因药物递送。目前，全球共有5款AAV基因治疗药物获批上市(含退市的Glybera)。2022年，2款新的AAV基因治疗药物在欧盟获批上市，极大地推进了rAAV作为递送系统在基因治疗领域的应用。

外泌体有望成为新的核酸药物递送系统。外泌体是由细胞分泌的一种细胞外膜状脂质囊泡，大小在40-100nm，可以递送核酸、蛋白质、小分子等药物。作为天然内源性转运载体，外泌体具有多种先天优势，如细胞摄取效率高、不激活先天或后天免疫、可以通过血脑屏障传递到中枢神经系统等。正是具有这些先天优势，外泌体作为递送系统被研究用于治疗癌症、心血管疾病、帕金森症和阿尔茨海默病以及其他神经退行性疾病。目前，外泌体代表公司CODIAK有3款基于工程化外泌体递送系统的创新药物进行1期临床。这3款药物利用工程化外泌体分别携带不同的药物(IL-12、STING激动剂和靶向STAT6转录因子的反义寡核苷酸)靶向至相应的肿瘤组织，激活人体自身的免疫应答以杀伤相应的肿瘤细胞。Evox Therapeutics公司开发了基于外泌体的核酸药物递送系统，递送mRNA、siRNA、反义寡核苷酸以及CRISPR等，用于治疗罕见病和神经系统疾病。



临床技术篇

临床试验推动创新药物从基础研究走向成熟



临床试验是创新药物研发过程中不可或缺的重要一环，推动创新药物从基础研究走向成熟。首例基因编辑的猪心脏移植走向临床治疗，异种器官移植向临床研究迈出了关键性一步，未来有望解决人体器官供体不足的问题。借鉴CAR-T成功的技术和经验，CAR-NK细胞治疗成为冉冉兴起的肿瘤细胞治疗新星，目前多个研究项目已进入临床试验阶段。噬菌体疗法已经通过医疗技术服务的方式临床治愈多例超级细菌感染患者，未来期待研发出标准化的噬菌体疗法，解决耐药菌感染的世界性难题。

Xenotransplantation

异种器官移植

向临床试验迈进，解决人体器官供应不足

异种器官移植是用手术的方法将某一种属个体的器官或组织移植到另一种属个体中(尤其是人体中)。人体接受异种器官移植后，如果能够接受异种器官并且不产生强烈的免疫排斥反应，那么这种动物提供的器官将有效地解决临床移植中人体器官供应不足的问题。2022年，经FDA批准，首例基因编辑的猪心脏移植到一位生命濒危的终末期心脏患者体内，患者存活59天。尽管近2个月的时间并不长，但这仍旧是异种器官移植一个值得写入历史的里程碑事件，表明异种器官移植向未来的临床研究迈出了关键性一步。

小型猪被公认为是异种器官移植中最理想也将是未来最主要的器官供体。猪主要器官的大小、生理功能等指标与人类比较接近；猪是多胎动物，易繁育，适合大规模培养；猪的基因研究较为深入，且目前猪的基因改造技术成熟；猪不是保护动物，伦理学方面碰到的压力相对会小。美国FDA已经批准满足“无特定微生物”标准的猪可用于临床试验。因此，基因编辑猪作为理想的器官供体，被广泛研究和培育。

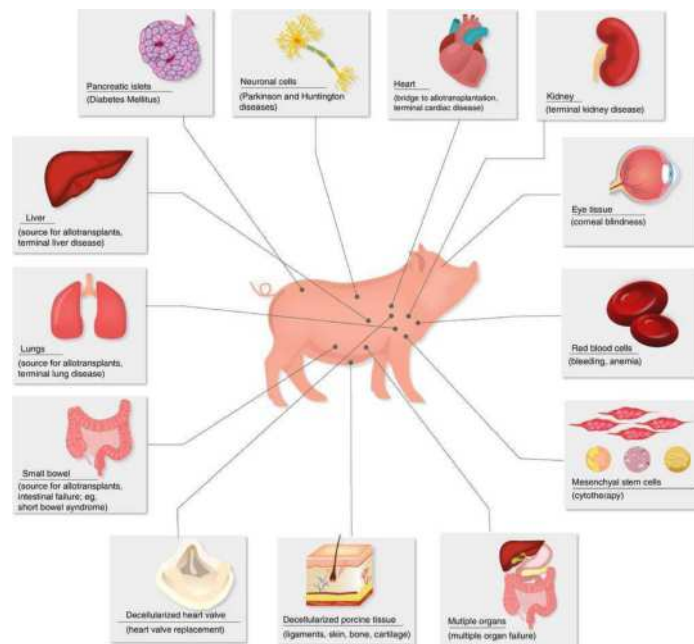


图4 | 异体器官移植潜在的治疗疾病(来源: The Lancet)

异种器官移植

向临床试验迈进，解决人体器官供应不足

免疫排斥反应是异种器官移植所面临的重大难题。第一步要解决的是超急性排斥反应。在异种器官移植到人体后，在几分钟到几小时内会发生补体活化、内皮细胞破裂、血管破坏和超急性排斥反应。超急性排斥反应最主要的原因是血液中的天然抗体与异种器官表面的抗原结合，从而激活了人体的补体系统。补体系统由无数补体蛋白构成，通过经典补体通路、替代补体通路和凝集素补体通路3条补体激活途径被激活，之后引起免疫细胞溶解、免疫溶血，从而导致异体器官移植失败。克服了超急性排斥反应之后，其次是急性排斥反应。急性排斥反应发生在移植后数日至6个月内，人体大多数的B细胞、T细胞、巨噬细胞等免疫细胞以及众多细胞杀伤因子均参与到急性排斥过程中。最后是慢性排斥反应，异种器官移植被认为将会发生与人器官移植相类似的慢性免疫排斥反应。因而异种器官移植后，患者也需要接受综合的免疫抑制治疗，以有效抑制复杂的免疫排斥反应。

基因编辑用于解决异种器官移植中的免疫排斥反应。为了缓解这些排斥反应，现在科学家在猪身上测试了近50种不同的基因，通过敲除猪的基因或者导入人类的基因来抑制免疫排斥反应的发生。目前，多家公司通过不同的基因编辑组合方式，通过基因工程的手段制备了多种适用于异种器官移植的基因编辑猪。

2022年异种器官移植开始向临床试验迈进。2022年1月7日，美国马里兰大学医学中心报告了全球首例基因编辑猪心脏移植到终末期心脏病患者体内，并使之存活了59天。该心脏来源于10G基因编辑猪，即经过10种基因修饰：GGTA1、CMAH、B4GALNT2和GHR的敲除以及人类CD46、CD55、TM、EPCR、CD47和HO1的导入。这10个基因可以分为3类：3个可以激活人抗体的糖基化抗原基因GGTA1、CMAH和B4GALNT2被敲除；生长激素受体基因GHR被敲除，防止心脏过度生长；6个可以减轻免疫排斥反应的人源基因CD46、CD55、TM、EPCR、CD47和HO1被导入。而在此之前，已有3例基因编辑GTKO猪肾脏体外移植到脑死亡患者的案例。针对异种器

异种器官移植

向临床试验迈进，解决人体器官供应不足

基因	抑制	基因	抑制
GGTA1 (敲除)	超急性排斥反应	hCD39, ENTPD1	血小板聚集
CMAH (敲除)	超急性排斥反应	hTFPI	血液凝固
B4GALNT2 (敲除)	超急性排斥反应	不相容	细胞凋亡和炎症
B4GALNT2L (敲除)			
GHR (敲除)	器官过度生长	hHO1, HMOX1	细胞凋亡和炎症
不相容 SLAI (敲除)	交叉反应性HLA抗体	hCD47	巨噬细胞
hCD46	补体活化	HLA-E/B2M	NK细胞
hCD55	补体活化	CTLA4/LEA29Y	T细胞
hCD59	补体活化	PDL-1	T细胞
hTM, THBD	血液凝固	病毒安全 PERV (敲除)	病毒传播

表4 | 异种器官移植相关的基因敲除和人类基因导入(来源：Transgenic Research, DeepTech整理)

官移植这种实验性疗法，美国FDA批准了“同情使用”条款，当患者面临严重或危及生命的医疗状况，且仅有实验性疗法这一种选择的时候，就适用这项条款。

国内异种器官移植在临床前试验阶段积累了一定的经验。2021年，海南医学院移植医学研究所科研团队将基因编辑猪的肾脏移植给猕猴，受体猴存活32天，达到了国际领先水平。2022年10月，西京医院科研团队开展了国际首例六基因编辑猪-猴多器官、多组织同期联合移植获得成功，实现了国际异种移植领域多器官多组织移植零的突破。研究团队通过获取1头基因编辑猪的肝脏、心脏和肾脏3个脏器，以及角膜、皮肤和骨骼3个组织，分别为4只受体猴同期实施肝肾联合移植、心脏移植、角膜和皮肤移植、骨骼移植。截至目前，4只受体猴及移植器官、组织存活良好。

异种器官移植

向临床试验迈进，解决人体器官供应不足

未来，异种器官移植仍然有许多问题需要解决，比如免疫排斥、生物安全、跨种系适配和伦理问题。基因编辑猪目前部分解决了免疫排斥的问题，可延长受体的存活时间，但是并不能完全排除免疫排斥的问题。目前主要供体猪的体内带有18种人动物互传的微生物，而其中猪内源性逆转录病毒可产生严重的生物安全风险。此外，也不能排除异种器官中未知微生物会带来生物安全性问题。猪的器官在大小、解剖、生理功能与人体还是存在一定的差异，这种跨种系的差异可能会影响异种器官在受体体内的长期存活。异种器官移植涉及生命和人格尊严、社会公共安全等伦理问题，在异种器官移植过程中更需要加强伦理学的规范。

异种器官移植即将进入新时代。全球首例猪心脏异种移植临床试验的开展，为以后异种心脏移植到人体的长期存活提供了借鉴，也为将来其他器官移植到人体提供了经验与技术。相信未来将会有更多的异种器官移植临床研究在国内外开展，来共同推进异种器官移植进入临床应用。但对未来保持乐观的同时，同时还需要保持冷静和理智，解决好异种器官移植的难题，并处理好伦理问题。

CAR-NK细胞治疗

冉冉兴起的肿瘤细胞治疗新星，多个研发项目已进入临床阶段

自然杀伤细胞(Natural Killer Cell)，也被称作NK细胞，是机体重要的免疫细胞，是一类无需预先致敏就能直接识别细胞表面配体，从而非特异性杀伤肿瘤细胞和病毒感染细胞的淋巴细胞，被誉为人体抗癌的第一道防线。NK细胞具有细胞毒性效应，能自发杀伤肿瘤细胞和病原体，并参与机体的抗肿瘤免疫监视和免疫应答。自从20世纪70年代人们第一次观察到NK细胞的存在，就对这种免疫细胞的杀伤作用产生了极大的兴趣。

近些年，随着多款CAR-T细胞疗法获批上市，并在临床上取得了很好的效果，工程化的免疫细胞治疗越来越受到重视。虽然CAR-T细胞免疫治疗发展迅速，但仍有其局限性，例如自体T细胞来源有限，异体T细胞可能导致移植物抗宿主病，CAR-T细胞治疗可能会产生细胞因子释放综合征以及神经毒性等严重的副作用。而NK细胞具有更强的肿瘤细胞毒性，来源丰富，异体NK细胞通常不会引发宿主抗移植反应，仅分泌少量的细胞因子等优点，人们将工程化技术开始转移到NK细胞上。

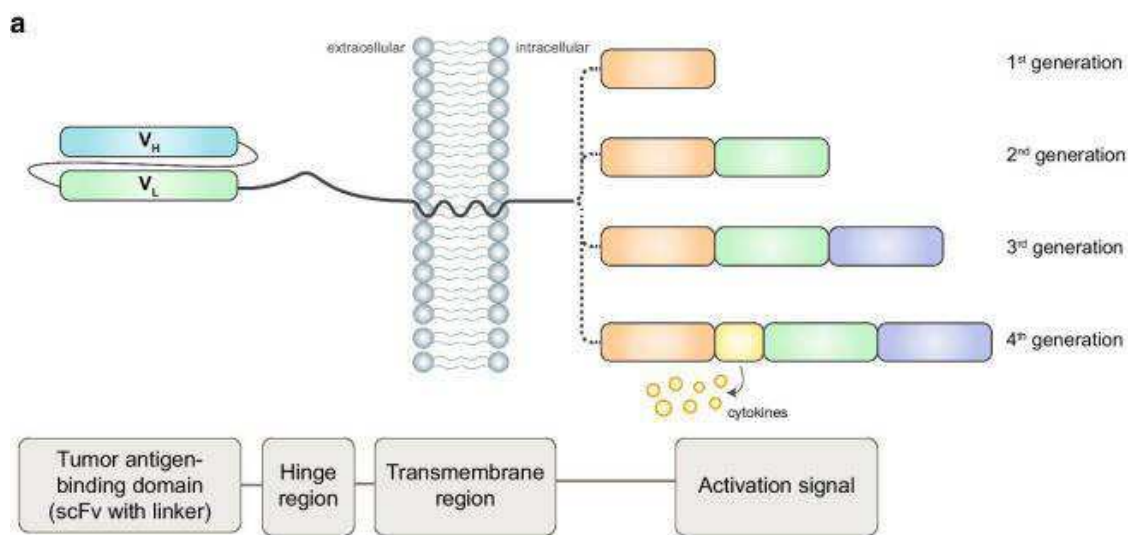


图5 | CAR构建模块示意图(来源: Journal of Hematology&Oncology)

CAR-NK细胞治疗

冉冉兴起的肿瘤细胞治疗新星，多个研发项目已进入临床阶段

CAR-NK细胞治疗是通过基因工程修饰，在NK细胞表面表达能够和肿瘤特定抗原结合的嵌合抗原受体(CAR)，通过基因工程改造后形成CAR-NK细胞。将细胞回输人体后，CAR-NK能够特异性识别带有特定抗原的肿瘤细胞，引发免疫反应从而达到清除肿瘤细胞的目的。功能性CAR分子由胞外细胞域、跨膜结构域和胞内信号结构域三个结构域组成。胞外细胞域包含单链可变片段(scFv)，通常来源于抗体，能够特异性识别癌细胞上表达的肿瘤抗原。跨膜结构域将CAR结构锚定在NK细胞膜上。一旦CAR识别并被其特异性抗原触发，CAR的胞内活化结构域就会发出信号，从而产生促进靶细胞杀伤的下游过程。

CAR结构的设计对于CAR-NK细胞的免疫治疗效果发挥着关键作用，因而有别于CAR-T细胞的设计，有着其特有的设计方法。胞外细胞域由短信号肽、scFv和铰链区组成。短信号肽将CAR结构引导至NK细胞膜上，常用的短信号肽为CD8a短信号肽。scFv是CAR的肿瘤抗原结合结构域，由拟治疗的肿瘤特异性抗原所决定。铰链区将scFv连接到跨膜结构域上，最常采用的为CD8 α 铰链区，其它的还有CD28、IgG Fc结构域和DAP12等。CAR-NK最常用的跨膜结构域改造于CD3 ζ 、CD8和CD28，另外，基于NKG2D、2B4和DNAM1的改造目前处于研究阶段。

胞内信号结构域的数量和组合方式决定着CAR-NK细胞未来的研究设计方向。胞内信号结构域是CAR结构设计重点，激活信号的多少决定了CAR的代次。第一代CAR-NK细胞与CAR-T细胞一样，只含有CD3 ζ 信号。第二代和第三代CAR分别携带2个和3个激活信号。第二代CAR中，CD3 ζ 被普遍用作主要的激活域，另外一个激活信号常被设计为CD28、CD137、2B4等。第三代CAR常见的胞内信号结构域为CD28-CD137-CD3 ζ 、CD137-2B4-CD3 ζ 。第四代CAR在第三代的基础上引入细胞因子，从而增强细胞的持久性和抗肿瘤活性。

CAR-NK细胞治疗

冉冉兴起的肿瘤细胞治疗新星，多个研发项目已进入临床阶段

由于同种异体NK细胞具有低GVHD风险的特性，决定了**NK细胞来源多样化**，可以从外周血(PB)、脐带血(UCB)、人类胚胎干细胞(HESC)、诱导多能干细胞(iPSC)甚至NK-92细胞系中产生。目前CAR-NK细胞临床试验多采用NK-92细胞系，因为该细胞系是一个均匀的细胞群，并且具有无限体外增殖能力。但是由于其来源于肿瘤细胞系，具有潜在的致癌风险，在人体输注前必须进行辐射处理。PB-NK表达大部分激活受体，细胞毒性强，是NK细胞的重要来源。由于具有无限增殖能力，HESC和iPSC也是CAR-NK细胞的重要来源。与分化的NK细胞相比，HESC和iPSC可以更稳定表达CAR。同时，需要关注HESC和iPSC来源的NK细胞成熟和伦理问题。

随着基因编辑技术的进步，**多种基因编辑技术被用于改造NK细胞来生产CAR-NK细胞**。慢病毒或逆转录病毒转导、裸质粒DNA转染、转座子介导的DNA整合、mRNA电穿孔以及CRISPR-Cas9基因敲入策略等基因编辑技术被用于CAR结构的导入。慢病毒和逆转录病毒转导是最常用的系统，但是如何在保持NK细胞良好活力的同时获得较高的病毒转导效率是CAR-NK细胞治疗的一个挑战。目前，解决该问题的思路是通过改变细胞的电荷或上调靶细胞受体的表达，从而提高病毒转导效率。

多个CAR-NK进入临床试验，新一代细胞免疫治疗新星在冉冉升起。据Patsnap新药情报库数据显示，目前有34项CAR-NK药物进入临床试验阶段，最快的已经进展到2期临床试验。另外还有77项CAR-NK处于临床前研究，为CAR-NK药物发展积蓄力量。从靶点看，研究处于前10的靶点分别是CD19、BCMA、CD33、GPC3、CD70、CD38、CD22、HER2、MSLN和KLRK1等。CAR-NK已经被用于治疗血液恶性肿瘤和多种实体瘤。目前根据已公布的临床数据看，CAR-NK细胞治疗显现出较好的临床疗效和安全性，没有出现细胞因子释放综合征和神经毒性。

CAR-NK细胞治疗

冉冉升起的肿瘤细胞治疗新星，多个研发项目已进入临床阶段

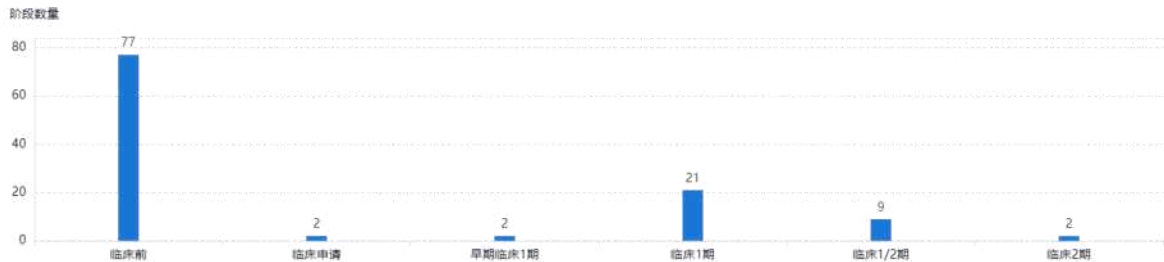


图6 | CAR-NK各研究阶段数量(来源: Patsnap新药情报库, DeepTech整理)

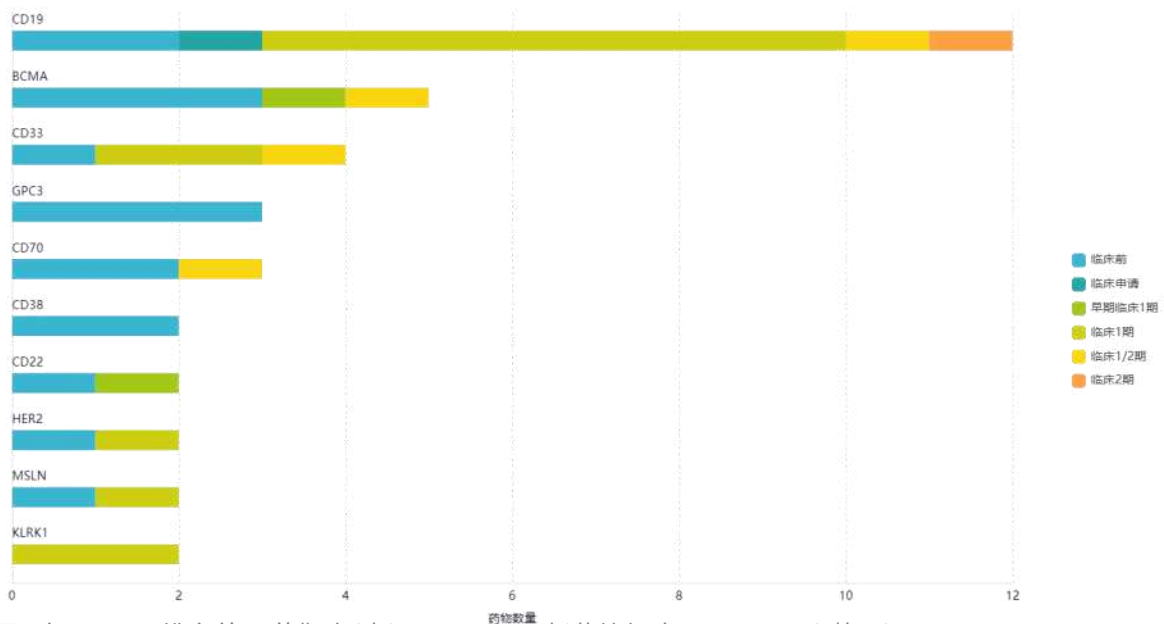


图7 | CAR-NK排名前10的靶点(来源: Patsnap新药情报库, DeepTech整理)

尽管最近取得了进展，**CAR-NK仍然面临着一些挑战**。这些挑战包括如何提高细胞增殖效率，更有效地激活细胞毒性；寻找最佳的CAR构建改造方法；CAR-NK细胞冻存解冻后细胞的存活率和细胞毒性可能降低的问题；抑制性的肿瘤微环境，包括肿瘤微环境中的免疫抑制分子、免疫抑制细胞和妨碍免疫细胞功能的不利环境等对CAR-NK的抑制作用等。对于CAR-NK细胞治疗的研究目前还处于临床前和临床阶段，相信未来随着研究的不断深入，基于NK细胞良好的抗肿瘤效果，CAR-NK细胞疗法也会展现出显著的临床效果，期待着CAR-NK这颗细胞治疗的新星冉冉升起。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/247122052033006045>