

神经系统变性疾病的治疗

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003504

肌萎缩侧索硬化的药物治疗进展

杨天米,商慧芳

(四川大学华西医院神经内科,成都 610041)

【摘要】肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种以上、下运动神经元选择性丢失为主要特征,进行性加重的神经系统变性疾病,目前尚无有效的治愈方法。随着ALS疾病机制和遗传学的研究深入,以及基因调控策略的创新,为ALS疗法开发创造了有希望的新选择。本文围绕反义寡核苷酸疗法、腺病毒相关病毒介导的基因治疗和细胞治疗在ALS中的研究进展进行综述。

【关键词】肌萎缩侧索硬化;药物治疗;基因治疗

【中图分类号】R741.05

【文献标志码】A

【收稿日期】2024-01-28

Advances in pharmacotherapy for amyotrophic lateral sclerosis

Yang Tianmi, Shang Huifang

(Department of Neurology, West China Hospital, Sichuan University)

【Abstract】 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease characterized by the selective loss of upper and lower motor neurons. Effective cures for this disease have not been available yet. However, promising options for the treatment of ALS have been approaching thanks to the growing understanding of ALS pathogenesis and genetics as well as the innovation of gene regulation strategies. This article provides a comprehensive review of advances on antisense oligonucleotide therapy, adeno-associated virus-mediated gene therapy, and cell therapy in ALS.

【Key words】 amyotrophic lateral sclerosis; pharmacotherapy; gene therapy

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS),俗称“渐冻症”,是一种罕见的好发于中老年的进行性神经系统变性疾病,全球标准化发病率约为每年 1.68/10 万人^[1]。ALS 主要累及大脑皮层、脑干和脊髓的上、下运动神经元,造成进行性肌肉无力和萎缩、构音障碍、吞咽困难,最终患者往往因呼吸困难而去世。ALS 发病原因和机制尚不完全清楚。尽管已经发现 40 余种与 ALS 发病相关的致病基因,但携带这些已知致病基因变异的病例仅占 ALS 患者整体的 5%~10%,超过 90% 的患者被归为散发性^[1]。一般认为,ALS 的发生并不是由单一独立的因素造成,而是在一定遗传背景和环境因素相互作用下,涉及兴奋性氨基酸毒性、线粒体功能异常、氧化应激、神经炎症、RNA 代谢缺陷、能量代谢异常、细胞骨架紊乱和蛋白质稳态异常等多种病理生理过程^[1-2]。

ALS 的治疗依然是一个具有挑战性的问题,尚无有效治疗方法,患者的生存时间通常仅为 3~5 年。目前,主要通过使用延缓病情进展的药物,并结合营养管理、呼吸支持、对症

作者介绍: 杨天米,Email:yangtianmi9@163.com,

研究方向: 神经遗传与变性疾病,主要关注肌萎缩侧索硬化的发病及进展机制。

通信作者: 商慧芳,Email:hfshang2002@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(编号:82371430);四川省“十四五”生命健康重大科技资助专项(编号:2022ZDZX0023)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240516.1116.044>
(2024-05-18)

和心理治疗等综合管理来尽可能延长患者的生存时间和提高生活质量。近年来,随着对 ALS 发病机制和遗传背景的深入研究以及多项临床试验的开展,药物治疗方面取得了一系列重要进展。本文将简要综述 ALS 药物治疗的研究进展。

1 传统治疗药物及其新剂型

1.1 利鲁唑和依达拉奉

利鲁唑(Riluzole)是首个美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗 ALS 的药物。其主要作用机制是通过抑制突触前膜释放谷氨酸并激活突触后膜谷氨酸受体,促进谷氨酸摄取,从而减少兴奋性毒性。临床试验显示,利鲁唑治疗可延缓病情发展,延长患者的中位生存时间^[3]。自 1995 年使用以来显示出对患者有潜在益处,但在伴有严重吞咽困难的患者中受到限制甚至可能带来呛咳相关的窒息风险。2023 年利鲁唑口服混悬液被纳入我国医保特殊药品,根据各地医保政策进行一定比例的报销,在保证利鲁唑疗效、保证患者用药安全的同时,减轻了患者经济负担。依达拉奉(Edaravone)是第 2 个获批用于治疗 ALS 的药物,主要作用机制是通过清除自由基,保护运动神经元免受自由基和氧化应激损害,延缓疾病进展^[4]。为解决依达拉奉静脉制剂不方便使用和用药周期复杂的问题,并探索长期用药的可能性,目前正在开展依达拉奉混悬液治疗 ALS 的真实世界研究临床试验(NCT04569084 和 NCT05151471)。此外,我国率先研制了依达拉奉舌下片,吸

收效果与静脉制剂有良好的拟合性,相较于静脉制剂更方便患者连续使用,能减少输液相关的不良反应。目前国内已获批上市的ALS治疗药物应用及注意事项见表1。

1.2 Relyvrio

Relyvrio是苯丁酸钠和牛磺酸二醇的复合制剂。其中,苯丁酸钠是组蛋白脱乙酰化酶抑制剂,该酶调节转录和蛋白聚集,具有内质网保护作用;牛磺酸二醇是1种胆汁酸,可以通过调节特定凋亡靶点的表达或线粒体膜稳定发挥抗凋亡作用,具有线粒体保护作用^[5-6]。这2种药物联合可以减轻内质网应激和线粒体功能障碍,降低神经元氧化损伤,从而减缓ALS病情进展和延长生存期^[5-8]。基于1项为期24周的Ⅱ期临床试验结果^[8],2022年FDA批准Relyvrio用于ALS治疗。2023年最新公布的基于人群的真实世界研究,亦发现接受高剂量牛磺熊去氧胆酸治疗的ALS患者存活时间更长^[9]。单独使用牛磺熊去氧胆酸(NCT03800524)或联合使用苯丁酸钠(NCT05021536)治疗ALS的Ⅲ期临床试验目前均正在开展。该药在我国经罕见病审批绿色通道获得批准,相关药物进口工作正在进行中。

1.3 甲钴胺和盐酸罗匹尼罗

2022年5月《JAMA神经病学杂志》发表了超高剂量甲钴胺治疗早期ALS的Ⅲ期临床试验,该研究纳入130例病程小于1年,入组前12周内ALSFRS-R评分下降1~2分的早期ALS患者,随机给予超高剂量甲钴胺(50 mg肌肉注射,每周2次)或安慰剂肌肉注射治疗16周^[10]。研究结果发现超高剂量甲钴胺组ALSFRS-R评分下降明显少于安慰剂组,分别为2.66分和4.63分($P=0.01$),提示超高剂量甲钴胺肌肉注射治疗早期ALS患者可以延缓神经功能恶化^[10]。目前该研究正在进行开放标签扩展研究,预计将于2024年3月结束。此外,盐酸罗匹尼罗治疗ALS的I/IIa期临床试验表明罗匹尼罗治疗ALS的安全性和潜在的治疗益处^[11]。在20例完成随机分组的ALS患者中,结合开放期试验数据分析发现罗匹尼罗治疗组的ALSFRS-R评分和日常体力活动功能下降较安慰剂对照组均更缓慢^[11]。研究者进一步从这20例受试者的

外周血单核细胞中建立诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells,iPSCs),并诱导分化为运动神经元,发现罗匹尼罗干预处理可能通过改善运动神经元的神经突长度以及下调胆固醇合成相关途径缓解ALS表型进展^[11]。

1.4 硝酮嗪和藿苓生肌颗粒

值得注意的是,在2021至2023年,我国自主研制的两款创新药物,硝酮嗪(ChiCTR2000039689)和藿苓生肌颗粒(ChiCTR2100044085),治疗ALS的Ⅱ期临床试验已完成。目前,已公布硝酮嗪治疗ALS的临床研究数据,共入组155例患者,在允许使用利鲁唑作为合并治疗的基础上,硝酮嗪治疗组与安慰剂组相比,尽管在治疗第180天时硝酮嗪治疗组未达到ALSFRS-R评分相对基线差值组间差异的主要终点,但在核心的次要终点指标中,硝酮嗪治疗延缓ALS患者握力下降($P=0.037$)。在年龄较小、疾病进展较慢的患者亚组中,硝酮嗪疗效更加明显,握力功能改善50%($P=0.011$)、延髓功能改善65%($P=0.040$)、呼吸功能改善86%($P=0.021$)。目前,硝酮嗪治疗ALS的Ⅲ期临床试验正在筹备中,以进一步确认疗效。

2 反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)疗法

ASO是人工合成的单链RNA或DNA,通常长度为12~30个核苷酸,能够按照碱基互补配对原则与靶RNA特异性结合,并通过多种机制调节蛋白质表达。ASO如何调节靶RNA取决于靶RNA的功能、ASO设计用于结合的位置以及化学结构特性。ASO疗法已广泛应用于多种遗传性疾病的治疗,同时也是治疗ALS的前沿疗法之一。目前全球范围内已进行了多项ASO用于治疗ALS的临床试验,主要靶向ALS的已知致病基因(SOD1、C9orf72和FUS)和具有疾病修饰作用的风险基因(ATXN2),以下将分别进行介绍。

2.1 靶向SOD1的ASO疗法

1993年,首次鉴定出与ALS相关的基因,即SOD1基因。

表1 已获批上市的ALS治疗药物应用及注意事项

药物名称及剂型	用法用量	疗程	常见不良反应	注意事项
利鲁唑片	50 mg,2次/d,在餐前1 h或餐后2 h服用	长期服用	疲劳、胃部不适、转氨酶水平升高	定期监测肝功能;已使用有创呼机辅助呼吸的晚期患者,不建议继续服用
利鲁唑口服混悬液	10 mL,2次/d,在餐前1 h或餐后2 h服用	长期服用	疲劳、胃部不适、转氨酶水平升高	定期监测肝功能;已使用有创呼机辅助呼吸的晚期患者,不建议继续服用
依达拉奉注射液	60 mg依达拉奉,100 mL生理盐水稀释,60 min内静脉滴注,1次/d	给药期与停药期组合28 d为1个周期,共6个周期(第1周期连续给药14 d,停药14 d;第2周期起14 d内给药10 d(5 d/周);之后停药14 d,以此重复(第2~6周期)	转氨酶水平升高、皮疹	建议在医院输注;定期监测肝功能
依达拉奉舌下片	60 mg,1次/d,舌下含服	同依达拉奉注射液	转氨酶水平升高、皮疹	定期监测肝功能
苯丁酸钠和牛磺酸二醇口服混悬液	1包(3 g苯丁酸钠和1 g牛磺酸二醇)/次,前3周,1次/d;此后,2次/d	长期服用	腹泻、腹痛、恶心	定期监测肝功能

SOD1 基因变异占家族性 ALS 的 10%~14%，占散发性 ALS 的 1%~2%，携带 SOD1 变异的 ALS 患者通常表现出常染色体显性遗传模式^[12~14]。迄今为止，在 ALS 患者中已鉴定出 SOD1 基因上的 200 余种变异，其中大多数是错义突变。携带 SOD1 基因变异的 ALS 患者，其疾病严重程度和生存时间在很大程度上取决于变异位点，其中一些位点与疾病缓慢进展相关，而另一些变异与疾病快速进展相关^[15]。

2006 年，Miller 及其同事首次提出采用 ASO 疗法降低大鼠神经系统中 SOD1 水平的治疗策略。通过对携带人源 SOD1 基因变异的症状前期 SOD1^{G93A} 大鼠，进行脑室内注射靶向人源 SOD1 基因的 ASO，可将大鼠的生存期从 122 d 延长至 132 d^[16]。这一来自动物实验的结果推动了首个在 SOD1-ALS 患者开展 ASO (ISIS 333611) 疗法的 I 期临床试验 (NCT01041222)，单次鞘内注射 ISIS 333611 的耐受性良好，没有发生严重不良事件，但在所使用的低剂量下，治疗患者脑脊液中的 SOD1 蛋白没有明显降低^[17]。Ionis 公司停止了对这种 ASO 的测试，并转向使用更新一代的 ASO，名为 Tofersen (BIIB067)，这种 ASO 主要通过诱导 RNase H 酶介导 SOD1 mRNA 降解来减少 SOD1 蛋白合成。在对 SOD1^{G93A} 大鼠和 SOD1^{G93A} 小鼠进行的临床前研究中，发现经 Tofersen 治疗后，SOD1^{G93A} 小鼠的中位发病时间延迟了 43 d，生存期从 168 d 增加到 205 d，SOD1^{G93A} 大鼠生存时间延长 64 d^[18]。此后，Tofersen 治疗 ALS 的 I / II 期临床试验 (NCT02623699) 在 SOD1-ALS 患者中开展^[19]。患者在 12 周内接受了 5 次鞘内注射 Tofersen，不同的治疗组每次注射剂量分别为 20、40、60、100 mg。药物安全性和药代动力学分析表明，不良反应多数与腰穿相关，如头痛和腰穿后综合征，总体而言，鞘内注射 Tofersen 的耐受性良好，可明显降低 SOD1-ALS 患者脑脊液中 SOD1 蛋白水平^[19]。因此，开展了 Tofersen 治疗 SOD1-ALS 患者的 III 期临床试验，进一步评价其临床疗效及安全性，试验数据以及结果于 2022 年发表在《新英格兰医学杂志》^[20]。这项试验共纳入 108 例 SOD1-ALS 患者，覆盖 42 种 SOD1 突变类型，包括 60 例快速进展患者和 48 例非快速进展患者。在这些患者中，72 例被随机分配到 Tofersen 治疗组，其余 36 例被分配到安慰剂对照组。尽管在治疗 24 周后未达到主要终点，即 Tofersen 治疗组和安慰剂对照组从基线到治疗 24 周时的 ALSFRS-R 评分变化差异无统计学意义 ($P=0.970$)，尽管多个次要终点和开放期结果均显示疾病进展减缓^[20]。具体而言，在快速进展亚组中，脑脊液中 SOD1 蛋白总浓度和血浆中神经丝轻链 (neurofilament light, NFL) 浓度在 Tofersen 治疗组中的下降幅度更大，而缓慢肺活量和手持式握力计测试值在 Tofersen 治疗组中的下降幅度更小^[20]。后续共有 95 例患者进入开放期阶段。结合开放期数据 (截至到第 52 周) 分析，在早期开始 Tofersen 治疗的受试者中观察到，脑脊液 SOD1 蛋白总浓度和血浆 NFL 浓度随时间持续降低；并且 ALSFRS-R 评分、缓慢肺活量和手持式握力计测试值的下降幅度更小^[20]。对携带 SOD1 突变基因的高危人群早期启动治疗成为进一步确认 Tofersen 疗效的关注焦点。目前正在进行 1 项新的 III 期临床试验 (NCT04856982)，该试验将针对无症状的 SOD1 基因突变携带者开展自然病程观察，并通过持续监测 NFL 浓度变化和肌电图来确定启动 Tofersen 治疗的时机，治疗方案为在第 1 天、第 15 天和第 29 天进行腰椎穿刺注射 100 mg Tofersen，之后每 28 天注射 1 次，最长治疗时间

为 2 年，计划于 2027 年完成。该试验有望为确定启动治疗的最佳时机提供重要参考，并将进一步提供 Tofersen 的疗效证据。

2.2 靶向 C9orf72 的 ASO

2011 年，研究发现 C9orf72 基因 1 号内含子中 GGGGCC 六核苷酸重复扩增是 ALS 的最常见致病变异，约占家族性 ALS 的 40% 和散发性 ALS 的 5%~6%，同时也是额颞叶痴呆的最常见遗传原因^[21~22]。然而因种族差异性，该基因变异在亚洲人群不常见^[14,23]。在健康人中，GGGGCC 重复次数通常不超过 24 次，但在 ALS 患者中，重复次数可高达数千次不等^[21~22]。目前认为，C9orf72 基因重复扩增导致 ALS 的机制主要包括：①重复突变产生 RNA 聚集体干扰细胞内正常的 RNA 代谢；②重复突变基因序列的翻译产物 (二肽重复蛋白) 聚集介导的细胞毒性；③影响 C9orf72 蛋白的正常表达^[24]。

在发现 C9orf72 基因变异是 ALS 的常见遗传原因后，很快就开展了多项靶向 C9orf72 的 ASO 临床前研究和临床试验。来自 iPSCs、携带 C9orf72 基因变异 ALS 患者来源的成纤维细胞以及小鼠模型研究证据支持靶向 C9orf72 的 ASO 能够减轻六核苷酸重复扩增相关的毒性，包括 RNA 聚集物沉积以及二肽重复蛋白聚集^[25~28]。2018 年，Ionis 和 Biogen 启动了第一个靶向 C9orf72 的 ASO (BIIB078) I 期临床试验 (NCT03626012)，主要目的是评估鞘内注射 BIIB078 在 C9orf72-ALS 患者中的安全性和耐受性，次要目的包括评估 BIIB078 的药代动力学特征及其对 ALS 临床功能相关指标的影响^[29]。遗憾的是，这个试验结果，发现尽管在 60 mg 的 BIIB078 治疗组中耐受性良好，但未达到任何次要疗效终点，并且与安慰剂组相比没有显示出临床益处，甚至在 90 mg 治疗组中次要终点的下降趋势较安慰剂组更明显。基于这些结果，终止了 BIIB078 的临床开发计划，亦停止了正在进行的开放期研究。另一种靶向 C9orf72 的 ASO，名为 WVE-004，其 I b / II a 期试验 (NCT04931862) 共招募 35 例 C9orf72-ALS 患者，根据 2023 年 5 月发布的最新结果^[30]，发现尽管鞘内注射 WVE-004 可以使二肽重复蛋白持续降低，但在治疗 24 周时没有观察到临床益处，并且二肽重复蛋白降低与患者临床功能下降之间无关联，因此，已终止临床开发。

2.3 靶向 FUS 的 ASO

2009 年，发现 FUS 基因变异是 ALS 的致病原因，约占家族性病例的 3% 和散发性病例的 0.4%，通常为常染色体显性遗传模式，并且多数致病性 FUS 变异与早发 ALS 相关^[14,31~32]。FUS 是一种广泛表达的 RNA 结合蛋白，主要位于细胞核中，参与 DNA 修复和 RNA 代谢^[33]。迄今为止，在 ALS 患者中已鉴定出 100 多种致病性 FUS 变异，其中多数是错义突变，且致病性突变主要位于编码蛋白质 C 端区域，包含核定位信号结构域的第 15 号外显子，这些突变破坏了核定位信号，导致 FUS 蛋白错误定位到细胞质^[34~35]。FUS-ALS 患者尸检研究观察到 FUS 蛋白在运动神经元和胶质细胞胞质内异常聚集，TDP-43 病理阴性^[31]。尽管这些致病性突变对蛋白质功能及其影响尚未明确，目前研究发现 FUS 基因纯合子敲除小鼠并没有出现 ALS 类似表型^[36]，而过表达野生型 FUS 的转基因小鼠却被发现运动神经元进行性丧失，并由 FUS 和其他 RNA 结合蛋白组成的胞内聚集体形成^[37]。这些证据强调获得性毒性机制在 FUS-ALS 中的作用，因此，降低 FUS 表达的 ASO

疗法可能对 FUS-ALS 患者有益。

对 *FUS* 基因突变小鼠进行脑室内注射靶向 *FUS* 基因的 ASO (ION363), 在注射 1 个月内, 大脑和脊髓中突变型以及野生型 *FUS* 表达均降低达 20%~50%, 还观察到 ION363 降低了不溶性 *FUS* 聚集物, 并减缓运动神经元变性以及神经肌肉接头丢失^[38]。这个阳性结果推动了 ION363 的临床试验, FDA 批准了 1 例 *FUS*-ALS 患者使用 ION363 的同情用药申请^[38]。该被试者在发病 6 个月后启动治疗, 此时病情已进展到中晚期, 不能行走且需要呼吸支持^[38]。他在 10 个月内共接受 12 次 ION363 鞘内注射, 与治疗前相比, 治疗过程中的 ALSFRS-R 评分下降速度明显减缓, 治疗耐受性良好, 没有发生严重不良事件, 遗憾的是, 患者在治疗近 1 年后因呼吸和延髓功能恶化去世^[38]。尸检研究显示, ION363 在该患者的整个中枢神经系统中广泛分布, 大脑中的总 *FUS* 蛋白和突变 *FUS* 蛋白均明显减少, *FUS* 病理聚集体也明显减少^[38]。基于支持 ION363 降低 *FUS* 水平和减缓疾病进展的初步证据, 后续有十几位携带 *FUS* 致病变异的无症状或已发病的 ALS 个体也通过同情用药申请接受了 ION363 治疗。1 项评估 ION363 在 *FUS*-ALS 患者中疗效、安全性和药理学的 I~III 期临床试验 (NCT04768972) 已于 2021 年启动, 预计于 2028 年完成。计划招募 77 例受试者, 按 2:1 随机分配到为期 60 周的 ION363 治疗组或安慰剂对照组, 随后是长达 80 周的开放期, 在开放期, 所有受试者均进行 ION363 治疗。主要终点是 ALSFRS-R 评分变化, 次要终点包括肌力、肺功能、生存率以及脑脊液中 *FUS* 蛋白和 NFL 浓度变化。

2.4 靶向 *ATXN2* 基因的 ASO

ATXN2 基因 1 号外显子中通常有 22 或 23 个 CAG 重复, 当重复次数超过 34 次时会导致 2 型脊髓小脑共济失调, 中等长度的 CAG 扩增(尤其是重复次数在 27~33)是 ALS 的已知风险因素^[39~41]。在酵母、果蝇中的前期研究证据表明 *ATXN2* 是 TDP-43 毒性的有效调节剂, 具有疾病修饰作用^[39]; 越来越多的证据支持 *ATXN2* 主要通过调节应激颗粒组装影响 TDP-43 聚集形成过程^[42]; 进一步发现对 TDP-43 小鼠模型敲除 *ATXN2* 或使用 ASO 方法降低 *ATXN2* 表达水平, 可以明显延长小鼠生存时间, 缓解疾病进展^[42]。这些结果支持 *ATXN2* 是 ALS 的疾病修饰治疗靶点, 这对 ALS 治疗意义重大, 尤其是对散发性患者, 因为 TDP-43 的核内耗竭、胞质错误定位和病理性聚集是超过 95% ALS 病例的核心病理特征。

靶向 *ATXN2* 治疗 ALS 的 ASO (BIIB105) I 期临床试验 (NCT04494256) 已于 2020 年启动, 目前已完成患者招募(共 99 例, *SOD1* 或 *FUS* 基因变异相关的 ALS 家族史阴性), 将于 2026 年完成试验。该试验的主要设计方案为: 试验前 6 个月为随机对照阶段, 按照 3:1 或 2:1 随机分配到 BIIB105 治疗组或安慰剂对照组; 后续进入为期 3 年的开放期。旨在评估 BIIB105 鞘内注射治疗 ALS 的安全性、耐受性、药代动力学、药效学以及对疾病进展的影响。

2.5 ASO 治疗 ALS 的局限性和未来展望

ASO 疗法治疗 ALS 的局限性主要来自 3 方面: 疾病本身的特性, ASO 药物的药代动力学和药效学特性, 以及 ASO 潜在的靶向和非靶向毒性。就 ALS 而言, 散发性患者占大多数, 且临床表现异质性大, 而家族性患者中的已知致病基因及变异种类复杂。这给 ASO 疗法应用带来的挑战主要包括: 适用患者群体的筛选、启动治疗的时机选择, 以及治疗疗

效的评估。关于 ASO 药代动力学和药效学, ASO 具有分布广泛、半衰期长、特异性调节基因表达等优势。然而, 脑脊液和组织水平之间相关性的数据有限, ASO 在人体内传递和代谢的细节有待明确。潜在的毒性也可能限制 ASO 应用, 其中, 与降低目标基因产物水平相关的靶向毒性可能引入一些未知的不良反应, 而免疫系统激活相关的非靶向毒性也是长期使用 ASO 治疗需要关注的。

随着 ASO 类药物治疗 ALS 系列试验推进和证据积累、分子生物学以及生物化学技术创新, 以及对 ASL 病理生理机制研究深入, 靶向 *SOD1*、*C9orf72*、*FUS* 和 *ATXN2* 基因的 ASO 药物设计也将不断优化, 为 ALS 患者提供更有效、安全的治疗选择。此外, 靶向新基因的 ASO 药物开发流程将更简化可行。

3 腺病毒相关病毒介导的基因治疗

腺病毒相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 是一类非致病的小型病毒, 通常被认为是较为安全的病毒载体之一。AAV 主要通过调节异常基因表达、修复特定基因缺陷或递送神经营养相关基因, 为 ALS 治疗提供新途径, 目前主要处于临床前研究和早期的临床研究阶段。对新生 *SOD1*^{G93A} 小鼠和 *SOD1*^{G37R} 小鼠进行侧脑室注射 AAV9-shRNA-SOD1, 均发现可有效降低突变型 *SOD1* 基因表达, 并明显改善小鼠的疾病表型, 包括延迟发病时间、发病后延缓疾病进展并长期保留运动功能, 延长生存时间^[43~44]。有 2 例家族性 SOD1-ALS 患者接受了单次鞘内注射 AAV-microRNA-SOD1 治疗, 其中患者一的尸检分析中发现脊髓组织 *SOD1* 水平低于未经治疗的 SOD1-ALS 患者, 患者二的 ALSFRS-R 评分和肺活量在 12 个月内保持相对稳定^[45]。这项研究表明, 鞘内注射 microRNA 可用作 SOD1-ALS 患者的潜在治疗方法^[45]。由清华大学贾怡昌实验室团队自主研制的 SNUG01 是 1 款以 AAV 为载体, 靶向 SG001 的基因治疗药物。首例同情给药支持 SNUG01 的安全性及潜在的神经保护疗效^[46], 评估 SNUG01 单次鞘内注射治疗 ALS 患者的单臂、开放探索性临床研究已于 2023 年 9 月在北京大学第三医院启动, 目前正在患者招募阶段^[47]。另外, 使用 AAV 作为载体递送靶向调节 TDP-43 或 *C9orf72* 基因表达的小鼠模型研究也提示, AAV 可以减轻 ALS 病理特征和疾病表型^[48~50]。动物模型研究支持 AAV 介导的神经营养因子和生长因子递送有望通过促进神经保护机制治疗 ALS^[51~53]。

AAV 介导的基因治疗的主要优势包括长期调节基因表达、有效的基因传递以及较低的免疫反应, 而基因装载容量受限、细胞选择性受限和需要克服血脑屏障是目前面临的主要挑战。

4 细胞治疗

细胞治疗通常涉及使用患者自身的细胞或经过加工的细胞, 以修复、替代或增强受损或功能受限的组织或器官, 从而治疗或缓解疾病症状。NurOwn 是 1 种在体外定向分化出能分泌神经营养因子的自体骨髓来源的间充质干细胞。NurOwn 治疗 ALS 的 II 期临床试验 (NCT02017912) 表明其安全性, 并显示出潜在疗效^[54], 但后续的 III 期临床试验

(NCT03280056)在主要和次要终点上均未达到统计学意义。虽然事后分析提示 NurOwn 可能在病情较轻的 ALS 患者中有一定疗效,但是 FDA 认为其有效证据不足,拒绝了 NurOwn 的上市申请。根据最新发布的鞘内注射人类胚胎干细胞来源的星形胶质细胞(AstroRx)治疗 ALS 的 I / II a 期临床试验(NCT03482050)结果,支持该疗法的安全性好,且 ALSFRS-R 评分的下降速度在接受 AstroRx 治疗后减慢^[55]。此外,鞘内注射自体骨髓间充质干细胞(Lenzumestrcel)治疗 ALS 的 III 期临床试验(NCT04745299)正在进行中,以明确鞘内注射 lenzumestrcel 治疗 ALS 的长期生存益处^[56-57]。

多能干细胞具有分化为多种细胞类型的能力,为修复多种类型的损伤提供了可能性,但植入的细胞可能受到宿主环境的不利影响,影响细胞存活和稳定性;不同患者对细胞治疗的反应可能存在差异,使治疗效果难以预测。另外,还存在异体免疫排异和恶性转化等风险。

5 结语

综上所述,ALS 的药物治疗在近年来取得诸多进展。我国已批准 2 款传统治疗药物的新剂型,包括利鲁唑口服混悬液和依达拉奉舌下片,以及新型药物 Relyvrio。ASO 疗法正在成为 ALS 患者有前景的治疗方式,同时,腺病毒相关病毒介导的基因治疗和细胞治疗也在不断探索和发展中。随着更多研究深入,相信将有更多创新性药物和治疗方式为 ALS 患者带来福音。

参 考 文 献

- [1] Feldman EL, Goutman SA, Petri S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis[J]. Lancet, 2022, 400(10360):1363-1380.
- [2] Todd TW, Petrucci L. Amyotrophic lateral sclerosis—insight into susceptibility[J]. Nat Rev Neurol, 2022, 18:189-190.
- [3] Bensimon G, LaComblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group[J]. N Engl J Med, 1994, 330(9):585-591.
- [4] Writing Group, Edaravone ALS Study Group. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet Neurol, 2017, 16(7):505-512.
- [5] Khalaf K, Tornese P, Cocco A, et al. Tauroursodeoxycholic acid: a potential therapeutic tool in neurodegenerative diseases[J]. Transl Neurodegener, 2022, 11(1):33.
- [6] Fels JA, Dash J, Leslie K, et al. Effects of PB-TURSO on the transcriptional and metabolic landscape of sporadic ALS fibroblasts[J]. Ann Clin Transl Neurol, 2022, 9(10):1551-1564.
- [7] Elia AE, Lalli S, Monsurrò MR, et al. Tauroursodeoxycholic acid in the treatment of patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. Eur J Neurol, 2016, 23(1):45-52.
- [8] Paganoni S, Macklin EA, Hendrix S, et al. Trial of sodium phenylbutyrate-taurursodiol for amyotrophic lateral sclerosis[J]. N Engl J Med, 2020, 383(10):919-930.
- [9] Zucchi E, Musazzi UM, Fedele G, et al. Effect of tauroursodeoxycholic acid on survival and safety in amyotrophic lateral sclerosis: a retrospective population-based cohort study[J]. EClinicalMedicine, 2023, 65:102256.
- [10] Oki R, Izumi Y, Fujita K, et al. Efficacy and safety of ultrahigh-dose methylcobalamin in early-stage amyotrophic lateral sclerosis: a randomized clinical trial[J]. JAMA Neurol, 2022, 79(6):575-583.
- [11] Morimoto S, Takahashi S, Ito D, et al. Phase 1/2a clinical trial in ALS with ropinirole, a drug candidate identified by iPSC drug discovery [J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(6):766-780.
- [12] Bernard E, Pegat A, Svahn J, et al. Clinical and molecular landscape of ALS patients with SOD1 mutations: novel pathogenic variants and novel phenotypes. A single ALS center study[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18):6807.
- [13] Wei QQ, Zhou QQ, Chen YP, et al. Analysis of SOD1 mutations in a Chinese population with amyotrophic lateral sclerosis: a case-control study and literature review[J]. Sci Rep, 2017, 7:44606.
- [14] Chen YP, Yu SH, Wei QQ, et al. Role of genetics in amyotrophic lateral sclerosis: a large cohort study in Chinese mainland population[J]. J Med Genet, 2022, 59(9):840-849.
- [15] Yamashita S, Ando Y. Genotype-phenotype relationship in hereditary amyotrophic lateral sclerosis[J]. Transl Neurodegener, 2015, 4:13.
- [16] Smith RA, Miller TM, Yamanaka K, et al. Antisense oligonucleotide therapy for neurodegenerative disease[J]. J Clin Invest, 2006, 116(8):2290-2296.
- [17] Miller TM, Pestronk A, David W, et al. An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study[J]. Lancet Neurol, 2013, 12(5):435-442.
- [18] McCampbell A, Cole T, Wegener AJ, et al. Antisense oligonucleotides extend survival and reverse decrement in muscle response in ALS models[J]. J Clin Invest, 2018, 128(8):3558-3567.
- [19] Miller T, Cudkowicz M, Shaw PJ, et al. Phase 1-2 trial of antisense oligonucleotide tofersen for SOD1 ALS[J]. N Engl J Med, 2020, 383(2):109-119.
- [20] Miller TM, Cudkowicz ME, Genge A, et al. Trial of antisense oligonucleotide tofersen for SOD1 ALS[J]. N Engl J Med, 2022, 387(12):1099-1110.
- [21] DeJesus-Hernandez M, MacKenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS[J]. Neuron, 2011, 72(2):245-256.
- [22] Majounie E, Renton AE, Mok K, et al. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study[J]. Lancet Neurol, 2012, 11(4):323-330.
- [23] Chen YP, Lin ZQ, Chen XP, et al. Large C9orf72 repeat expansions are seen in Chinese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis[J]. Neurobiol Aging, 2016, 38:217.
- [24] Pang WL, Hu FH. Cellular and physiological functions of C9ORF72 and implications for ALS/FTD[J]. J Neurochem, 2021, 157(3):334-350.
- [25] Sareen D, O'Rourke JG, Meera P, et al. Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(208):208ra149.
- [26] Donnelly CJ, Zhang PW, Pham JT, et al. RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention[J]. Neuron, 2013, 80(2):415-428.
- [27] O'Rourke JG, Bogdanik L, Muhammad AKMG, et al. C9orf72 BAC transgenic mice display typical pathologic features of ALS/FTD[J]. Neuron, 2015, 88(5):892-901.
- [28] Lagier-Tourenne C, Baughn M, Rigo F, et al. Targeted degrada-

- tion of sense and antisense C9orf72 RNA foci as therapy for ALS and frontotemporal degeneration[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(47): E4530–E4539.
- [29] Biogen and Ionis Announce Topline Phase 1 Study Results of Investigational Drug in C9orf72 Amyotrophic Lateral Sclerosis[EB/OL]. (2022-03-28)[2024-01-27]. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-and-ionis-announce-topline-phase-1-study-results>.
- [30] Wave Life Sciences Announces Topline Results from Phase 1b/2a FOCUS-C9 Study of WVE-004 for C9orf72-associated Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia[EB/OL]. (2023-05-23)[2024-01-27]. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-and-ionis-announce-topline-phase-1-study-results> <https://ir.wavelifesciences.com/news-releases/news-release-details/wave-life-sciences-announces-topline-results-phase-1b2a-focus-c9>.
- [31] Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6[J]. Science, 2009, 323(5918): 1208–1211.
- [32] Wu Y, Li CY, Yang TM, et al. A case of juvenile-onset amyotrophic lateral sclerosis with a *de novo* frameshift FUS gene mutation presenting with bilateral abducens palsy[J]. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener, 2022, 23(3/4): 313–314.
- [33] Buratti E. Trends in understanding the pathological roles of TDP-43 and FUS proteins[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1281: 243–267.
- [34] Tyzack GE, Luisier R, Taha DM, et al. Widespread FUS mislocalization is a molecular hallmark of amyotrophic lateral sclerosis[J]. Brain, 2019, 142(9): 2572–2580.
- [35] Notaro A, Messina A, la Bella V. A deletion of the nuclear localization signal domain in the fus protein induces stable post-stress cytoplasmic inclusions in SH-SY5Y cells[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 759659.
- [36] Kino Y, Washizu C, Kurosawa M, et al. FUS/TLS deficiency causes behavioral and pathological abnormalities distinct from amyotrophic lateral sclerosis[J]. Acta Neuropathol Commun, 2015, 3: 24.
- [37] Sharma A, Lyashchenko AK, Lu L, et al. ALS-associated mutant FUS induces selective motor neuron degeneration through toxic gain of function[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10465.
- [38] Korobeynikov VA, Lyashchenko AK, Blanco-Redondo B, et al. Antisense oligonucleotide silencing of FUS expression as a therapeutic approach in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Nat Med, 2022, 28 (1) : 104–116.
- [39] Elden AC, Kim HJ, Hart MP, et al. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS[J]. Nature, 2010, 466(7310): 1069–1075.
- [40] Glass JD, Dewan R, Ding JH, et al. ATXN2 intermediate expansions in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Brain, 2022, 145 (8) : 2671–2676.
- [41] Chen YP, Huang R, Yang Y, et al. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine: a possible risk factor for Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. Neurobiol Aging, 2011, 32 (10) : 1925.e1–1925.e5.
- [42] Becker LA, Huang B, Bieri G, et al. Therapeutic reduction of ataxin-2 extends lifespan and reduces pathology in TDP-43 mice[J]. Nature, 2017, 544(7650): 367–371.
- [43] Iannitti T, Scarrott JM, Likhite S, et al. Translating SOD1 gene silencing toward the clinic: a highly efficacious, off-target-free, and biomarker-supported strategy for fALS[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 12: 75–88.
- [44] Bravo-Hernandez M, Tadokoro T, Navarro MR, et al. Spinal subpial delivery of AAV9 enables widespread gene silencing and blocks motoneuron degeneration in ALS[J]. Nat Med, 2020, 26(1): 118–130.
- [45] Mueller C, Berry JD, McKenna-Yasek DM, et al. SOD1 suppression with adeno-associated virus and microRNA in familial ALS[J]. N Engl J Med, 2020, 383(2): 151–158.
- [46] 神济昌华成功完成国内首例渐冻症患者 AAV 基因治疗及 3 个月随访[EB/OL]. (2023-09-11)[2024-01-27]. <https://www.sineugene.com/cn/ndetail/35.html>.
- Shenji Changhua successfully completed AAV gene therapy for the first patient with ALS in China and followed up for 3 months[EB/OL]. (2023-09-11)[2024-01-27]. <https://www.sineugene.com/cn/ndetail/35.html>.
- [47] 神济昌华 SNUG01 临床研究在北医三院正式启动[EB/OL]. (2023-09-22)[2024-01-27]. <https://www.sineugene.com/cn/ndetail/37.html>.
- The clinical study of Shenji Changhua SNUG01 has been officially launched at Peking University Third Hospital[EB/OL]. (2023-09-22)[2024-01-27]. <https://www.sineugene.com/cn/ndetail/37.html>.
- [48] Pozzi S, Thammisetty SS, Codron P, et al. Virus-mediated delivery of antibody targeting TAR DNA-binding protein-43 mitigates associated neuropathology[J]. J Clin Invest, 2019, 129(4): 1581–1595.
- [49] Martier R, Liefhebber JM, Miniarikova J, et al. Artificial microRNAs targeting C9orf72 can reduce accumulation of intra-nuclear transcripts in ALS and FTD patients[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2019, 14: 593–608.
- [50] Martier R, Liefhebber JM, García-Osta A, et al. Targeting RNA-mediated toxicity in C9orf72 ALS and/or FTD by RNAi-based gene therapy[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2019, 16: 26–37.
- [51] Lin HQ, Hu HJ, Duan WS, et al. Intramuscular delivery of scAAV9-hIGF1 prolongs survival in the hSOD1^{G93A} ALS mouse model via upregulation of D-amino acid oxidase[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55 (1): 682–695.
- [52] Thomsen GM, Alkasasi M, Vit JP, et al. Systemic injection of AAV9-GDNF provides modest functional improvements in the SOD1^{G93A} ALS rat but has adverse side effects[J]. Gene Ther, 2017, 24 (4): 245–252.
- [53] Mòdol-Caballero G, García-Lareu B, Herrando-Grabulosa M, et al. Specific expression of glial-derived neurotrophic factor in muscles as gene therapy strategy for amyotrophic lateral sclerosis[J]. Neurotherapeutics, 2021, 18(2): 1113–1126.
- [54] Berry JD, Cudkowicz ME, Windebank AJ, et al. NurOwn, phase 2, randomized, clinical trial in patients with ALS: safety, clinical, and biomarker results[J]. Neurology, 2019, 93(24): e2294–e2305.
- [55] Gotkine M, Caraco Y, Lerner Y, et al. Safety and efficacy of first-in-man intrathecal injection of human astrocytes (AstroRx[®]) in ALS patients: phase I/II a clinical trial results[J]. J Transl Med, 2023, 21 (1): 122.
- [56] Nam JY, Lee TY, Kim K, et al. Efficacy and safety of Len-zumestrol (Neuronata-R[®] inj.) in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALSUMMIT study): study protocol for a multicentre, randomized, double-blind, parallel-group, sham procedure-controlled, phase III trial[J]. Trials, 2022, 23(1): 415.
- [57] Nam JY, Chun S, Lee TY, et al. Long-term survival benefits of intrathecal autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells (Neuronata-R[®]; lenzumestrol) treatment in ALS: propensity-score-matched control, surveillance study[J]. Front Aging Neurosci, 2023, 15: 1148444.

(责任编辑:曾玲)