

## 运动障碍性疾病的治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003503

## 亨廷顿病基因治疗的进展

裴 中<sup>1</sup>, 吴腾腾<sup>2</sup>

(1. 中山大学附属第一医院神经科, 广州 510080; 2. 广州医科大学附属第一医院神经内科, 广州 510080)

**【摘要】**亨廷顿病是一种常染色体显性遗传病, 近年来多项针对 mRNA 水平的干预策略相继开展临床试验, 同时随着聚集的规律性间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspersed short palindromic repeats, CRISPR)/CRISPR 关联基因 (CRISPR associated gene, Cas) 系统的日渐成熟, 针对致病基因组的基因编辑策略也屡有报道。本文将围绕亨廷顿病基因治疗的临床现状、研究进展、临床评估的改进做简要综述。

**【关键词】**亨廷顿病; 基因治疗; 反义寡核苷酸; 基因编辑

**【中图分类号】**R745

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2024-01-26

## Advancements in gene therapy for Huntington's disease

Pei Zhong<sup>1</sup>, Wu Tengting<sup>2</sup>

(1. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University; 2. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University)

**【Abstract】**Huntington's disease is an autosomal dominant genetic disease. In recent years, clinical trials have been conducted for various intervention strategies targeting mRNA levels, and meanwhile, with the development of the clustered regularly interspersed short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated genes system, there are also reports on gene editing strategies for pathogenic genomes. This article reviews the gene therapy for Huntington's disease in terms of current clinical status, research advances, and improvements in clinical assessment.

**【Key words】**Huntington's disease; gene therapy; antisense oligonucleotide; gene editing

亨廷顿病 (Huntington's disease, HD) 是一种以舞蹈样动作、智力减退和精神行为异常为主要临床表现的中年起病且逐渐进展的常染色体显性遗传病<sup>[1]</sup>。该疾病的致病突变是 4 号染色体上亨廷顿基因 (Huntingtin, HTT) 第一号外显子 CAG 三联密码子重复序列的异常扩增 (CAG>40)。CAG 密码子编码谷氨酰胺, 野生型亨廷顿蛋白含有一定长度的多聚谷氨酰胺, 其本身并不具有毒性。CAG 重复序列异常扩增

导致 HTT 编码的突变 HTT 蛋白 (mutant HTT, mHTT) 中多聚谷氨酰胺长度超过一定限度, 使其倾向于形成聚集体, 最终在细胞核内聚集成包涵体, 引起典型的病理改变<sup>[2]</sup>。尽管 HD 的致病基因和突变形式已明确 30 年之久, 但目前仍缺乏能够阻止疾病发生和发展的治疗方法。

由于亨廷顿病是由基因突变引起的, 因此“基因治疗”成为研发 HD 疾病修饰治疗 (disease modified therapy, DMT) 的主要策略。一般而言, 以致病基因为靶点, 通过纠正基因异常功能的治疗均可称为基因治疗 (gene therapy)。根据基因突变后获得致病功能 (gain of function) 或者失去正常功能 (loss of function), 可针对性地给予基因沉默 (gene silencing) 或基因替代 (gene replacement) 治疗, 或更进一步地通过基因编辑 (gene editing) 纠正突变基因本身<sup>[3]</sup>。由于 HD 的致病突变属于 gain of function, 因此现在在临床尝试的基因治疗策略均为沉默突变 HTT 基因, 相应的基因编辑策略尚处于实验室阶段。本文将简要综述 HD 基因治疗的临床现状、研究进展和临床评估的改进。

**作者简介:**裴 中, Email: peizhong@mail.sysu.edu.cn,

研究方向: 帕金森病的发病机制研究、亨廷顿病基因治疗的基础及临床研究。

**基金项目:**国家重点研发计划资助项目 (编号: 2022YFA1104900、2022YFA1104904); 国家自然科学基金资助项目 (编号: 82071255、82271266、82101330); 广东省神经系统疾病临床医学研究中心资助项目 (编号: 2020B111170002); 广东省神经疾病早期干预及功能修复研究国际科技合作基地资助项目 (编号: 2020A0505020004)。

**优先出版:** <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240516.1115.042>

(2024-05-18)

## 1 HD 基因治疗的临床现状

由于致病基因明确,病情逐渐加重并严重影响患者的生活质量及生命,HD、脊髓性肌萎缩、杜氏肌营养不良等疾病的基因治疗一直处于神经病领域的前沿,各类创新的技术和策略多在这类疾病中首先开展尝试。

理想状态下,治疗性物质可通过系统吸收,透过血脑屏障,发挥功能,例如小分子药物 PTC518。但大部分治疗性物质并不具备血脑屏障透过性,因此更多的尝试是为了提高其在脑组织中的有效浓度,或通过直接连接脑靶向肽、或通过鞘内注射的方式绕过血脑屏障,或者使用载体将治疗性物质进行定向递送。就基因沉默策略而言,目前优化改进的重点是递送载体。

递送载体可病毒载体和非病毒载体。目前常用的病毒载体有慢病毒和各种血清型的腺相关病毒,优势是能够介导外源基因持续表达,优化血清型可获得理想的组织特异性,目前已有成熟的工业化生产流程<sup>[4]</sup>。但是由于中和抗体的存在,无法多次给药<sup>[5]</sup>,仍存在外源序列插入到基因组,有潜在的致癌风险。虽然 AAV 疗法已广泛使用在多种疾病,但目前仍可见多例严重不良事件报道<sup>[6]</sup>。而非病毒载体则是各种外泌体或者纳米颗粒,这类递送载体的组织相容性好,无排异反应,多次给药有效;此外外源序列不会插入到基因组,相对安全;对靶基因的调控相对可控<sup>[7]</sup>。然而该类载体涉及大量构件的体外合成和装载,中间环节繁多、不可控,成本高昂,目前仍缺乏相应的行业或行政规范<sup>[8]</sup>。

目前各种策略在 HD 中均有开展尝试,现分述如下。

### 1.1 反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs)

反义寡核苷酸是一种合成的单链 DNA 或 RNA,可以与相应的 mRNA 形成杂交复合物,并通过募集核糖核酸酶 H 导致 mRNA 降解。根据 ASO 设计靶向序列的不同,可分为同时靶向野生型和突变型 HTT mRNA 的非等位基因特异性(non-allele specific) ASOs,以及对 mHTT mRNA 有较高靶向特异性的等位基因特异性(allele specific) ASOs。

Tominersen (IONIS-HTTRx 或 RG6042)是由 Roche 和 Ionis 制药公司合作研发的,能够同时靶向野生型和突变型 HTT mRNA 的非等位基因特异性 ASOs。其 I/IIa 期临床试验结果显示,Tominersen 鞘内注射能够有效降低 HD 患者脑脊液中 mHTT 蛋白水平,并呈剂量依赖性降低。在 90 mg 和 120 mg 剂量组的受试者中观察到脑脊液 mHTT 水平较基线降低约 40% (NCT02519036)<sup>[9]</sup>。根据实验动物中的预测结果,脑脊液 mHTT 降低 40% 大概相当于 mHTT 分别在大脑皮层和尾状核降低 55%~85% 和 20%~50%。然而,随后进行的 III 期临床试验发现 120 mg 剂量组的参与者在运动功能和认知能力等临床症状方面较安慰剂组明显恶化,且出现 NfL 的升高(NCT03761849),因此该项目提前终止<sup>[10]</sup>。亚组分析

提示较为年轻、疾病负荷较低的 HD 患者可能能够在较低剂量、较长间隔的给药中获益<sup>[11]</sup>。2023 年初,罗氏启动了新的 2 期临床试验(GENERATION HD2),旨在探索不同剂量 Tominersen (60 mg、100 mg) 每 16 周 1 次给药的疗效(NCT05686551)。

在 HTT 基因中,特定单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)变异在 CAG 扩增的等位基因上高频出现<sup>[12]</sup>。因此,Wave Life Sciences 和武田公司共同开发了 3 种可能具有等位基因特异性的 ASOs。其中针对 rs362307 (WVE-120101)、rs362331 (WVE-120102) 的 ASOs 已完成 1b/2a 期临床试验(PRECISION-HD1 和 PRECISION-HD2, NCT03225833, NCT03225846),以评估其耐药性、药代动力学、药效学 and 安全性。然而这 2 种 ASO 在鞘内注射后,并未能降低脑脊液中 mHTT,因此试验被提前终止。另一种等位基因特异性 ASO-WVE-003,针对一个未公开的 SNP 位点(SNP3)。WVE-003 在动物实验中,能够降低 HD 模型小鼠 50% 的 mHTT,且治疗效果持续 3 个月。该药物于 2021 年开始 I 期临床试验,预计于 2024 年 12 月结束(NCT05032196)。目前相关中期报告显示,WVE-003 的 30 mg 和 60 mg 剂量组在给药 85 d 后,脑脊液中 mHTT 的含量较基线水平降低约 22%,而脑脊液中 wt HTT 的水平保持不变,表现出良好的等位基因特异性。类似 WVE-120101 和 WVE-120102 这样的等位基因特异性 ASOs,主要依赖等位基因之间仅有一个核苷酸错配来区分突变型和野生型基因。理论上,核苷酸错配数目越多,等位基因之间的区分效率越高。因此,插入缺失多态性(indel)也是一个值得关注的靶点,因为插入缺失多态性可以在 HTT 等位基因之间引入 2~17 个核苷酸的差异<sup>[13]</sup>。ASO-WVE-003 靶向的未公开 SNP3 可能就属于这类多态性。此外,目前的临床试验主要依赖鞘内注射,这限制了 ASOs 的应用。因此,寻找更便捷的途径使 ASO 能够到达中枢神经系统是研发的一个重要方向。

此外,Vico Therapeutics 的 VO659 也是一种正在进行 HD 的临床试验且具有等位基因特异性的 ASOs。VO659 的具体结构和修饰方式尚未公布,通过鞘内注射给药。不同于其他 ASOs,VO659 通过靶向 CAG 重复序列来识别、降解 mRNA,对存在 CAG 扩增的等位基因具有较高的特异性,理论上可能对 SCA1、SCA3 和 HD 等 CAG 扩增疾病有效。目前,VO659 的 IIIa 开放标签、剂量递增试验正在进行,旨在探讨药物在早期 HD 患者、轻中度 SCA1、SCA3 患者中的安全性和耐受性(NCT05822908)。

### 1.2 AMT-130

AMT-130 是由 uniQure 开发的一种非等位基因特异性基因疗法。该疗法需要通过神经外科立体定位注射,将血清型 5 腺相关病毒载体(Adeno-associated virus serotype 5, AAV5)注射至 HD 患者双侧尾状核和壳核,以介导 miRNA 在局部表达,从而干扰 HTT 基因的翻译<sup>[14]</sup>。

早前该项目招募了 36 例 HD 患者进行了 1 项 I/II 期临床试验 (NCT04120493), 并继续进行开放标签延长试验 (NCT05243017), 以观察 AMT-130 的安全性、耐受性和有效性, 预计将于 2029 年完成。根据 2023 年 12 月 uniQure 的信息披露, AMT-130 两个剂量组 (低剂量组  $n=13$ , 高剂量组  $n=20$ ) 治疗整体耐受性良好。在给药后 24 个月内, 观察到在 UHDRS 综合评分、运动及认知量表中均有较预测自然病程改善的趋势, 其中高剂量组的改善更为明显。然而, 由于对照组缺乏对应时间点的数据, AMT-130 的临床疗效仍待进一步确认。

对应的影像学及生物标志物结果与临床评估不一致。低剂量组 AMT-130 在治疗后 3~9 个月观察到 mHTT 相较基线降低约 40%, 30 个月观察到脑脊液 NfL 降低至基线水平以下。然而, 高剂量组 AMT-130 截至目前仍未观察到 mHTT 和 NfL 较基线水平明显地降低。研究者认为这种差异可能源于 2 个剂量组受试者基线 mHTT 水平的较大差异, 并且由于 AMT-130 的给药方式为基底节定位注射, 治疗范围相对较为局限, NfL 和 mHTT 未能灵敏反映治疗效果<sup>[15]</sup>。

1.3 PTC518

相较于需要鞘内注射的 ASOs 以及脑定位注射的 AAV, 由 PTC 公司研发的, 能够影响 HTT pre-mRNA 剪接的小分子化合物 PTC518, 因其通过口服给药而受到更广泛的关注。PTC518 干扰 HTT pre-mRNA 剪接, 通过引入假外显子而最终使 HTT mRNA 被降解以达到治疗效果<sup>[16]</sup>。在 2022 年 3 月, PTC 启动了 1 项 II 期临床研究, 旨在评估 PTC518 在 162 例患者中的安全性和有效性 (NCT053588717)。尽管该研究曾在 2022 年 10 月被 FDA 叫停, 要求提供更多证据, 但研究仍在欧洲及澳大利亚继续进行。根据 2023 年 6 月 PTC 发布的中期数据 (安慰剂组  $n=9$ , PTC518 5 mg 组  $n=11$ , PTC518 10 mg 组  $n=13$ ), PTC518 整体表现出良好的耐受性, 未见严重不良反应, 并且药物在脑脊液和血浆中的浓度相当, 表现出良好的血脑屏障透过性。在治疗后 12 周, PTC518 能够剂量依赖性地降低外周血液中 HTT 的蛋白和 mRNA 水平, 降低幅度可达 30%。脑脊液中 NfL 在治疗后 12 周也呈现 5%~9% 的下降趋势, 但脑脊液中 mHTT 的数据尚未报道。目前整体研究情况较为积极, 计划在招募患者的基础上进行更长周期的临

床试验<sup>[17]</sup>。

另外, 最初用于治疗脊肌萎缩症的小分子药物 LMI070 (Branaplam), 因其能减少 Htt 蛋白<sup>[18]</sup>, 在 2022 年也针对 HD 开始了 II 期临床试验 (NCT05111249)。然而, 因发现 Branaplam 可能导致外周神经损害, 试验提前中止。总体而言, 目前小分子化合物因其口服给药方式的独特优势以及筛选体系的成熟性而备受关注, 许多学者和企业都在积极探索不同化合骨架的小分子化合物用于治疗 HD。

1.4 ER2001

目前国内也在 HD 基因治疗上作出创新的尝试。南京大学自主研发出能够靶向人 HTT 基因的核酸药物 ER2001 注射液 (简称 ER2001)。ER2001 注射液的活性成分为环状双链 DNA。通过静脉输注后, ER2001 被肝脏吸收, 驱动表达包含 miR-155 骨架的靶向 HTT siRNA 和 RVG-Lamp2b 融合蛋白。RVG-Lamp2b 融合蛋白可组装至外泌体膜上, 而 HTT siRNA 则通过 miR-155 的体内剪接机制被包装至 RVG 标记的外泌体中。含有 siRNA 的外泌体通过循环系统递送, 在 RVG 标签的引导下穿透血脑屏障, 到达中枢神经系统, 降解 HTT mRNA<sup>[19]</sup>。

目前, ER2001 正在广州医科大学附属第一医院开展一项开放标签的剂量递增临床试验, 以评估其在 HD 患者中的安全性、耐受性和有效性。目前已招募了 7 例 HD 患者, 涉及 4 个不同的剂量组 (0.04、0.08、0.16、0.32 mg/kg)。截至目前, 该研究观察到 36 例次的不良反应, 其中与药物相关的不良反应主要涉及心脏、肝功能和脂代谢, 严重程度轻微, 大部分无须医疗干预或在无医疗干预下自行好转。此外, 研究还对治疗后的运动和认知功能进行了评估。受试者在给药后 8 周 UHDRS (统一亨廷顿运动评分) 和认知量表评估中表现稳定, 较基线有改善的趋势。然而, 由于缺乏安慰剂组及自然病程预测数据, 临床疗效仍待进一步临床试验明确。目前相关的影像学及生物标志物结果仍需集中分析和统计。

1.5 临床试验现状总结

任何可能能够干预 HD 疾病病程的尝试都是值得鼓励的, 然而目前现有的试验药物距离临床应用还有相当大的距离。现将目前相关临床试验尝试的优缺点见表 1。

表 1 亨廷顿病基因治疗临床试验药物优缺点比较

项目	优势	局限性	改进方向
Tominersen	对脑组织 HTT 抑制效率和器官选择性最高	治疗剂量窗窄, 过量可能加重症状, 鞘内注射	优化给药方式
WVE-003	有数据支持能够选择性地抑制脑组织中 mHTT	靶向 SNP, 仅适用于特定 HD 患者, 鞘内注射	建立灵敏的监控体系
AMT-130	单次给药, 一旦起效, 可长期有效	给药方式有创, 临床获益证据不明确也不明显	优化病毒给药途径, 扩大治疗脑区的范围
PTC518	口服有效, 给药便捷, 能够透过血脑屏障	降低全身 HTT 表达, 非靶器官效应需进一步关注, 缺少 CSF mHTT 数据	改良工艺提高脑内浓度, 实现等位基因特异性
ER2001	给药相对无创, 目前安全性数据理想	药物半衰期较短, 非等位基因特异性, 血脑屏障透过性有待评估	



## 2 HD 基因治疗的治疗策略进展

聚集的规律性间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspersed short palindromic repeats, CRISPR) 和 CRISPR 关联基因 (CRISPR associated gene, Cas) 使细菌免疫系统能够识别和破坏外源 DNA, 目前 CRISPR/Cas 系统被广泛用于真核生物的基因调控。CRISPR/Cas 也是 HD 基因治疗目前的主流发展方向, 根据其是否产生 DNA 双链断裂 (double strand break, DSB), 分为 DSB 型和非 DSB 型。

### 2.1 DSB 型 CRISPR/Cas 策略

DSB 型是 Cas9 核酸酶在 gRNA 引导下与目标 DNA 序列结合, 诱导双链断裂, 双链断裂大概率通过错误同源端连接修复, 导致移码突变, 引起基因失活, 小概率通过以另外一条等位基因为模板进行直接同源修复。来自 Roche Tominersen 临床试验的研究结果提示野生型 HTT 可能具有重要作用, 因此基因编辑应当具有较高的等位基因特异性。

由于 Cas9 核酸酶断裂双链需要 PAM 位点, 而等位基因间 SNP 的多态性使等位基因间 PAM 位点不尽相同, 为 Cas9 实现等位基因特异性编辑提供了可能 (图 1)<sup>[20]</sup>。第一种, 由于部分 SNP 位点位于外显子, 在该 SNP 位点杂合可能在突变的等位基因上形成可供 Cas9 结合的 PAM 位点 (野生型等位基因无), 从而实现等位基因特异性。一旦通过 PAM 识别突变的等位基因, Cas9 切割 DNA 双链, 导致随机同源重组, 进而导致转录本的无义降解, 实现临床治疗。第二种则利用存在于 exon 1 在 5' 启动子序列以及 3' 端内含子上的 SNP, 使得等位基因间 PAM 存在差异, 能够更具选择性地将扩增的 exon 1 剪切, 并且有可能以正常等位基因为模板进行修复, 从而实现对突变 HTT 的纠正<sup>[21]</sup>。该项策略拥有多个可供选择的位点, 且人群中杂合频率较高, 预测多种组合能够覆盖 80% 以上的 HD 患者, 应该是未来重点的发展方向。随着 Cas9 蛋白功能日益明确, 多种 Cas9 蛋白的变种也在验证中, 能够提供各种各样的 PAM 限制, 且具更高的保真度, 将为后续设计研究靶点提供更大的空间<sup>[22]</sup>。

另外一种 DSB 策略则是将 gRNA 设计在 exon1 CAG 重复序列的交界处, 研究发现特定的 gRNA 能够使得突变基因扩增的 CAG 重复序列缩短, 其中 25% 的 CAG 缩短没有引入移码突变, 另外 75% 存在移码突变<sup>[23]</sup>。该策略若能进一步改进有望实现真正的基因治疗。

### 2.2 非 DSB 型 CRISPR/Cas 策略

而非 DSB 型 CRISPR/Cas9 策略主要是指 CRISPRi 以及碱基编辑技术。研究显示靶向 CAG 重复序列的 CRISPRi 能够在不引起 DNA 改变的情况下, 更有选择性地降低 mHTT, 并且表现出比 CRISPR/Cas9 更优异的行为学改善, 而且对其他 CAG 基因的表达没有影响<sup>[24]</sup>。

此外碱基编辑技术在 HD 中也有一定的应用前景。HD 患者扩增的 CAG 重复序列中可能会夹杂有 CAA, 尽管 CAG 和 CAA 都编码谷氨酰胺, 在翻译产物上没有区别。但是有趣的是, 决定起病年龄的是 CAA 以前连续的 CAG 重复次数, 连续的 CAG 重复次数与更严重的转录紊乱、核内包涵体聚集以及体细胞 CAG 扩增相关<sup>[25]</sup>。因此, 通过胞嘧啶碱基编辑器 (cytosine base editors, CBEs) 将 CAG 转换为 CAA 可能能够在尽可能小的基因组改变上使 HD 患者获益, 目前已有相关研究团队进行对应研究。

Cas13 是 CRISPR/Cas 系统中的一员, 与 Cas9 不同, Cas13 在 gRNA 的引导下与特定序列的单链 RNA 结合并将其剪切<sup>[26]</sup>。Cas13 切割 RNA 并不依赖 PAM 位点, 因此其在 gRNA 的设计上有较高的自由度, 能够更好地优化单个核苷酸错配导致的等位基因特异性<sup>[27]</sup>。然而与理论不同, 研究发现 Cas13 能够通过靶向 CAG 重复序列来实现等位基因特异性, 等位基因间 CAG 重复次数差异越大, 对扩增的等位基因抑制效率越强。定位注射 Cas13d 病毒载体后, zQ175 HD 小鼠模型中 mHTT 蛋白表达下调, 症状明显缓解<sup>[28]</sup>。但是值得注意的是, 靶向 CAG 重复序列的 Cas13d 在调控 mHTT 的同时, 也可能影响 Ataxin1/2/3/7、TBP、atrophin-1 等富含多聚谷氨酰胺的蛋白, 因此其脱靶效应值得进一步关注。

### 2.3 小结

值得注意的是, DSB 型 CRISPR/Cas 策略引起的 DNA 双

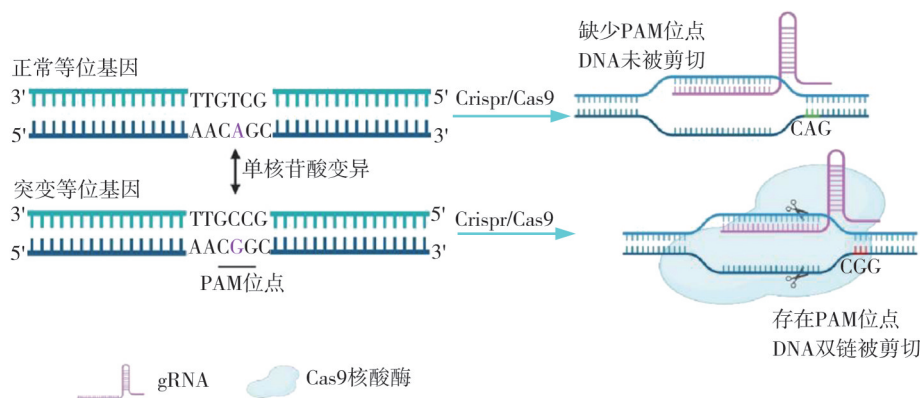


图1 CRISPR/Cas9 基于 SNP 实现等位基因特异性编辑示意图

链断裂,有一定概率会导致染色体重排或缺失<sup>[29]</sup>,尽管相关技术已在不断优化,力图降低发生的概率<sup>[30]</sup>。就此而言,非DSB型CRISPR/Cas策略拥有着较高的安全性。实验动物中全身性使用HD相关基因编辑策略(静脉注射AAV)可影响生殖腺基因组<sup>[31]</sup>,就此引出一个伦理问题:HD的相关基因编辑策略是否具有生殖腺的编辑功能?一方面是HD患者有生育健康后代的需求;另一方面不可避免地导致被编辑后代的出生<sup>[32]</sup>。而限制基因编辑的作用范围,相应的给药方式(鞘内注射、脑内注射)无疑增加受试患者的负担,也有可能导致疗效不佳。此外相关的复杂伦理问题也必然会为相应的临床试验申报带去繁重的手续和讨论。

总体而言,随着CRISPR/Cas策略的不断优化,HTT基因编辑迎来了多种可能的策略。然而,在中枢神经系统中的应用仍然面临较大的限制。给药载体是另一个需要进一步优化的方向<sup>[33]</sup>。然而,由于Cas9蛋白相对较大,如何提高载体的装载效率,以实现更高效的基因编辑,仍需要更多的努力和研究。这一领域的进展将为神经系统疾病的治疗提供更可行的方案。

### 3 HD基因治疗的评估进展

#### 3.1 生物标志物评估

CSF中的mHTT作为与HD病程密切相关的生物标志物,在基因治疗的疗效评估中起着重要作用。然而,随着对CSF mHTT广泛应用和认识的不断深入,其地位值得进一步评估。

目前的实践中观察到,一些临床发病患者的CSF mHTT水平低于定量区间,因此更加灵敏、可靠的mHTT检测技术仍具有极大的应用前景<sup>[34]</sup>。此外,CSF mHTT被认为是由神经元分泌,经由脑类淋巴途径进入脑脊液,并被主动清除出脑。因此,CSF mHTT的含量可能受多种因素的影响,但目前缺乏研究评估各种因素对个体CSF mHTT的影响<sup>[35]</sup>。

随着治疗策略的改善,如口服给药、静脉给药等相对无创的实施,使得腰穿的实施和次数成为临床试验中最令受试者顾虑的环节。因此,如何使用外周体液组织评估中枢神经系统HTT降低的效果成为当前研究的热门方向。

Amber Southwell的团队发现神经元分泌的细胞外囊泡中含有HTT蛋白,主要集中在血浆和脑脊液的ectosomes而非exosomes中。与之对应的,人血浆细胞外囊泡上存在神经元的表面标志物ATP1A3以及L1CAM。血浆中神经元来源的ectosomes中的mHTT水平有望成为未来无创评估中枢神经系统HTT降低疗效的可能策略。这一发现为非侵入性评估治疗效果提供了新的方向。

#### 3.2 影像标志物应用

结构MRI在各种HD相关的临床研究中得到广泛应用,其主要目标是评估HD患者脑组织萎缩速率以及监控可能的不良事件。然而,目前尚未发现其他影像标志物被用于评

估基因治疗策略对脑功能的影响。鉴于MRI的无创性,其在HD临床试验中的应用值得被更广泛地推广。

HD脑组织中存在脑血管结构及功能异常,神经元功能异常也将导致其对局部血流调控出现障碍。Klinkmueller P等<sup>[36]</sup>研究发现,脑小动脉血流量体积(arteriolar cerebral blood volumes, CBVa)的升高是HD脑组织早期的变化。在小鼠中实现基因调控后,相应的CBVa改变甚至早于行为学改善,这项技术值得在临床试验中进行验证<sup>[37]</sup>。

正如前文所述,mHTT在中枢神经系统中经历了主动清除机制,而目前已有证据提示HD患者脑组织中清除机制的相关结构存在异常,并与疾病严重程度相关<sup>[38]</sup>。因此对相应的脑类淋巴功能进行评估在将来纳入临床试验中将变得十分必要。这将有助于更好地解读脑脊液中mHTT水平的结果<sup>[39]</sup>。

### 4 总结与展望

目前对HD的自然病程仍无有效的干预手段,但越来越多的治疗策略在HD治疗领域中开展尝试。希望能尽早研发出安全、有效的HD治疗策略,并且便捷、精准地进行疗效评价,最大程度上地让HD患者及其家庭获益。

### 参 考 文 献

- [1] McColgan P, Tabrizi SJ. Huntington's disease: a clinical review[J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(1): 24–34.
- [2] Tabrizi SJ, Flower MD, Ross CA, et al. Huntington disease: new insights into molecular pathogenesis and therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Neurol*, 2020, 16(10): 529–546.
- [3] Chancellor D, Barrett D, Nguyen-Jatkoe L, et al. The state of cell and gene therapy in 2023[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(12): 3376–3388.
- [4] Ling QL, Herstine JA, Bradbury A, et al. AAV-based *in vivo* gene therapy for neurological disorders[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(10): 789–806.
- [5] Schulz M, Levy DI, Petropoulos CJ, et al. Binding and neutralizing anti-AAV antibodies: detection and implications for rAAV-mediated gene therapy[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(3): 616–630.
- [6] Lek A, Wong B, Keeler A, et al. Death after high-dose rAAV9 gene therapy in a patient with duchenne's muscular dystrophy[J]. *N Engl J Med*, 2023, 389(13): 1203–1210.
- [7] Mondal J, Pillarisetti S, Junnuthula V, et al. Hybrid exosomes, exosome-like nanovesicles and engineered exosomes for therapeutic applications[J]. *J Control Release*, 2023, 353: 1127–1149.
- [8] 马跃, 邓莉, 李善刚. 纳米粒子在CRISPR/Cas9基因治疗中的应用[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(6): 2087–2104.
- [9] Ma Y, Deng L, Li SG. Application of nanoparticles in CRISPR/Cas9-based gene therapy[J]. *Chin J Biotechnol*, 2022, 38(6): 2087–2104.
- [9] Tabrizi SJ, Leavitt BR, Landwehrmeyer GB, et al. Targeting hun-

- tingtin expression in patients with Huntington's disease[J]. N Engl J Med, 2019, 380(24): 2307–2316.
- [10] Tabrizi SJ, Estevez-Fraga C, van Roon-Mom WMC, et al. Potential disease-modifying therapies for Huntington's disease: lessons learned and future opportunities[J]. Lancet Neurol, 2022, 21(7): 645–658.
- [11] McColgan P, Thobhani A, Boak L, et al. Tominersen in adults with manifest Huntington's disease[J]. N Engl J Med, 2023, 389(23): 2203–2205.
- [12] Warby SC, Montpetit A, Hayden AR, et al. CAG expansion in the Huntington disease gene is associated with a specific and targetable predisposing haplogroup[J]. Am J Hum Genet, 2009, 84(3): 351–366.
- [13] Shin JW, Shin A, Park SS, et al. Haplotype-specific insertion-deletion variations for allele-specific targeting in Huntington's disease[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2022, 25: 84–95.
- [14] Spronck EA, Vallès A, Lampen MH, et al. Intrastratial administration of AAV5-miHTT in non-human Primates and rats is well tolerated and results in miHTT transgene expression in key areas of Huntington disease pathology[J]. Brain Sci, 2021, 11(2): 129.
- [15] UniQure. UniQure announces update on phase I / II clinical trials of AMT-130 gene therapy for the treatment of Huntington's disease[EB/OL]. (2023-12-19) [2024-01-26]. <https://uniquere.gcs-web.com/news-releases/news-release-details/uniquere-announces-update-phase-iii-clinical-trials-amt-130-gene>.
- [16] Keller CG, Shin Y, Monteys AM, et al. An orally available, brain penetrant, small molecule lowers huntingtin levels by enhancing pseudo-exon inclusion[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1150.
- [17] PTC Therapeutics. PIVOT-HD interim data update[EB/OL]. (2023-06-01)[2024-01-26]. <https://ir.ptcbio.com/static-files/cbaeb42b-4897-40c6-bfba-d0f21eacc4d9>.
- [18] Estevez-Fraga C, Tabrizi SJ, Wild EJ. Huntington's disease clinical trials corner: November 2022[J]. J Huntingtons Dis, 2022, 11(4): 351–367.
- [19] Zhang L, Wu TT, Shan YY, et al. Therapeutic reversal of Huntington's disease by *in vivo* self-assembled siRNAs[J]. Brain, 2021, 144(11): 3421–3435.
- [20] Monteys AM, Ebanks SA, Keiser MS, et al. CRISPR/Cas9 editing of the mutant huntingtin allele *in vitro* and *in vivo*[J]. Mol Ther, 2017, 25(1): 12–23.
- [21] Shin JW, Hong EP, Park SS, et al. PAM-altering SNP-based allele-specific CRISPR-Cas9 therapeutic strategies for Huntington's disease[J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2022, 26: 547–561.
- [22] Bravo JPK, Liu MS, Hibshman GN, et al. Structural basis for mismatch surveillance by CRISPR-Cas9[J]. Nature, 2022, 603(7900): 343–347.
- [23] Oura S, Noda T, Morimura N, et al. Precise CAG repeat contraction in a Huntington's Disease mouse model is enabled by gene editing with SpCas9-NG[J]. Commun Biol, 2021, 4(1): 771.
- [24] Seo JH, Shin JH, Lee J, et al. DNA double-strand break-free CRISPR interference delays Huntington's disease progression in mice[J]. Commun Biol, 2023, 6(1): 466.
- [25] Gu XF, Richman J, Langfelder P, et al. Uninterrupted CAG repeat drives striatum-selective transcriptionopathy and nuclear pathogenesis in human Huntington BAC mice[J]. Neuron, 2022, 110(7): 1173–1192.
- [26] Cox DBT, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, et al. RNA editing with CRISPR-Cas13[J]. Science, 2017, 358(6366): 1019–1027.
- [27] Molina Vargas AM, Sinha S, Osborn R, et al. New design strategies for ultra-specific CRISPR-Cas13a-based RNA detection with single-nucleotide mismatch sensitivity[J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(2): 921–939.
- [28] Morelli KH, Wu Q, Gosztyla ML, et al. An RNA-targeting CRISPR-Cas13d system alleviates disease-related phenotypes in Huntington's disease models[J]. Nat Neurosci, 2023, 26(1): 27–38.
- [29] Leibowitz ML, Papathanasiou S, Doerfler PA, et al. Chromothripsis as an on-target consequence of CRISPR-Cas9 genome editing[J]. Nat Genet, 2021, 53(6): 895–905.
- [30] Tsuchida CA, Brandes N, Bueno R, et al. Mitigation of chromosome loss in clinical CRISPR-Cas9-engineered T cells[J]. Cell, 2023, 186(21): 4567–4582.
- [31] Yan S, Zheng X, Lin YQ, et al. Cas9-mediated replacement of expanded CAG repeats in a pig model of Huntington's disease[J]. Nat Biomed Eng, 2023, 7(5): 629–646.
- [32] Collier BS. Ethics of human genome editing[J]. Annu Rev Med, 2019, 70: 289–305.
- [33] Yao XG, Lyu P, Yoo K, et al. Engineered extracellular vesicles as versatile ribonucleoprotein delivery vehicles for efficient and safe CRISPR genome editing[J]. J Extracell Vesicles, 2021, 10(5): e12076.
- [34] Rodrigues FB, Byrne LM, Tortelli R, et al. Mutant huntingtin and neurofilament light have distinct longitudinal dynamics in Huntington's disease[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(574): eabc2888.
- [35] Caron NS, Banos R, Yanick C, et al. Mutant huntingtin is cleared from the brain via active mechanisms in Huntington disease[J]. J Neurosci, 2021, 41(4): 780–796.
- [36] Klinkmueller P, Kronenbuerger M, Miao XY, et al. Impaired response of cerebral oxygen metabolism to visual stimulation in Huntington's disease[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2021, 41(5): 1119–1130.
- [37] Liu HS, Zhang CC, Xu JD, et al. Huntingtin silencing delays onset and slows progression of Huntington's disease: a biomarker study[J]. Brain, 2021, 144(10): 3101–3113.
- [38] Chan ST, Mercaldo ND, Ravina B, et al. Association of dilated perivascular spaces and disease severity in patients with Huntington disease[J]. Neurology, 2021, 96(6): e890–e894.
- [39] Eide PK, Lashkarivand A, Pripp A, et al. Plasma neurodegeneration biomarker concentrations associate with glymphatic and meningeal lymphatic measures in neurological disorders[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2084.

(责任编辑:曾 玲)