DOI: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.008

· 综述 ·

# 造血干细胞基因编辑与基因治疗:从底层技术开发到临床转化

张旭月[1,2#],宋宇琦[1,2#],饶书权[1,2],姚瑶[1,2*]

[1]中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),血液与健康全国重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,细胞生态海河实验室,天津 300020

[2]天津医学健康研究院,天津 301600

**摘要**:造血干细胞(HSC)具有自我更新和多系分化能力,是基因治疗的理想载体。以成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)-CRISPR 相关蛋白 9(Cas9)为代表的基因编辑技术迅猛发展,推动 HSC 基因治疗从基础研究迈入临床实践,为 β-地中海贫血、镰状细胞病等遗传性血液病的根治带来希望。本综述系统梳理了 HSC 基因编辑的发展脉络与最新进展,以及递送系统与体内治疗新突破;总结了在关键血液病模型中的临床前研究证据与转化挑战;概述了已上市疗法及核心临床试验的疗效与安全性数据。尽管在编辑精准性、递送效率、长期安全性与治疗可及性方面仍存挑战,但随着新编辑和递送体系的开发、人工智能的辅助以及全球化临床协作的推进,HSC 基因治疗正朝着更安全、高效、可及的精准治愈时代迈进。

**关键词**:造血干细胞;基因编辑;基因治疗

**中图分类号**:R556

# Therapeutic gene editing and gene therapy of hematopoietic stem cell: from underlying technology development to clinical translation

ZHANG Xuyue[1,2#],SONG Yuqi[1,2#],RAO Shuquan[1,2],YAO Yao[1,2*]

[1]State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

[2]Tianjin Institutes of Health Science, Tianjin 301600, China

**Abstract**: Hematopoietic stem cells (HSC) possess self-renewal capacity and multilineage differentiation potential, rendering them ideal vehicles for gene therapy. Gene editing technologies exemplified by clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-CRISPR-associated protein 9 (Cas9) have advanced rapidly, propelling HSC-based gene therapy from basic research to clinical practice and offering hope for the radical cure of hereditary hematological disorders such as β-thalassemia and sickle cell disease. This review systematically summarizes the developmental context and latest advances in HSC gene editing, as well as novel breakthroughs in delivery systems and *in vivo* therapy;

**基金项目**:国家自然科学基金面上项目(82470240)

#共同第一作者

*通信作者

**利益冲突**:作者均声明无利益冲突

**伦理批件**:不需要

**知情同意**:不需要

**引用本文**:张旭月,宋宇琦,饶书权,等.造血干细胞基因编辑与基因治疗:从底层技术开发到临床转化[J].再生医学研究,2026,1(2):94-108. doi:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.008.

**Fund program**: General Program of National Natural Science Foundation of China (82470240)

#Co-first author

*Corresponding author

**Conflicts of interest**: Authors all declare no conflicts of interest.

**Ethical approval**: not required.

**Informed consent**: not required.

**Cite this article**: Zhang XY, Song YQ, Rao SQ, et al. Therapeutic gene editing and gene therapy of hematopoietic stem cell: from underlying technology development to clinical translation[J]. Zaisheng Yixue Yanjiu, 2026,1(2):94-108. doi:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.008.

synthesizes preclinical evidence and translational challenges in key hematological disease models; and outlines the efficacy and safety profiles of approved therapies and pivotal clinical trials. Despite lingering challenges in editing precision, delivery efficiency, long-term safety, and treatment accessibility, the development of novel editing and delivery systems, the aid of artificial intelligence, and the progress of global clinical collaboration are driving HSC-based gene therapy toward an era of safer, more efficient, and accessible precision cure.

**Key words**: Hematopoietic stem cell; Gene editing; Gene therapy

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞,在个体生命周期中持续维持全谱系血细胞的生成与更新[1]。作为发现最早、研究历史最长的成体干细胞之一,造血干细胞的生物学特征与基本特性研究深入透彻,其临床应用价值与有效性也已获得广泛验证。进一步随着基因治疗递送载体与成簇规律间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats,CRISPR)基因编辑技术的迅猛发展,基于人 HSC 的基因编辑策略为无法治愈的遗传性疾病的治疗开辟了全新的路径。2024 年底全球首个治疗 β 地中海贫血和镰状红细胞性贫血(sickle cell disease,SCD)的基因治疗产品获批上市,标志着该领域正式进入临床应用新阶段[2-4]。然而,HSC 基因治疗在技术层面仍面临编辑效率与安全性的平衡、递送系统的体内靶向性与安全性及编辑后细胞的长期植入效能等核心挑战。本文旨在系统综述基因编辑的底层技术原理与发展、递送体系的创新、HSC 基因治疗遗传性疾病的临床前与临床转化研究现状,并对未来发展趋势与挑战进行展望。

## 1　基因编辑工具箱与底层技术开发

### 1.1　基因添加

基因添加策略通过病毒载体将功能性基因导入患者自体 HSC,适用于单倍剂量不足或基因缺失导致的疾病。其流程一般包括:HSC 采集、体外转导、患者预处理,以及回输与监测。主要的病毒载体包括逆转录病毒和慢病毒[1]。Hacein-Bey-Abina 等[5-6]证实了逆转录病毒介导的基因治疗可长期重建 X 连锁重症联合免疫缺陷病(X-linked severe combined immunodeficiency,X-SCID)患者 T 细胞功能,但同时伴随着病毒整合导致致癌基因激活的风险,4 例 X-SCID 患者在治疗后发生 T 细胞急性淋巴细胞白血病,其中 1 例死亡。自失活载体能够去除长末端重复序列的强启动子活性,减少原癌基因激活风险。Thompson 等[7]研究报道了携带 βT87Q 珠蛋白基因的 BB305 载体,通过慢病毒介导的基因添加为输血依赖型 β 地中海贫血提供了安全有效的治疗选择,尤其对非 β0/β0 基因型患者疗效显著,使其实现了不依赖于输血的长期生存。

随着技术发展,基因添加策略的特异性和安全性有了更大提升。Srivastava 等[8]利用自失活慢病毒载体(self-inactivating lentiviral vector, SIN-LV)CD68-ET3-LV 将凝血因子Ⅷ(*FVIII*)基因导入 $CD34^+$细胞,在血友病 A(hemophilia A,HA)模型中实现了长期治疗效果。其中 CD68 启动子具有髓系特异性,驱动 *FVIII* 转基因在单核/巨噬细胞中定向表达,避免 HSC 内表达导致的细胞毒性。优化版 *FVIII* 基因 ET3 的分泌效率比传统 B 域缺失型 *FVIII* 高 10 ~ 100 倍。并且载体设计整合偏向内含子区,减少了外显子的插入风险。

### 1.2　Cas9 基因敲除

CRISPR-CRISPR 相关蛋白 9(CRISPR-associated protein 9,Cas9)介导的基因敲除策略通过精准编辑致病基因或调控元件发挥作用。CRISPR-Cas 是一种源自细菌免疫系统的基因编辑技术,通过单链向导 RNA(single-guide RNA,sgRNA)引导 Cas 核酸酶在特定基因组位点产生双链断裂(double-strand break,DSB),随后细胞通过非同源末端连接(non-homologous end joining,NHEJ)或同源定向修复(homology-directed repair, HDR)机制修复 DNA,实现基因敲除、突变纠正或靶向插入,弥补了基因添加策略的缺陷。NHEJ 和 HDR 的编辑效率依赖于 HSC 的状态,HDR 的结果通常不如 NHEJ 的结果有效。

核酸酶的发展包括锌指核酸酶(zinc finger nuclease, ZFN)、转录激活因子样效应核酸酶(transcription activator-like effector nuclease, TALEN)和Cas9。Cas核酸酶的优势在于它们由短RNA序列引导,该短RNA序列通过Watson-Crick碱基配对识别靶DNA序列,而其他酶依赖于蛋白质-DNA相互作用来实现靶特异性。

该策略在治疗β-血红蛋白病中取得巨大成功,其核心在于靶向破坏红细胞特异性增强子以抑制BCL11A表达,从而重新激活胎儿血红蛋白(fetal hemoglobin, HbF)表达,代偿有缺陷的成人血红蛋白[9]。Wu等[10]采用了一种高度优化的电穿孔递送CRISPR-Cas9系统介导的BCL11A增强子敲除用于治疗β-血红蛋白病,利用3xNLS-SpCas9和化学修饰sgRNA靶向BCL11A红细胞增强子+58位点的GATA1结合基序,破坏后导致BCL11A表达降低54.6%,胎儿γ-珠蛋白(HBG1/2)表达显著诱导。其核心创新在于结合核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)递送、修复机制调控和谱系特异性设计,但尚需解决HSC静息期对修复方式的限制。Demirci等[11]进一步在恒河猴模型中验证了BCL11A增强子编辑的安全性,显示编辑后的HSC可长期定植且无毒性,并证明了双等位编辑与应激协同效应为重度患者提供更高HbF水平的潜在获益。

### 1.3 碱基编辑及其治疗策略

碱基编辑器(base editor, BE)由催化失活的Cas蛋白与脱氨酶融合而成,可在不产生DSB的情况下,直接实现C·G到T·A或A·T到G·C的单碱基转换,极大降低了因NHEJ导致的插入缺失风险。对于由特定点突变,如血红蛋白β亚基(hemoglobin subunit beta, *HBB*)基因-28 A>G引起的疾病,BE提供了更精准、安全的治疗方案。Zeng等[12]设计了一种经过工程化改造的第三代BE A3A(N57Q)-BE3,用于治疗β-地中海贫血和SCD,其亮点在于使用人源的APOBEC3A脱氨酶域替代原始BE中常用的大鼠源的APOBEC1,并带有N57Q突变以减少非目标位点的编辑。研究还实现了多重碱基编辑,同时靶向BCL11A增强子和*HBB*基因启动子-28 A>G突变,以纠正β-地中海贫血的基因缺陷,证明了多重编辑的可行性。新一代双功能BE如ACBE,能够同时进行C-to-T和A-to-G编辑,为复合杂合突变提供了单次编辑解决方案。此外,通过蛋白质工程改造出具有<5个碱基的更窄编辑窗口的高保真BE,在临床前模型中显著降低了旁观者编辑效应,提升了治疗安全性。

### 1.4 先导编辑及其治疗策略

先导编辑(prime editing, PE)系统由切口Cas9(nickase Cas9, nCas9)与逆转录酶融合蛋白和引导编辑向导RNA(prime editing guide RNA, pegRNA)构成。pegRNA不仅引导靶向,还携带包含预期编辑序列的RNA模板。通过逆转录将新遗传信息直接写入靶DNA,PE能够实现所有12种碱基转换、小片段精准插入与删除,且原则上不依赖DSB和供体DNA模板,具有更高的灵活性和潜在安全性。在造血系统中,PE已被用于在HSC中精准纠正SCD点突变或引入保护性突变。为克服PE在原始HSC中效率相对较低的瓶颈,研究人员开发了工程化的pegRNA以增强其稳定性,并设计了PE5max、PEmaxΔRNaseH等新型PE蛋白变体,在$CD34^+$细胞中实现了对多个疾病相关位点>30%的精准编辑效率。

### 1.5 大片段基因整合及其治疗策略

对于HA、范可尼贫血(Fanconi anemia, FA)等需要>5 kb完整大片段基因替换或插入的疾病,传统病毒载体容量有限。目前策略主要依赖CRISPR-Cas9介导的DSB,结合HDR途径,利用腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)或游离DNA作为供体模板,实现基因在安全港位点或内源基因座的靶向整合。非病毒整合系统,特别是高活性的Sleeping Beauty(SB100X)转座子系统,因其较低的生产成本和潜在的更安全的整合谱,在临床前研究中展现出优势,可实现治疗性基因的高效、持久表达。高可溶性Sleeping Beauty转座酶作为新一代非病毒整合工具,在$CD34^+$造血干/祖细胞(hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC)中实现20% ~30%的整合效率,其插入位点分布接近随机,降低了插入突变风险[13]。这一特性使其在需要长期表达的疾病治疗中展现优势,例如β-地中海贫血的基因矫正研究中,hsSB介导的β-珠蛋白基因整合可维持持久的造血重建。

迷你环载体与 mRNA 递送系统的组合进一步优化了 Sleeping Beauty 转座效率。在 $CD34^+$ 细胞中，迷你环 Sleeping Beauty 转座子联合 SB100X mRNA 递送实现了 34.4% 的整合效率，载体拷贝数（vector copy number，VCN）低至 0.46/细胞[14]。这种低 VCN 特性显著降低了插入突变风险，在 HA 的基因治疗研究中，该系统介导的 *FVIII* 基因整合使凝血活性恢复至正常水平的 35% ~45%。RNA 介导的 R2 逆转座子系统则通过靶向整合机制实现精准基因添加。该系统在 $CD34^+$ 细胞中整合效率达 15% ~34%，特异性高达 99%，其整合位点主要集中于 28S rDNA 区域，这种位点偏好性为规避癌基因激活提供了天然保障[15]。研究[15]显示，优化后的 R2 系统通过 5′UTR 核酶自剪切和 3′UTR 茎环结构改造，可高效整合 GFP 报告基因至人细胞系和原代 T 细胞等多种哺乳动物细胞以及小鼠胚胎中。

### 1.6　其他治疗策略

除上述主流基因编辑技术外，造血干细胞基因治疗领域还发展出多种精准调控策略，包括 CRISPR 干扰（CRISPR interference，CRISPRi）或 CRISPR 激活（CRISPR activation，CRISPRa）介导的基因表达调控以及 HDR 介导的靶向基因校正。CRISPRi 与 CRISPRa 技术通过将无核酸酶活性的 dCas9 与效应结构域融合，实现对靶基因表达的精准调控。其中 dCas9-KRAB 融合系统可通过招募异染色质形成相关蛋白，在不改变 DNA 序列的情况下实现靶基因转录沉默，该系统在造血干细胞中对 BCL11A 等 HbF 抑制基因的长期抑制效率可达 70% 以上，且未检测到脱靶效应[16]。而CRISPRa 系统则通过 dCas9-VP64 等激活结构域组合，在 β-地中海贫血模型中成功上调 γ-珠蛋白基因表达，为非切割型基因治疗提供了新思路。

Rai 等[17]证明了 CRISPR/Cas9 结合 AAV6 HDR 的基因编辑策略在 Wiskott-Aldrich 综合征（Wiskott-Aldrich Syndrome，WAS）治疗中的高效性与安全性。CRISPR-Cas9 将治疗性的 WAS cDNA 精确地敲入到 WAS 基因位点的起始密码子处，使其与内源性基因框架一致，并由内源性调控区域控制转录。即使 WAS 有超过 300 种不同的突变，无论原始突变在基因的哪个位置，只要将正常的 cDNA 敲入起始位点，就能纠正所有已知的致病突变，为遗传性血液疾病的精准治疗提供了新方法。CRISPR 系统基因编辑工具箱见图 1。

## 2　HSC 基因治疗的递送体系

尽管基于 CRISPR 的编辑工具能够实现从基因编辑到基因表达调节的多样化操作，但高效、安全的递送是基因编辑疗法临床转化的核心瓶颈。递送系统需克服 HSC 固有的难转染特性，并尽可能减少对细胞活力和干性的损伤。目前主要递送方式包括 AAV、慢病毒等病毒载体和脂质纳米颗粒、电穿孔等非病毒载体，但均存在一定缺陷：病毒载体面临免疫原性和装载容量限制，非病毒载体则存在细胞摄取效率低、体内稳定性差的问题。值得关注的是，时空控制型编辑系统如光控 Cas9，为解决编辑时效性问题提供了新思路，但在 HSC 中的应用仍需克服细胞穿透性障碍[16]。此外，新型递送策略如“Cas9-RNP 电穿孔结合游离型 DNA 模板”可显著降低毒性，其编辑后 HSC 的长期造血重建能力与未编辑细胞无统计学差异[18]。基因治疗递送体系见图 2。

### 2.1　病毒递送系统

γ 逆转录病毒的早期应用证明了其治疗有效性，但因安全性问题[5]已逐步被替代，并推动了载体的设计改进。AAV 是体内基因治疗最常用的载体，其优势包括低免疫原性、长期表达和广泛的血清型，以靶向不同组织。然而，对于靶向 HSC，AAV 面临预存免疫、携带容量有限以及转导 HSC 效率低的挑战。目前的研究方向是开发新型衣壳，以增强其对 HSC 的趋向性和转导效率[19]。此外，Ferrari 等[18]验证了一种整合酶缺陷型慢病毒（integrase-deficient lentiviral vector，IDLV）的优势。与 AAV 相比，IDLV 递送模板诱导更低的 DNA 负载和短期 DNA 损伤反应，p21 表达峰值较 AAV 降低 60%，显著改善了 HSPC 的长期植入能力。另一方面，IDLV 主要以完整载体形式通过同源定向修复整合，而 AAV 则出现 23% 的克隆携带末端反向重复序列（inverted terminal repeat，ITR）异常整合，频繁发生片段化插入。全基因组分析显示 IDLV 的靶点整合

频率为21%,且无ITR驱动的非特异性插入。

LV在体外基因治疗中非常成功,但其在体内的应用受限于难以高效靶向静止期的HSC,以及可能整合到非靶细胞基因组中的安全性担忧。2011年,

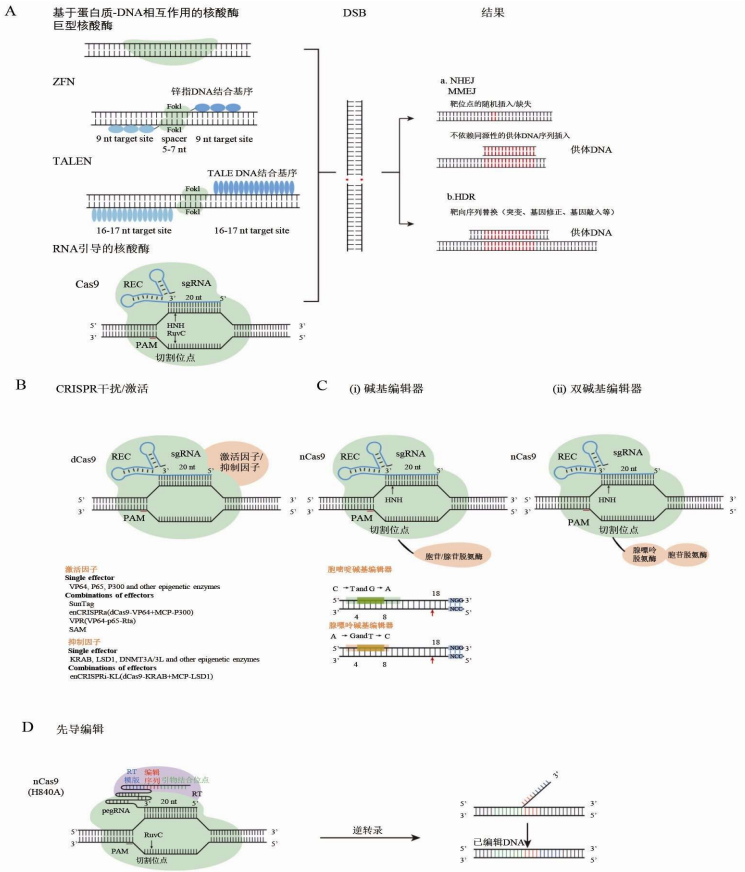



**图1 CRISPR系统基因编辑工具箱。**A:CRISPR/Cas系统可在特定的靶向位点产生DNA DSB,以模拟内源性DNA修复途径。基因组编辑结果取决于DSB修复途径:(1)通过NHEJ或MMEJ进行的小插入或缺失;(2)插入或替换由HDR同时提供的供体DNA。NHEJ还可以以同源性独立的方式产生供体DNA序列的插入;B:CRISPRi或CRISPRa通过空间阻断或改变表观遗传修饰来调节基因表达活性;C:(i)单碱基编辑器通过将脱氨酶与dCas9融合来替换单个碱基。其中,CBE将C(胞嘧啶)脱氨变成U(尿嘧啶),在DNA复制时U被视为T(胸腺嘧啶);ABE将A(腺嘌呤)脱氨成I(肌苷),在DNA复制时I被视为G(鸟嘌呤);(ii)双碱基编辑器具有两种脱氨酶,能够同时进行C-to-T和A-to-G编辑;D:先导编辑利用nCas9来切割基因组靶标,然后逆转录酶以pegRNA为模版将修复序列引入靶标位点。CRISPR:成簇规律间隔短回文重复序列;Cas9:CRISPR相关蛋白9;ZFN:锌指核酸酶;TALEN:转录激活因子样效应核酸酶;DSB:双链断裂;NHEJ:非同源末端连接;MMEJ:微同源介导的末端连接;HDR:同源定向修复;PAM:原间隔序列毗邻基序;REC:识别结构域;HNH:HNH核酸酶结构域;RuvC:RuvC核酸酶结构域;CRISPRi:CRISPR干扰;CRISPRa:CRISPR激活;dCas9:失活Cas9;SAM:协同激活介质;CBE:胞嘧啶碱基编辑器;ABE:腺嘌呤碱基编辑器;nCas9:切口酶Cas9;sgRNA:单链向导RNA;pegRNA:引导编辑向导RNA;RT:逆转录酶。

**Figure 1 The CRISPR system-based gene editing toolbox.** A: The CRISPR/Cas system can induce DNA DSBs at specific target sites to engage endogenous DNA repair pathways. Genome editing outcomes are determined by DSB repair routes: (1) Small insertions or deletions (indels) via NHEJ or MMEJ; (2) Insertion or replacement of donor DNA sequences delivered in parallel with HDR. Additionally, NHEJ can mediate insertions of donor DNA sequences in a homology-independent manner; B: CRISPRi or CRISPRa regulates gene expression activity through steric blocking or modulation of epigenetic modifications; C: (i) Single base editors enable single-base substitution by fusing deaminases to dCas9: Cytosine base editors (CBEs) deaminate cytosine (C) to uracil (U), which is recognized as thymine (T) during DNA replication; Adenine base editors (ABEs) deaminate adenine (A) to inosine (I), which is recognized as guanine (G) during DNA replication; (ii) Dual base editors harbor both deaminases, allowing simultaneous C-to-T and A-to-G editing; D: Prime editing employs nCas9 to nick the genomic target, and a reverse transcriptase then introduces the repair sequence into the target site using a pegRNA as the template. CRISPR: clustered regularly interspaced short palindromic repeats; Cas9: CRISPR-associated protein 9; DSBs: double-stranded break; ZFN: zinc finger nuclease; TALEN: transcription activator-like effector nuclease; NHEJ: nonhomologous end joining; MMEJ: microhomology-mediated end joining; HDR: homology-directed repair; PAM: protospacer adjacent motif; REC: recognition domain; HNH: HNH nuclease domain; RuvC: RuvC nuclease domain; CRISPRi: CRISPR interference; CRISPRa: CRISPR activation; dCas9: dead Cas9; SAM: synergistic activation mediator; CBE: cytosine base editor; ABE: adenine base editor; nCas9: nickase Cas9; sgRNA: single-guide RNA; pegRNA: prime editing guide RNA; RT: reverse transcriptase.

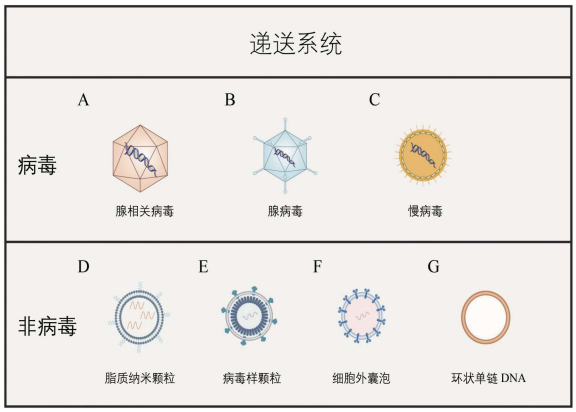



**图 2　基因治疗递送体系。**A：AAV 通过衣壳蛋白识别细胞表面受体实现转导，具有低免疫原性与长期表达优势，但装载容量受限（~4.7 kb）且 HSC 转导效率较低；B：AdV 为非整合型载体，工程化 HDAd5/35$^{++}$可靶向 CD46 受体并承载>30 kb 大片段，在 SCD 模型中实现高效体内 HSC 转导；C：LV 通过整合酶介导基因组整合，在体外 HSC 治疗中应用广泛；IDLV 以完整载体形式经 HDR 整合，显著改善 HSPC 长期植入能力；D：LNP 通过阳离子脂质包裹 mRNA 或 RNP，表面修饰 CD117 抗体实现骨髓 HSC 靶向，体内编辑效率可达 41%；E：VLP 模拟病毒结构但无基因组，工程化 eVLPs 通过优化 linker 切割与核定位信号使编辑器装载量提升 16 倍；F：EV 作为天然纳米载体，通过表面修饰靶向肽段可特异性递送基因编辑工具至 HSC；G：CssDNA 通过环化结构抵抗核酸酶降解，在 HSC 中实现>40% 敲入效率，且长期植入能力显著优于线性 DNA 与 AAV。AAV：腺相关病毒；AdV：腺病毒；LV：慢病毒；IDLV：整合酶缺陷型慢病毒；HDR：同源定向修复；LNP：脂质纳米颗粒；VLP：病毒样颗粒；EV：细胞外囊泡；CssDNA：环状单链 DNA；HSC：造血干细胞。

**Figure 2　Delivery system of gene therapy.** A: AAV transduces cells through capsid proteins recognizing surface receptors, offering low immunogenicity and long-term expression, but limited cargo capacity (~4.7 kb) and low HSC transduction efficiency; B: AdV as a non-integrating vector, with engineered HDAd5/35$^{++}$ targeting CD46 receptor, can carry large fragments (>30 kb), enabling efficient *in vivo* HSC transduction in SCD models; C: LV mediates genomic integration via integrase, widely used in ex vivo HSC therapy; IDLV integrates as intact vectors through HDR, significantly improving long-term HSPC engraftment capacity; D: LNP encapsulate mRNA or RNP with cationic lipids, and surface modification with CD117 antibodies enables bone marrow HSC targeting with 41% *in vivo* editing efficiency; E: VLP mimic viral structure without genomes; engineered eVLPs increase editor loading 16-fold through optimized linker cleavage and nuclear localization signals; F: EV as natural nanocarriers can specifically deliver gene editing tools to HSCs through surface-targeting peptide modification; G: CssDNA resists nuclease degradation through circularization, achieving >40% knock-in efficiency in HSCs with superior long-term engraftment compared to linear DNA and AAV. AAV: adeno-associated virus; AdV: adenovirus; LV: lentivirus; IDLV: integrase-deficient lentivirus; HDR: homology-directed repair; LNP: lipid nanoparticle; VLP: virus-like particle; EV: extracellular vesicle; CssDNA: circular single-stranded DNA; HSC: hematopoietic stem cell.

Frecha 等[20]首次在人源化小鼠模型中实现 LV 对 hCD34$^{+}$细胞的体内基因递送，通过静脉注射携带 GFP 基因的慢病毒，在骨髓中检测到 12% 的GFP$^{+}$细胞，证实了体内 HSC 基因递送的可行性。该研究为后续体内基因治疗奠定了概念基础，但较低的靶向效率和潜在的插入突变风险限制了其临床应用。使用 VSV-G 或其他包膜蛋白进行假型化或与靶向性纳米材料结合，能够提高其体内靶向性。递送方式的改善也可作为优化策略。Jang 等[21]研究了一种高密度转导与 LentiBOOST/CsH 组合的单步递送优化方案，已应用于修订版 X-SCID 临床试验（NCT01512888）。不同于传统的两步递送法，该策略简化生产流程，降低成本，同时能维持多谱系造血重建能力。

## 2.2　非病毒递送系统

电穿孔是体外递送 CRISPR 核糖核蛋白的最常用方法，具有瞬时、高效的优点，但可能对细胞活性造成一定冲击。2016 年 Bahal 团队[22]开发的 γ-肽核酸（γ-peptide nucleic acid，γPNA）纳米颗粒系统，在 β-地中海贫血小鼠模型中实现了 7% 的 HSC 基因校正效率，同时诱导 HbF 表达至 35%，显著改善了贫血表型且未观察到明显毒性。这种基于 γPNA 的纳米颗粒通过静电相互作用与 DNA 供体结合，实现了位点特异性基因编辑，为非病毒载体的临床转化提供了重要依据。脂质纳米颗粒（lipid nanoparticle，LNP）在 mRNA 疫苗中的成功，推动其成为体内递送基因编辑组件的热门载体。通过表面修饰靶向配体，LNP 可实现向骨髓 HSC 的主动靶向递送。最近研究报道的骨髓归巢 LNP，在小鼠和非人灵长类模型中实现了对 HSC 的高效体内编辑，为免于体外操作的一站式体内基因治疗奠定了概念基础。例如，Chappell 等[23]成功使用了靶向 CD117（c-Kit）的 LNP 来递送 Cre mRNA 至小鼠 HSC，实现了高效的基因敲除，这为递送基因编辑组件提供了概念验证。2024 年，Lian 等[24]报道的骨髓归巢脂质纳米颗粒将体内编辑效率提升至 41%。该系统通过表面修饰 CD117 抗体实现 HSC 靶向，在镰状细胞贫血模型中，单次静脉注射后可检测到2.43% 的 HbF 激活，脱靶率仅为 0.03%。值得注意的是，该 LNP 系统在非人灵长类动物中同样表现出良好的骨髓靶向性，为临床前研究向临床试验的转化搭建了桥梁。2025 年 Milani 团队[25]利用出生后

扫描阅读电子版

HSC 的天然归巢特性，开发了基于趋化因子梯度的体内编辑系统，通过调控基质细胞衍生因子-1/C-X-C 趋化因子受体 4（stromal cell-derived factor-1/C-X-C chemokine receptor 4，SDF-1/CXCR4）轴，将编辑工具定向递送至骨髓微环境，在新生小鼠模型中实现 8.5% 的 $GFP^+$ 细胞长期植入，且未影响 HSC 的自我更新能力。这种利用生理机制的递送策略为新生儿遗传性血液病的早期干预提供了新思路。

### 2.3 新型递送系统

随着基因编辑技术的发展，新型递送系统不断涌现，为 HSC 基因治疗提供了新的思路和方法。工程化病毒样颗粒（engineered virus-like particle，eVLPs）是一种具有病毒外壳但不含病毒基因组的纳米颗粒，能够高效递送基因编辑工具。v4 代 eVLPs通过 3 项关键优化策略显著提升递送效率：linker切割增强释放、核输出信号（nuclear export signal，NES）优化亚细胞定位、化学计量调整提高装载稳定性，使 BE 装载量提升 16 倍。研究[26]显示，eVLPs 可以有效递送 CRISPR-Cas9 系统到 HSC 中，实现高效的基因编辑，且免疫原性较低。

环状单链 DNA（circular single-stranded DNA，CssDNA）作为一种新型的基因递送载体，可以抵抗核酸酶的降解，延长在细胞内的表达时间，在 HSC 基因治疗中具有潜在的应用价值，具有较高的稳定性和显著的效率优势[27]。与线性单链 DNA（linear single-stranded DNA，LssDNA）相比，CssDNA 在 HSC 中实现 3 ~ 5 倍的基因插入效率，达到 40% 以上的敲入效率；与 AAV6 载体相比，CssDNA 编辑的 HSC 在 NCG 小鼠模型中显示出更高的植入率，长期 HSC 亚群数量增加 10 倍，同时骨髓黏附标志物如 CXCR4、CD44、F11R 等表达水平显著升高。CssDNA可插入基因长度为0.6 ~2.2 kb，适用于 HSC 等多种细胞类型的基因编辑。此外，细胞外囊泡作为一种天然的纳米载体，具有良好的生物相容性和靶向性，在 HSC 基因递送中展现出独特优势。通过工程化改造细胞外囊泡，可以提高其对 HSC 的靶向递送效率[28]。新型递送系统（如 eVLPs 和 CssDNA 等）目前仍处于研究阶段，其临床转化面临着递送效率、靶向性和长期安全性等方面的挑战。未来需要进一步优化其结构和功能，以推动其在 HSC 基因治疗中的应用。

### 2.4 体内基因治疗

体内 HSC 基因治疗通过直接靶向骨髓或循环中的 HSC，避免了传统体外基因治疗的 HSPC 采集、培养及清髓预处理等环节，为遗传性血液病的治疗提供了更简便、安全的策略。新型体内递送策略通过 LNP 包裹 mRNA 靶向 HSC，结合非清髓预处理，例如低剂量白消安，可减少毒性。靶向 CD117（c-Kit）的抗体偶联 LNP 可高效递送 mRNA 至骨髓 HSPC。Shi 等[29]开发的抗 CD117-LNP 在小鼠中实现 Cre mRNA 的高效递送，90% 的 LT-HSC 被编辑，且外周血髓系细胞、B 细胞和 T 细胞的编辑效率分别达 90%、70% 和 50%。该系统在 Fanconi 贫血模型中通过递送 FANCA mRNA，使造血重建率提升至 80%，避免骨髓衰竭[25]。

双模块 HDAd5/$35^{++}$腺病毒载体通过静脉注射靶向 HSC，在 SCD 小鼠模型中实现 *HBB* 基因修正，血红蛋白水平恢复至正常的 80%，且无明显肝毒性。HDAd5/$35^{++}$载体因 $30^+$ kb 的高容量、靶向 CD46 受体及低免疫原性，成为体内 HSC 转导的核心工具。通过 Sleeping Beauty 转座酶介导的随机整合或 CRISPR-Cas9介导的基因编辑，HDAd 可实现长效治疗效果。例如，Li 等[30]设计的双模块HDAd-combo载体在 SCD 小鼠模型中同时递送γ-珠蛋白基因和 HBG 启动子编辑模块，使红细胞中γ-珠蛋白表达达到 30%，完全纠正镰状表型，且整合位点分析未发现克隆优势或致癌风险。在β-地中海贫血模型中，HDAd-SB 系统通过 MGMT（P140K）介导的 $O^6$-BG/BCNU筛选，使γ-珠蛋白占小鼠α-珠蛋白的 10% ~15%，显著改善无效造血和铁过载[31]。

体内基因治疗和下一代基因编辑技术的结合提升了治疗优势。Prime Editor 通过逆转录酶介导的精准碱基替换，在 SCD 模型中实现 $\beta^6$Val→$\beta^6$Glu 的直接修正。Li 等[32]使用 HDAd5/$35^{++}$递送 PE5max 系统，在 CD46/Townes 小鼠中纠正 40% 的 βS 等位基因，HbA 占比达 43%，且插入缺失率<1.5%，脱靶效应显著低于 Cas9。此外，ABE8e 等靶向 HBG 启动子的 BE 可破坏 BCL11A 结合位点，在β-YAC小鼠中使γ-珠蛋白表达提升至 25%，且无需外源基因整合[30]。

目前体内基因治疗在整合安全性、免疫原性与毒性、临床转化等方面仍然存在技术挑战。SB 转座酶介导的整合在小鼠和非人灵长类中表现为随机分布，64% 位于基因间区，34% 位于内含子，未发现近癌基因整合[33]。HDAd 载体的非整合特性进一步降低插入突变风险，但其短期表达可能限制编辑效率。HDAd 输注后通过糖皮质激素预处理可将白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）水平控制在20 pg/mL以下，而 LNP 系统因可降解脂质成分，在灵长类中丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）/天门冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase，AST）正常，未观察到肝毒性。但需注意 CD117 靶向 LNP 可能导致皮肤黑素细胞和肠道 Cajal 细胞的脱靶递送[29]。另外，成人 HSC 静息状态导致 LNP 摄取率仅为新生儿的1/5，需联合 G-CSF/AMD3100 动员，使循环 HSPC 增加 100 倍[33]；PE 在人 HSPC 中的编辑效率为 3% ~5%，仍低于临床需求，需通过 epegRNA 优化或 Cas9 高保真变体提升[32]。

## 3　基础研究与临床前研究

HSC 基因治疗的临床转化过程充满了机遇与挑战。尽管精准基因编辑技术为遗传性血液病的根治带来了希望，但从实验室研究到临床应用的路径并非一帆风顺，其中涉及多重技术瓶颈、严格的监管要求以及深远的伦理考量。安全性风险是 HSC 基因编辑临床应用的主要障碍，包括脱靶效应和靶向毒性两大类。脱靶效应指 Cas9 在非目标位点的切割，可能导致抑癌基因失活或原癌基因激活；而靶向毒性主要源于 DNA 双链断裂修复过程中产生的大片段缺失和染色体易位。近期研究[18]发现，AAV 载体作为 HDR 模板递送时，会在编辑位点引发高频插入突变，其发生率是质粒模板的 3.2 倍。这种载体相关毒性与 AAV 基因组整合倾向密切相关，提示需重新评估 AAV 在 HSC 编辑中的适用性。

### 3.1　SCD 与 β-地中海贫血

SCD 是一种常染色体隐性遗传病，病因是 HBB 发生 A→T 突变，导致患者血红蛋白 S（hemoglobin S，HbS）结构异常，在去氧状态下聚合形成纤维，使红细胞变成镰刀形，而镰形红细胞容易破裂溶血、堵塞血管，引发贫血、疼痛危象、器官损伤、感染等并发症。新生儿不会出现 SCD 症状，直到出生 6 个月后 HbF 逐渐被成人血红蛋白（HbA）替代，症状才显现；而携带“遗传性胎儿血红蛋白持续存在”的 SCD 患者，HbF 终身维持高水平，症状极轻微[9]。之前的研究[9]也证实了高浓度的 HbF 能有效阻止 HbS 聚集，从而使红细胞镰变概率变低、症状轻微，提高患者生存率。

输血依赖型地中海贫血（transfusion-dependent thalassemia，TDT）也是一种常染色体隐性遗传病，它是由于 *HBB* 基因突变导致珠蛋白链合成障碍的遗传性溶血性疾病，患者婴儿期出现贫血症状，需定期输血维持生命，但长期输血可能引发铁过载等并发症。HbF 的表达可以代偿正常造血，改善患者生存情况。这两种 β-血红蛋白病都可以通过提高患者体内 HbF 水平来代偿异常血红蛋白的功能，重建正常造血，从而实现临床治愈。成人 HbF 水平 60% ~90% 由遗传决定，仅 50% 可由三大关键位点解释，分别是 β-珠蛋白基因簇、HBS1L-MYB 以及 BCL11A[9]。BCL11A 作为 HbF 的核心抑制因子，敲除其是目前治疗β-血红蛋白病的核心策略，在基础研究和临床研究中都取得了不错的进展。

通过 CRISPR/Cas9 系统编辑 HSC 的 BCL11A 红系增强子，辅以电穿孔递送，可以观察到在两种疾病中，β-地中海贫血细胞 HbF 显著升高、珠蛋白链失衡纠正；SCD 细胞抗镰变能力大幅提升，镰变率近乎为 0，提示编辑后治疗效果良好，且编辑后的 HSC 植入小鼠 16 周仍保持 96.5% 的编辑效率，二次移植后编辑效率仍能保持，高效性和持久性俱佳[10]。此外应用碱基编辑方法修饰 BCL11A 的表达在β-血红蛋白病的小鼠中也得到了类似的效果[12]。在小鼠的异种移植中验证了编辑的有效性，但小鼠造血系统与人类差异大，且不能模拟长期植入和正常造血重建；而恒河猴作为非人灵长类动物，具有和人类相似的血红蛋白开关，是更为理想的临床前模型，在恒河猴体中进行的试验表明编辑 BCL11A 的红系增强子的 HSC 可以在恒河猴体内长期存活，并高效诱导 HbF，无脱靶效应和贫血等毒性，支持该策略用于β-血红蛋白病的临床转化[11]，为血液系统疾病基因治疗提供了模板。另外还有双模块

HDAd5/35$^{++}$载体通过 SB100x 介导的γ-珠蛋白基因添加+CRISPR-Cas9 介导的内源性 γ-珠蛋白激活，在 SCD 小鼠模型中实现γ-珠蛋白表达达到 30%，完全纠正表型，达到治愈效果[27]。

### 3.2 FA

FA 是一种遗传性骨髓衰竭综合征，由至少 22 个 FA 互补组（FA Complementation Group，FANC）基因突变导致，60% 的患者为 FANCA 突变（FA-A 亚型）。其核心缺陷是 DNA 交联修复异常，患者 HSC 对 DNA 损伤和氧化应激极其敏感，，从而导致骨髓衰竭，传统治疗手段有限。利用 ZFN 介导的基因编辑，在 FA-A 患者的 CD34$^+$造血祖细胞中实现了治疗性 FANCA 基因的定点插入 AAVS1 中，通过小鼠移植实验和二次移植，检测编辑细胞的造血重建能力和长期 HSC 活性，编辑后 FA 通路功能完全恢复纠正细胞表型缺陷，为 FA 的临床基因治疗提供了关键实验依据[34]。但目前此疗法还有一定的局限性，需要提升编辑效率和优化启动子设计，推进临床转化，开展编辑后细胞的自体移植临床试验。

### 3.3 重症先天性中性粒细胞减少症

重症先天性中性粒细胞减少症（severe congenital neutropenia，SCN）是一种罕见遗传性疾病，约 50% 的患者是由 *ELANE* 基因显性突变导致产生异常中性粒细胞弹性蛋白酶，触发未折叠蛋白反应，导致中性粒细胞成熟受阻，循环中性粒细胞数量极低，婴儿期就面临致命感染，且有一定的概率会进展成骨髓增生异常综合征或急性髓系白血病。通过“CRISPR/Cas9 基因编辑+原代 HSC 筛选+异种移植”模型，成功鉴定致病区域，明确无义介导的 mRNA 降解（nonsense-mediated mRNA decay，NMD）是 *ELANE* 突变致病性的关键调控点，并在小鼠模型中成功建立人类 SCN 异种移植模型，提出通用治疗策略，即无需针对单个 *ELANE* 突变设计模板，只需编辑早外显子触发 NMD，即可适用于所有 *ELANE* 突变型 SCN[31]。该研究虽受限于技术的局限，具体分子机制还有待完善，但填补了 SCN 动物模型的空白，建立了人类疾病模型，提出了通用、高效的 HSC 基因治疗策略。

### 3.4 HA

HA 是一种遗传性出血性疾病，呈 X 染色体连锁隐性遗传。临床上主要表现为 FVIII 质或量的异常。临床表现以关节、肌肉、内脏和深部组织自发性或轻微外伤后出血难以停止为特征，常在儿童期起病，反复关节出血可导致患者逐渐出现关节活动障碍而致残。通过构建 CD68-ET3-LV 体外转导 CD34$^+$HSPCs，移植入 HA 小鼠后 8 周，白细胞、淋巴细胞等血液指标恢复至正常水平，无造血重建障碍，FVIII 活性达 0.165 IU/mL，即正常水平的 20%，15 周仍稳定在 0.202 IU/mL，且二次移植后仍能检测到 FVIII 表达，证明存在长期疗效，并通过移植到人源化免疫缺陷小鼠验证人细胞兼容性[32]，为临床治疗严重 HA 提供了新范式。随着基因组学技术的进步和研究人员思路的拓展，越来越多的治疗策略不断涌现，各种疾病基因治疗方案的基础研究和临床前验证呈现百花齐放的态势，为基因编辑治疗技术临床化提供了更多的证据和方法。

## 4 临床试验与上市药物

在一代代研究者的努力下，新型基因编辑工具与递送体系的出现，基因治疗创新性药物也日趋完善。基因治疗从 1990 年首次临床试验至今，已从基础研究走向临床应用，遗传性疾病和癌症是主要应用领域，目前基因治疗已进入获批产品爆发期，临床试验与上市药物正不断涌现，彰显着基因治疗领域欣欣向荣，为更多难治性疾病的患者带来痊愈的曙光。

### 4.1 临床试验

当前 HSC 基因治疗主要分为 CRISPR-Cas9 编辑与 LV 转导两大技术路径，均以自体 CD34$^+$ HSC 为改造对象，避免免疫排斥风险。

CRISPR-Cas9 编辑疗法是目前进展最快的方向，通过靶向编辑 BCL11A 红系增强子，激活 HbF 表达以替代缺陷血红蛋白。已完成的Ⅲ期试验 NCT03745287（SCD）与 NCT03655678（TDT）奠定了其临床价值：前者纳入 44 例 SCD 患者，中位随访 19.3 个月时，97% 的患者实现 12 个月以上无严重血管闭塞危象（vaso-occlusive crisis，VOC），所有患者无需因 VOC 住院，中性粒细胞与血小板均成功植入，安全性与清髓预处理相关，无癌症等严重不良事件报告。基于这些数据，CTX001 已在美国、欧盟等获批上市（商品名 Casgevy），全球近 300 例患者启动治疗流程，2025 年前三季度完成 110 例细

胞采集，预计全年收入突破 1 亿美元。

为拓展适用人群，多项临床试验聚焦特殊群体：NCT05356195 与 NCT05329649 分别针对儿童 TDT 与羟基脲失败/不耐受的儿科 SCD 患者，填补了儿科治疗空白；NCT05951205 首次探索 HbSC 基因型（SCD 轻中度亚型）的疗效，覆盖更广泛的基因突变类型；NCT05477563 则同时纳入 TDT 与 SCD 患者，简化临床试验设计并加速数据积累。长期随访研究 NCT04208529 将持续追踪至 2039 年，为疗效持久性与长期安全性提供关键证据。LV 转导疗法以 NCT04293185 为代表，采用 BB305 载体导入βA-T87Q 珠蛋白基因（药物名 Lyfgenia），针对 SCD 患者的Ⅲ期试验招募 35 例成人与儿科患者，主要终点为 6 ~ 18 个月严重 VOC 完全缓解率，次要终点包括血红蛋白应答与年化 VOC 发生率下降，预计 2026 年完成主要终点评估。NCT05265767 用 CD68 - ET3 - LVLV 转导的自体 $CD34^+$ HSC 治疗重度 HA，安全性良好，能稳定表达治疗级别的 FVIII，完全消除自发出血；转导增强剂可显著提升疗效，且不增加安全风险。NCT04105166 使用含有修正丙酮酸激酶缺乏症（pyruvate kinase deficiency，PKD）基因的自体基因改造 $CD34^+$ HSC（RP-L301），评估RP-L301在 PKD 患者中的安全性和耐受性，进展结果显示，治疗后患者输血依赖性显著降低，丙酮酸激酶活性持续改善，且无严重治疗相关不良事件，为治愈 PKD 提供了良好范例。在 WAS 方面，NCT03837483 使用经 LV 转导携带正常 WAS 基因的自体 $CD34^+$ HSC（OTL-103），评估 OTL-103 在 WAS 患者中的安全性和耐受性，以及治疗后 WAS 蛋白表达水平的恢复情况，结果显示 WAS 患者症状改善，相关指标回升，基本达到临床治愈，且安全性良好，主要不良反应与预处理相关，无严重治疗相关并发症。LV 转导技术与 CRISPR 编辑形成互补，为各种难治性疾病的治疗提供了新范式，同时也为不同患者提供了多元选择。此外，还有新兴的碱基编辑技术，在临床试验的应用中如火如荼。NCT06959771 采用在 CD40L-HIGM 综合征患者中进行碱基编辑干细胞和碱基编辑 T 细胞，来验证碱基编辑能否实际应用于 CD40L-HIGM 综合征的治疗。NCT06851767 针对 18 例X-SCID 参与者，单次输注自身 HSC/前体细胞，经过碱基编辑修复白细胞介素 2 受体共同γ链（interleukin 2 receptor subunit gamma，IL2RG）突变（BE-HSPC IL2RG），评估 BE-HSPC IL2RG 治疗 X-SCID 患者的疗效。NCT06325709 旨在确定单次碱基编辑自体 HSPCs 输注治疗 X 连锁慢性肉芽肿病（X-linked chronic granulomatous disease，X-CGD）的安全性和疗效，了解碱基编辑干细胞是否能改善患者的白细胞功能，减少 CGD 相关感染。NCT05456880 使用碱基编辑技术精确修饰 *HBG1/2* 基因启动子区域，抑制转录抑制因子 BCL11A 结合。评估自体 $CD34^+$ 碱基编辑 HSC（BEAM-101）在 SCD 及严重血管阻塞性危机患者中的安全性和有效性，目前已公布的结果显示 HbF 呈全细胞分布，且水平均高于镰变阈值，无患者在植入后出现重度 VOC，溶血指标和氧输送能力恢复正常或显著改善。碱基编辑技术的出现与临床应用为自体干细胞基因治疗提供了更加精准的编辑方法，理论上降低了基因毒性风险。

这些临床试验在后续的基因治疗临床化推广中提供了重要价值。CTX001 实现 SCD 患者 VOC 的显著抑制与 TDT 患者输血独立性，HbF 表达持续维持治疗水平，解决了传统治疗无法根治的痛点。从成人拓展至儿科患者，从典型 SCD（βS/βS）与 TDT 延伸至 HbSC 基因型，覆盖羟基脲治疗失败等难治人群，满足临床未被满足需求。CRISPR 编辑未发现脱靶效应与癌症风险，LV 转导也未报告严重安全性隐患，为基因治疗的临床推广奠定了基础，碱基编辑火热进行，为精准医疗的发展添砖加瓦。未来临床试验将聚焦三大方向：缩短细胞制造周期、开发非清髓预处理方案、拓展至更年轻患者，同时通过真实世界研究积累长期数据。随着报销政策完善与治疗中心扩容，HSC 基因治疗有望从突破性疗法转变为标准治疗，为难治性遗传病患者带来治愈希望。

### 4.2　上市药物

由于基因治疗的特殊性，上市药物的准许较为严格，HSC 基因治疗的上市药物还比较有限，在临床应用及推广中也存在一定的问题和挑战。目前已获批、在售的 HSC 基因治疗的药物〔美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）/欧洲药品管理局（European Medicines Agency，EMA）〕见表 1。其中，部分药物如蓝鸟公司旗下全部药物，因定价或安全性等问题已从欧洲市场全面撤市，但

在美国仍在销售或受限销售。此外还有一些未获批但已完成Ⅲ期临床的 HSC 基因治疗药物，如 Etice-tacogene deklotigene 和 Etuvetidigene autotemcel，也在为获批上市积极努力。

## 5 未来展望

HSC 基因治疗领域正处于高速发展的关键时期，未来将围绕技术创新、递送优化、联合治疗及全球合作等多个维度展开。

### 5.1 技术创新

提高基因编辑的精准性、效率和安全性是未来技术发展的核心。通过智能化编辑工具的开发，有望克服现有 CRISPR-Cas9 系统的局限，实现对基因组的更精细操作。为了降低脱靶效应并扩展基因编辑的靶向范围，研究人员[33]正持续通过蛋白质工程改造 Cas 核酸酶。例如，对 Cas9 变体进行改造，如开发 xCas9 和 SpCas9-NG 等，可以使其对 PAM 序列的兼容性更广，从而能够靶向更多基因组位点，同时显著降低脱靶效应，提高编辑的特异性。此外，新兴的 PE 系统也通过模块化设计实现高效基因组编辑，例如 SunTag PE 系统，通过抗体-抗原结合机制增强了逆转录酶的招募，使得编辑效率相比传统 PE 系统提升了 5 倍，为实现更精准、更复杂的基因修复提供了新的工具[35-36]。人工智能和机器学习技术将在未来基因编辑工具的开发中扮演越来越重要的角色。深度学习模型能够通过分析大量的基因组数据，精确预测 sgRNA 的脱靶风险，并优化其编辑效率[37]。结合单细胞测序数据，人工智能可以帮助研究者设计出最优化的基因编辑方案，从而最大限度地提高治疗效果，同时降低潜在的副作用。此外，像 AlphaFold2 这样的人工智能辅助蛋白质结构预测工具，能够极大地加速对 Cas 蛋白的理解和改造，从而更快地开发出高保真和高特异性的新型 Cas 酶变体，推动基因编辑技术的迭代升级[38]。通过人工智能的赋能，基因编辑将从经验驱动转向数据驱动，实现真正的智能化设计和优化。

**表 1 目前已获批、在售的造血干细胞基因治疗的药物**

**Table 1 Currently approved and marketed hematopoietic stem cell gene therapy products**

| 商品名 | 批准机构 | 批准时间 | 适应证 | 技术路线 | 制造商 |
|---|---|---|---|---|---|
| Casgevy | FDA | 2023.12.8 | 12 岁⁺镰状细胞贫血输血依赖型 β-地中海贫血 | CRISPR-Cas9 编辑 BCL11A 增强子 | Vertex |
| Lyfgenia | FDA | 2023.12.8 | 12 岁⁺镰状细胞贫血有血管闭塞危象史 | 慢病毒载体 βA-T87Q-珠蛋白基因 | Bluebird Bio |
| Zynteglo | FDA | 2022.8.17 | 输血依赖型 β-地中海贫血 | 慢病毒载体功能性 β-珠蛋白基因 | Bluebird Bio |
| Skysona | FDA | 2022.9.16 | 4～17 岁早期活动性肾上腺脑白质营养不良 | 慢病毒载体 *ABCD1* 基因 | Bluebird Bio |
| Libmeldy/Lenmeldy | EMA<br>FDA | 2020.12<br>2024.3.18 | 异染性脑白质营养不良 | 慢病毒载体<br>*ARSA* 基因 | Orchard Therapeutics |
| Zemcelpro | EMA | 2025.6 | 成人血液恶性肿瘤需异基因 HSCT 无可匹配供体 | 脐带血干细胞未扩增 | ExCellThera |
| RegeneCyte™ | FDA | 2024.12 | 非亲缘供体造血祖细胞移植用于造血和免疫重建 | 脐带血干细胞 | StemCyte |
| ALLOCORD | FDA | 2011.2 | 造血系统疾病的造血和免疫重建 | 脐带血干细胞 | SSM Cardinal Glennon Children's Medical Center |
| CLEVECORD | FDA | 2016.9.12 | 造血系统疾病的造血和免疫重建 | 脐带血干细胞 | Cleveland Cord Blood Center |
| DUCORD | FDA | 2008 | 造血系统疾病的造血和免疫重建 | 脐带血干细胞 | Duke University School of Medicine |
| HEMACORD | FDA | 2011.11.10 | 造血系统疾病的造血和免疫重建 | 脐带血干细胞 | New York Blood Center |
| OMISIRGE | FDA<br>EMA | 2023.4.17<br>2023.11.29 | 12 岁及以上的成人及儿童血液恶性肿瘤 | 烟酰胺修饰的同种异体造血祖细胞疗法 | Gamida Cell |

FDA：食品药品监督管理局；EMA：欧洲药品管理局；HSCT：造血干细胞移植；CRISPR：成簇规律间隔短回文重复序列；Cas9：CRISPR 相关蛋白 9。

FDA: Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; CRISPR: clustered regularly interspaced short palindromic repeats; Cas9: CRISPR associated protein 9.

### 5.2　递送突破

基因编辑工具的有效递送是临床转化的关键瓶颈之一。未来，非病毒递送系统将迎来革新，以解决病毒载体面临的免疫原性、安全性和生产成本等问题。LNP 作为一种非病毒载体，已在 mRNA 疫苗和基因治疗中展现出巨大潜力。未来，刺激响应型 LNP 将成为重点发展方向。例如，pH 敏感型 LNP 能够在外吞体的酸性环境中触发，精确地释放所包裹的基因编辑工具，从而在提高细胞内吞效率的同时，减少编辑工具在非靶细胞中的释放，降低脱靶效应[39]。研究[39]显示，这种 pH 敏感型 LNP 能够将 HSC 的编辑率提高 30% 以上。此外，结合超声靶向破坏技术，可以对 LNP 的释放进行时空精确控制，进一步提升递送的特异性和安全性。这些智能化递送策略将有助于实现更精准、更局部的基因编辑。

外泌体作为一种由细胞分泌的天然纳米囊泡，因其生物相容性好、免疫原性低且具有跨膜递送能力，被视为极具前景的基因编辑工具递送平台。未来，工程化外泌体将通过表面修饰，如负载特定的靶向肽，从而实现对 HSC 的特异性递送。在小鼠模型中，经过 $CD34^+$ 靶向肽修饰的外泌体已能达到 45% 的 HSC 编辑效率，预示了其在临床应用中的巨大潜力[40]。此外，利用微生物作为基因编辑载体也正在探索中。减毒沙门氏菌载体具有独特的能力，能够穿透骨髓屏障，在猕猴模型中实现 HSC 的原位编辑[41]。这种体内递送策略有望避免复杂的体外 HSC 操作过程，从而简化治疗流程，降低成本，并维持 HSC 的生理活性。

### 5.3　联合治疗策略

未来的 HSC 基因治疗可能不再局限于单一的基因编辑，而是结合多种治疗手段，以实现更优的临床效果和更持久的治疗应答。在 HSC 基因治疗中，通过基因编辑联合过表达 IL-15 等细胞因子，可能促进自然杀伤细胞的重建，进而降低移植排斥的风险，或增强对残留恶性细胞的清除，从而为治疗遗传性血液病患者提供更强大的免疫学支持[42]。这种策略有望提高 HSC 移植的成功率，并减少并发症。针对某些复杂的遗传性血液病，单一基因靶点的编辑可能不足以达到最佳治疗效果。未来的趋势是采用多靶点协同编辑策略，同时修复或调节多个基因位点，以实现更强大的治疗效果。例如，在治疗 SCD 和β-地中海贫血时，同时编辑 *BCL11A* 基因和 HBG 启动子，可以叠加激活 HbF 的表达，从而使 HbF 的水平较单靶点编辑提升 2 倍，更有效地替代有缺陷的成人血红蛋白功能[43]。

### 5.4　临床转化的标准化与国际化

为推动 HSC 基因治疗在全球范围内的健康、高效发展，实现临床转化的标准化和国际化是必由之路。建立全球统一的 HSC 编辑疗效评价标准有助于不同临床试验之间的数据比较，加速知识共享，并为监管机构的审批提供更可靠的依据。推动多中心临床试验的数据共享机制，有助于汇总和分析来自世界各地患者的临床数据，从而更快地识别疗效与安全性信号，缩短新疗法的开发周期，还能促进对罕见不良事件的监测，并为真实世界证据的生成提供基础。世界卫生组织等机构正在积极制定《基因治疗全球监管框架》，旨在规范从临床前研究、临床试验设计到上市后监测的全流程[44]。这一框架将提供国际通用的指导原则，协调各国监管政策，促进技术转移，并确保基因治疗的全球可及性和公平性。通过标准化和国际化，HSC 基因治疗有望加速惠及全球患者，共同开启遗传性血液病的治愈时代。HSC 基因治疗作为一种变革性疗法，已经从早期的概念验证迈向了具有实际临床影响的时代。Zynteglo和 CTX001 等疗法的成功获批，不仅标志着精准基因编辑技术在遗传性血液病治疗史上树立了里程碑，也为无数患者带来了摆脱终身输血或疾病困扰的希望。这些突破性进展极大地鼓舞了整个基因治疗领域，预示着一个精准治愈的时代正加速到来。

然而，通往全面临床普及的道路上仍存在诸多挑战。如何进一步控制脱靶效应、优化递送效率以维持 HSC 的干性，以及有效管理宿主的免疫反应，仍然是亟待解决的核心科学问题。此外，生殖细胞编辑的全球禁令以及增强型编辑所引发的争议，划

定了基因技术应用的道德红线。解决治疗费用高昂和技术资源分配不均所导致的可及性与公平性问题更是迫在眉睫的挑战。展望未来，HSC 基因治疗领域将持续创新。智能化编辑工具和非病毒递送系统正朝着更安全、更高效、更具成本效益的方向发展。联合治疗策略有望实现更强大、更持久的治疗效果。最终，全球范围内的标准化临床转化流程和国际化合作，将是确保这些前沿技术负责任地发展并惠及全人类的关键。通过基础研究、临床应用与伦理规范的深度融合，HSC 基因治疗有望在不久的将来，为遗传性血液病患者提供真正意义上的治愈，谱写人类健康的新篇章。

## 参考文献


1 Ferrari G, Thrasher AJ, Aiuti A. Gene therapy using haematopoietic stem and progenitor cells[J]. Nat Rev Genet, 2021, 22(4): 216-234. doi: 10.1038/s41576-020-00298-5.

2 Frangoul H, Locatelli F, Sharma A, *et al*. Exagamglogene autotemcel for severe sickle cell disease[J]. N Engl J Med, 2024, 390(18): 1649-1662. doi: 10.1056/NEJMoa2309676.

3 Yen A, Zappala Z, Fine RS, *et al*. Specificity of CRISPR-Cas9 editing in exagamglogene autotemcel[J]. N Engl J Med, 2024, 390(18): 1723-1725. doi: 10.1056/NEJMc2313119.

4 Locatelli F, Lang P, Wall D, *et al*. Exagamglogene autotemcel for transfusion-dependent β-thalassemia[J]. N Engl J Med, 2024, 390(18): 1663-1676. doi: 10.1056/NEJMoa2309673.

5 Hacein-Bey-Abina S, Hauer J, Lim A, *et al*. Efficacy of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency[J]. N Engl J Med, 2010, 363(4): 355-364. doi: 10.1056/NEJMoa1000164.

6 Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, *et al*. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1[J]. J Clin Invest, 2008, 118(9): 3132-3142. doi: 10.1172/JCI35700.

7 Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, *et al*. Gene therapy in patients with transfusion-dependent β-thalassemia[J]. N Engl J Med, 2018, 378(16): 1479-1493. doi: 10.1056/NEJMoa1705342.

8 Srivastava A, Abraham A, Aboobacker F, *et al*. Lentiviral gene therapy with CD34$^+$ hematopoietic cells for hemophilia A[J]. N Engl J Med, 2025, 392(5): 450-457. doi: 10.1056/NEJMoa2410597.

9 Lettre G, Bauer DE. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: from genetic epidemiology to new therapeutic strategies[J]. Lancet, 2016, 387(10037): 2554-2564. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01341-0.

10 Wu Y, Zeng J, Roscoe BP, *et al*. Highly efficient therapeutic gene editing of human hematopoietic stem cells[J]. Nat Med, 2019, 25(5): 776-783. doi: 10.1038/s41591-019-0401-y.

11 Demirci S, Zeng J, Wu Y, *et al*. BCL11A enhancer-edited hematopoietic stem cells persist in rhesus monkeys without toxicity[J]. J Clin Invest, 2020, 130(12): 6677-6687. doi: 10.1172/JCI140189.

12 Zeng J, Wu Y, Ren C, *et al*. Therapeutic base editing of human hematopoietic stem cells[J]. Nat Med, 2020, 26(4): 535-541. doi: 10.1038/s41591-020-0790-y.

13 Querques I, Mades A, Zuliani C, *et al*. A highly soluble Sleeping Beauty transposase improves control of gene insertion[J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(12): 1502-1512. doi: 10.1038/s41587-019-0291-z.

14 Holstein M, Mesa-Nunez C, Miskey C, *et al*. Efficient non-viral gene delivery into human hematopoietic stem cells by minicircle Sleeping Beauty transposon vectors[J]. Mol Ther, 2018, 26(4): 1137-1153. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.01.012.

15 Chen Y, Luo S, Hu Y, *et al*. All-RNA-mediated targeted gene integration in mammalian cells with rationally engineered R2 retrotransposons[J]. Cell, 2024, 187(17): 4674-4689.e18. doi: 10.1016/j.cell.2024.06.020.

16 Wang D, Zhang F, Gao G. CRISPR-based therapeutic genome editing: strategies and *in vivo* delivery by AAV vectors[J]. Cell, 2020, 181(1): 136-150. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.023.

17 Rai R, Romito M, Rivers E, *et al.* Targeted gene correction of human hematopoietic stem cells for the treatment of Wiskott-Aldrich Syndrome[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 4034. doi: 10.1038/s41467-020-17626-2.

18 Ferrari S, Jacob A, Cesana D, *et al.* Choice of template delivery mitigates the genotoxic risk and adverse impact of editing in human hematopoietic stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2022, 29(10): 1428-1444. e9. doi: 10.1016/j.stem.2022.09.001.

19 Yang H, Qing K, Keeler GD, *et al.* Enhanced transduction of human hematopoietic stem cells by AAV6 vectors: implications in gene therapy and genome editing[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 20: 451-458. doi: 10.1016/j.omtn.2020.03.009.

20 Frecha C, Fusil F, Cosset FL, *et al.* *In vivo* gene delivery into hCD34$^+$ cells in a humanized mouse model[J]. Methods Mol Biol, 2011, 737: 367-390. doi: 10.1007/978-1-61779-095-9_15.

21 Jang Y, Kim YS, Wielgosz MM, *et al.* Optimizing lentiviral vector transduction of hematopoietic stem cells for gene therapy[J]. Gene Ther, 2020, 27(12): 545-556. doi: 10.1038/s41434-020-0150-z.

22 Bahal R, Ali McNeer N, Quijano E, *et al.* *In vivo* correction of anaemia in β-thalassemic mice by γPNA-mediated gene editing with nanoparticle delivery[J]. Nat Commun, 2016, 7: 13304. doi: 10.1038/ncomms13304.

23 Chappell ME, Breda L, Tricoli L, *et al.* Use of HSC-targeted LNP to generate a mouse model of lethal α-thalassemia and treatment via lentiviral gene therapy[J]. Blood, 2024, 144(15): 1633-1645. doi: 10.1182/blood.2023023349.

24 Lian X, Chatterjee S, Sun Y, *et al.* Bone-marrow-homing lipid nanoparticles for genome editing in diseased and malignant haematopoietic stem cells[J]. Nat Nanotechnol, 2024, 19(9): 1409-1417. doi: 10.1038/s41565-024-01680-8.

25 Milani M, Fabiano A, Perez-Rodriguez M, *et al.* *In vivo* haemopoietic stem cell gene therapy enabled by postnatal trafficking[J]. Nature, 2025, 643(8073): 1097-1106. doi: 10.1038/s41586-025-09070-3.

26 Banskota S, Raguram A, Suh S, *et al.* Engineered virus-like particles for efficient *in vivo* delivery of therapeutic proteins[J]. Cell, 2022, 185(2): 250-265. e16. doi: 10.1016/j.cell.2021.12.021.

27 Letort G, Duclert A, Le Clerre D, *et al.* Circular single stranded DNA potentiates non-viral gene insertion in hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 10125. doi: 10.1038/s41467-025-66318-2.

28 Elsharkasy OM, Hegeman CV, Driedonks TAP, *et al.* A modular strategy for extracellular vesicle-mediated CRISPR-Cas9 delivery through aptamer-based loading and UV-activated cargo release[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 10309. doi: 10.1038/s41467-025-65995-3.

29 Shi D, Toyonaga S, Anderson DG. *In vivo* RNA delivery to hematopoietic stem and progenitor cells via targeted lipid nanoparticles[J]. Nano Lett, 2023, 23(7): 2938-2944. doi: 10.1021/acs.nanolett.3c00304.

30 Li C, Wang H, Georgakopoulou A, *et al.* *In vivo* HSC gene therapy using a bi-modular HDAd5/35$^{++}$ vector cures sickle cell disease in a mouse model[J]. Mol Ther, 2021, 29(2): 822-837. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.09.001.

31 Wang H, Georgakopoulou A, Psatha N, *et al.* *In vivo* hematopoietic stem cell gene therapy ameliorates murine thalassemia intermedia[J]. J Clin Invest, 2019, 129(2): 598-615. doi: 10.1172/JCI122836.

32 Li C, Georgakopoulou A, Newby GA, *et al.* *In vivo* HSC prime editing rescues sickle cell disease in a mouse model[J]. Blood, 2023, 141(17): 2085-2099. doi: 10.1182/blood.2022018252.

33 Richter M, Saydaminova K, Yumul R, *et al.* *In vivo* transduction of primitive mobilized hematopoietic stem cells after intravenous injection of integrating adenovirus vectors[J]. Blood, 2016, 128(18): 2206-2217. doi: 10.1182/blood-2016-04-711580.

34 Diez B, Genovese P, Roman-Rodriguez FJ, *et al.* Therapeutic gene editing in CD34$^+$ hematopoietic progenitors from Fanconi anemia patients[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9

(11): 1574-1588. doi: 10.15252/emmm.201707540.

35 Rao S, Yao Y, Soares de Brito J, *et al.* Dissecting ELANE neutropenia pathogenicity by human HSC gene editing[J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(5): 833-845. e5. doi: 10.1016/j.stem.2020.12.015.

36 Doering CB, Denning G, Shields JE, *et al.* Preclinical development of a hematopoietic stem and progenitor cell bioengineered factor VIII lentiviral vector gene therapy for hemophilia A[J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(10): 1183-1201. doi: 10.1089/hum.2018.137.

37 Allemailem KS, Almatroudi A, Rahmani AH, *et al.* Recent updates of the CRISPR/Cas9 genome editing system: novel approaches to regulate its spatiotemporal control by genetic and physicochemical strategies[J]. Int J Nanomed, 2024, 19: 5335-5363. doi: 10.2147/IJN.S455574.

38 Lee J, Kweon J, Kim Y. Emerging trends in prime editing for precision genome editing[J]. Exp Mol Med, 2025, 57(7): 1381-1391. doi: 10.1038/s12276-025-01463-8.

39 Liu J, Zhang J, Zhao T, *et al.* SunTag-PE: a modular prime editing system enables versatile and efficient genome editing[J]. Commun Biol, 2025, 8(1): 452. doi: 10.1038/s42003-025-07893-4.

40 Qie B, Tuo J, Chen F, *et al.* Gene therapy for genetic diseases: challenges and future directions[J]. MedComm, 2025, 6(2): e70091. doi: 10.1002/mco2.70091.

41 Song B, Bae S. Genome editing using CRISPR, CAST, and Fanzor systems[J]. Mol Cells, 2024, 47(7): 100086. doi: 10.1016/j.mocell.2024.100086.

42 Cai W, Luo T, Mao L, *et al.* Spatiotemporal delivery of CRISPR/Cas9 genome editing machinery using stimuli-responsive vehicles[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2021, 60(16): 8596-8606. doi: 10.1002/anie.202005644.

43 Duan L, Ouyang K, Wang J, *et al.* Exosomes as targeted delivery platform of CRISPR/Cas9 for therapeutic genome editing[J]. Chembiochem, 2021, 22(24): 3360-3368. doi: 10.1002/cbic.202100359.

44 Li J, Roise JJ, He M, *et al.* Non-viral strategies for delivering genome editing enzymes[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 168: 99-117. doi: 10.1016/j.addr.2020.09.004.

（责任编辑：胡艳杰）