



## 2022 年度海南省科学技术奖提名公示内容

提名奖项：自然科学奖（公示 7 个工作日）

项目名称	基因编辑技术及其应用于地中海贫血治疗的临床前研究
提名等级	自然科学奖一等奖
提名单位/提名专家	海南医学院
提名意见	<p>该项目主要围绕基因编辑与地中海贫血临床治疗临床前研究开展相关研究工作。动物模型是基因编辑和基因治疗及疗效评估研究的重要工具，因而构建合适的动物疾病模型成为研究重点，因此在研究开展的前期，团队利用基因技术快速构建动物遗传疾病模型，并率先证明 Cas9 缺口酶（Cas9 nickase）可以激活动物体内同源重组用于在体基因治疗，同时极大降低了脱靶切割的风险，有效解决制约基因治疗发展的短板。在解决了动物模型构建技术之后，结合海南高发的遗传性疾病-地中海贫血，收集地中海疾病为主的多种遗传及样本，建立了海南省第一个可共享的遗传资源平台，在此基础上建立了地贫的干细胞疾病模型并通过 CRISPR/Cas9 基因编辑技术进一步证实基因编辑技术的有效性。在此基础上，团队利用基因编辑技术开展地中海贫血基因治疗的临床前研究，通过 Cas9 RNP 电转 <math>\beta</math>-地贫病人的造血</p>



	<p>干/祖细胞实现高效编辑，促进 HBF 的表达和红细胞的成熟，证实了基因编辑技术治疗单基因遗传病的可行性。在此基础上，团队在国内联合多团队合作率先开展 CRISPR 基因编辑技术治疗重型地贫患儿的临床研究，这项技术为精准诊疗向临床转化奠定基础，为我省乃至全国的已出生重型地贫患儿的基因治疗带来福音，对预防控制重大疾病的发生、保障人口健康有着重大意义，为提高我省人口健康素质及自由贸易港的建设作出贡献。</p> <p><b>同意提名该项目为 2021 年海南省自然科学奖一等奖。</b></p>
项目简介	<p>海南岛地理位置独特，处于海上丝绸之路的关键环节，是地中海贫血（简称地贫）的高发地区，其中，<math>\alpha</math>、<math>\beta</math>重型地贫发生率已高居海南省出生缺陷的前三位。地中海贫血易防难治。重症地贫患儿维持治疗、长期输血及并发症的处理，给患者家庭和社会带来沉重负担。造血干细胞移植是目前唯一的根治手段，但供体缺乏是瓶颈。目前亦有新药上市用于治疗<math>\beta</math>-重型地贫，但疗效局限。基因编辑技术的发展，使得基因治疗更加接近于临床，但目前仍在临床研究阶段。因此，要从根本上降低地贫的发生，在预防患儿出生的基础上，加强对已出生患儿的治疗也显得尤为重要。因此，本项目围绕基因编辑技术及地贫干细胞治疗开展了一系列研究，并取得了重要成果，对预防控制重大疾病的发生、保障人口健康有着重大意义。</p> <p><b>一、主要研究内容及发现点：</b></p> <p>1、在国际上利用基因技术快速构建小鼠和大鼠遗传疾病模型，并率先证明 Cas9 缺口酶（Cas9 nickase）可以</p>



激活动物体内同源重组用于在体基因治疗，同时极大降低了脱靶切割的风险，有效解决制约基因治疗发展的短板，解决了人类疾病模型构建的技术问题，为人类疾病的临床前研究奠定基础。

2、在海南省建立了以地中海贫血为主的、有多种遗传疾病背景的成体原代细胞库及干细胞等遗传资源库，为遗传病的基础研究及临床转化研究提供保障。

3、建立干细胞临床治疗的平台，本项目建立了造血干细胞分离培养体系和 CRISPR/Cas9 基因编辑技术体系，研究证实了通过 CRISPR/Cas9 或者单碱基编辑技术，高效编辑 HBG1/2 启动子上的 BCL11A 结合位点，能够重新开启 $\beta$ 地中海贫血患者细胞内 $\gamma$ 珠蛋白的表达，显著改善患者红细胞的成熟，预示着在临床研究中将有非常积极的疗效，为干细胞临床前转化研究奠定基础。

4、在国内，率先联合多团队联合开展 CRISPR 基因编辑技术治疗重型地贫患儿的临床研究，2 名患者已治愈出院，治疗 1 个月后就摆脱输血依赖，目前已随访超过 1 年。进一步证实了基因编辑技术治疗地中海贫血的可行性。

## 二、科学价值

1、基因治疗应用于临床的前提是在动物活体中进行基因治疗研究及疗效评估，利用基因编辑技术快速构建动物及人源性干细胞疾病模型，为基因治疗的安全性及有效性评估奠定基础。

2、遗传资源库的建设，为海南乃至全国的基础研究及临床转化研究奠定基础，并建立了新的检测技术，并逐步实现临床应用，为提高海南省人口健康及疾病防治作用提供技术支持。



	<p>3、积极开展地贫的干细胞治疗与移植的临床治疗实践与新技术、新方法的研究，在证实基因编辑技术治疗单基因遗传病可行的前提下，联合开展 CRISPR 基因编辑技术治疗重型地贫患儿的临床研究，这项技术为精准诊疗向临床转化奠定基础，为以后开展基因编辑技术治疗重型地贫患儿带来了希望。</p> <p><b>三、评价</b></p> <p>本项目的一系列研究成果推动了基因编辑技术在疾病治疗中的应用，推动了干细胞与基因编辑治疗地贫的临床转化研究进程，为在海南逐步建立干细胞和基因编辑治疗的临床转化平台提供依据。代表性成果 8 篇，代表性论文总影响因子达 86.243，总他引频次为 847 次，单篇最高他引 713 次，获授权国家发明专利 2 项。多次参与国内、外会议交流，获国内外同仁的充分认可。</p>
<p>提名书 相关内容</p>	<p><b>1.知识产权和标准规范目录</b></p> <p>1.1 授权专利：HBB 基因突变和 HLA 分型检测试剂盒，专利号：ZL201510900715.7；授权号：CN 105420233 B，授权公告日：2020 年 05 月 15 日。</p> <p>1.2 授权专利：冷冻保存诱导多能干细胞的试剂盒及方法，专利号：ZL201410437903.6；授权号：CN 105432597 B，授权公告日：2018 年 08 月 03 日。</p> <p><b>2. 论文、专著</b></p> <p>2.1 Ping Long, Zhen Wang, Huamei Yang, Zheng Liu, Bangyong Wu, Gaobu Zhong, Jingxi Chen, Chao Sun, Fei Wang, Yao Zhou, Fei Sun, Qi Li, Yanlin Ma. Generation of nine iPSC lines (HNMUi002-A, HNMUi003-A, HNMUi004-A, HNMUi005-A, HNMUi006-A, HNMUi007-A, HNMUi008-A, HNMUi009-A, HNMUi010-A) from three Chinese families with</p>



thalassemia. *Stem Cell Research*, 2020, 49:102014

2.2 Ping Long, Zheng Liu, Bangyong Wu, Jingxi Chen, Chao Sun, Fei Wang, Yuanhua Huang, Hongjian Chen, Qi Li, Yanlin Ma. Generation of an induced pluripotent stem cell line from chorionic villi of a Patau syndrome spontaneous abortion. *Stem Cell Research*, 2020, 45:101789.

2.3 Liren Wang, Linxi Li, Yanlin Ma, Handan Hu, Qi Li, Yang Yang, Wenbang Liu, Shuming Yin, Wei Li, Bin Fu, Ryo Kurita, Yukio Nakamura, Mingyao Liu, Yongrong Lai, and Dali Li. Reactivation of  $\gamma$ -globin Expression through Cas9 or Base Editor to Treat  $\beta$ -Hemoglobinopathies. *Cell Research*. 2020, 30(3): 276-278.

2.4 Chao Liang, Xueyin Chen, Xue Gao, Hongjian Chen, Yingxia Jin, Yao Zhou, Ming-hong Li, Wencong Wang, Wei-ying Lu, Yuanhua Huang, Jun Wang, Qi Li, Yanlin Ma. Spectrum of thalassemia mutations in fetuses of Han and Li people in Hainan province of China. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2019, 12(12): 537-544

2.5 Yanjiao Shao, Liren Wang, Nana Guo, Shengfei Wang, Lei Yang, Yajing Li, Mingsong Wang, Shuming Yin, Honghui Han, Li Zeng, Ludi Zhang, Lijian Hui, Qiurong Ding, Jiqin Zhang, Hongquan Geng, Mingyao Liu, Dali Li. Cas9-nickase-mediated genome editing corrects hereditary tyrosinemia in rats. *J Biol Chem*. 2018, 293(18):6883-6892

2.6 Lei Yang, Xiaohui Zhang, Liren Wang, Shuming Yin, Biyun Zhu, Ling Xie, Qihui Duan, Huiqiong Hu, Rui



	<p>Zheng, Yu Wei, Liangyue Peng, Honghui Han, Jiqin Zhang, Wenjuan Qiu, Hongquan Geng, Stefan Siwko , Xueli Zhang, Mingyao Liu, Dali L. Increasing targeting scope of adenosine base editors in mouse and rat embryos through fusion of TadA deaminase with Cas9 variants. Protein Cell. 2018 Sep;9(9):814-819.</p> <p>2.7 Dali Li, Zhongwei Qiu, Yanjiao Shao, Yuting Chen, Yuting Guan, Meizhen Liu, Yongmei Li, Na Gao, Liren Wang, Xiaoling Lu, Yongxiang Zhao, Mingyao Liu. Heritable gene targeting in the mouse and rat using a CRISPR-Cas system. Nature Biotechnol. 2013 ;31(8):681-3.</p> <p>2.8 揭秋玲, 李崎, 孙文页, 周繇, 陈宏健, 黄慧敏, 卢伟英, 马燕琳. 海南地区地中海贫血筛检者的基因结果分析[J]. 实用医学杂志, 2020,36(08):1092-1095.</p>
<p>主要完成人</p>	<p>马燕琳 海南医学院第一附属医院 教授/主任医师          李大力 华东师范大学 教授/研究员          李崎 海南医学院第一附属医院 研究员          王立人 华东师范大学 副研究员          揭秋玲 海南医学院第一附属医院 助理研究员          龙平 海南医学院第一附属医院 助理研究员          刘明耀 华东师范大学 教授/研究员          黄元华 海南医学院第一附属医院 教授/主任医师          王洁 海南省妇女儿童医学中心 主任医师</p>
<p>主要完成单位</p>	<p>1.海南医学院第一附属医院          2.华东师范大学          3.海南省妇女儿童医学中心</p>