

β 地中海贫血基因治疗药物临床试验设计探讨

黄云虹¹ 刘晓¹ 赵晨阳¹ 鲁爽¹ 高晨燕¹ 马军²

¹国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022;²哈尔滨血液病肿瘤研究所,哈尔滨 150010

通信作者:高晨燕,Email:gaocy@cde.org.cn



扫码阅读电子版

【摘要】 β 地中海贫血为单基因遗传病,患者因 β 珠蛋白基因突变致红细胞无法形成正常成人血红蛋白,而发生溶血性贫血。目前的主要治疗方法为异基因造血干细胞移植或对症定期输血并使用祛铁剂减轻铁负荷。重型患者预后很差,如不经治疗可危及生命。通过基因修饰自体造血干细胞为 β 地中海贫血患者提供了新的治疗选择,可能通过单次给药即实现长期、稳定提升血红蛋白水平,使一次性治愈 β 地中海贫血成为可能。文章从有效性评价终点、临床试验设计、入组人群、受试者监测等方面,对基因治疗 β 地中海贫血的临床试验设计关键要素进行探讨,以期为加快企业研发该类药物提供参考。

【关键词】 β 地中海贫血; 生物,基因修饰; 临床试验; 干细胞

DOI:10.3760/cma.j.cn115356-20221012-00296

General considerations for clinical trials design of gene therapy drug for β -thalassemia

Huang Yunhong¹, Liu Xiao¹, Zhao Chenyang¹, Lu Shuang¹, Gao Chenyan¹, Ma Jun²

¹Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China; ²Harbin Institute of Hematology and Oncology, Harbin 150010, China

Corresponding author: Gao Chenyan, Email: gaocy@cde.org.cn

【Abstract】 β -thalassemia is a single-gene genetic disease caused by β globin gene mutations leading to the fact that red blood cells are unable to form normal adult hemoglobin, and then patients develop hemolytic anemia. Current treatment regimens mainly include allogeneic hematologic stem cell transplantation, symptomatic regular blood transfusions and the use of iron removers to reduce iron load. Some severe patients have quite poor prognoses and deadly consequences if not treated timely. Genetically modified autohematopoietic stem cells can provide a new treatment option for patients with β thalassemia, which may achieve a long-term and stable increase in hemoglobin level through a single dose, making one-time cure β -thalassemia possible. This paper reviews the key elements of clinical trial design for β -thalassemia gene therapy from the aspects of efficacy evaluation endpoints, clinical trial design, enrollment population, and subject monitoring in order to provide a reference for pharma-therapeutic research and development enterprises.

【Key words】 Beta-thalassemia; Organisms, genetically modified; Clinical trials; Stem cells

DOI:10.3760/cma.j.cn115356-20221012-00296

近年来,随着医药生物技术的发展,我国的干细胞、病毒载体和基因编辑等创新性生物科技技术研发和应用领域日益成熟。2022年1月我国发布的《“十四五”医药工业发展规划》中已明确重点开发细胞治疗和基因治疗药物等新型生物药的产业化制备技术。针对众多单基因遗传病开发基因治疗药物是目前全球新药研发领域最富有研发优势和潜力的方向,且多个产品在国外获批上市。目前,我国也有多家机构从事相关药物研发和注册申报。文章将以针对 β 地中海贫血的基因治疗药物为例,详细介绍其研发情况和临床开发中需重点考虑的因素。以期能加快推进该类药物的产业化开发,及早惠及患者。

1 β 地中海贫血的诊疗现状

地中海贫血即珠蛋白生成障碍性贫血,是一组由珠蛋白基因缺失或点突变致使珠蛋白肽链合成被部分或完全抑制的遗传性溶血性贫血疾病。临床上最常见的是 α 地中海贫血和 β 地中海贫血,均为单基因罕见遗传病,在我国南方地区高发^[1]。根据《中国地中海贫血蓝皮书》和相关报道,我国地中海贫血基因携带者超过3 000万例,其中重型患者3万例,中间型地中海贫血患者近30万例,高发地区基因携带者超过总人口的10%^[2-3]。

β 地中海贫血是由11号染色体上的 β 珠蛋白基因缺失或

突变,造成无法编码 β 珠蛋白或产生缺陷的 β 珠蛋白,导致不能与 α 珠蛋白形成功能正常的四聚体,使成年人血红蛋白生成减少^[4]。目前已知 β 珠蛋白基因座发生不同的基因突变可导致 β 珠蛋白链的减少(β^+)或表达缺失(β^0)。绝大部分 β 地中海贫血患者的严重程度与其 β 珠蛋白基因型密切相关。按照临床表现可分为静止型、轻型、中间型和重型。前两种无需治疗,重型患者基因型主要为 β^+/β^0 或 β^0/β^0 ,自身无法合成血红蛋白,同时由于包涵体的形成进一步引起相关并发症,患者在出生后不久便会出现严重的贫血症状(持续血红蛋白 $<70\text{ g/L}$),终生需定期输血并配合规范的祛铁治疗,又称为输血依赖型 β 地中海贫血(β -TDT)^[5]。

有研究报道50%的重型地中海贫血患者5岁之前会死亡,如不进行规范、有效治疗,很少能生存到20岁。目前 β 地中海贫血标准治疗方案是定期输血和异基因造血干细胞移植。患者每2~5周需输血1次,且需定期使用祛铁剂减轻铁负荷。但长期输血会导致铁过载,造成心脏和肝脏功能损害,造成患者因心力衰竭而死亡或生长发育障碍。而且长期治疗给患者家庭带来沉重负担,导致患者规范治疗依从性差,绝大部分患者难以做到终身坚持输血。同时,地中海贫血患者的大量输血需求也造成了沉重的社会压力,加重血库负担,激化其他急重症患者的用血矛盾。健康人来源的异基因造血干细胞移植可能一次性治愈地中海贫血,但是存在全相合供体稀少、非全相合移植失败风险高,还有来自预处理和免疫排斥的不良反应用大等问题,限制了异基因造血干细胞移植在 β -TDT患者中的广泛应用^[6-7]。

除传统的输血和异基因造血干细胞移植外,临床急需其他可一次性治愈 β 地中海贫血的解决方案。随着基因编辑技术的研发,经过基因修饰患者的自体造血干细胞治疗成为了 β 地中海贫血的创新治疗方法,有可能通过单次给药使患者体内经基因编辑后持久植入、高水平表达正常血红蛋白,从而摆脱输血依赖。同时,使用经基因编辑的自体造血干细胞进行治疗也克服了异体造血干细胞移植的局限性和后续的移植排斥等^[8-9]。

2 β 地中海贫血基因治疗的临床研究情况

目前仅有美国Bluebird Bio公司研发的基因治疗药物zynteglo于2019年5月获欧盟批准上市,用于治疗 β 地中海贫血。

截至2022年7月,在ClinicalTrials.gov上登记的基因治疗 β 地中海贫血的临床试验24项,干预性研究22项,观察性研究2项。其中14项研究入组患者包括18岁以下的儿童和青少年,最小入组年龄为2岁。有7项登记单位为我国医疗机构或科研单位,均为干预性研究,除1项仅入组成年女性外,其余6项入组患者均包括儿童,最小入组年龄为3岁。

总结目前全球已开展的基因治疗 β 地中海贫血的临床试验,其核心策略是通过体外基因修饰患者的自体造血干细胞,提升分化后成熟红细胞内整体血红蛋白的含量,使其恢复至正常水平,从而改善地中海贫血患者的临床症状^[10]。主要有两种方式:(1)直接慢病毒整合补充正常基因方式,在体外通

过慢病毒载体将健康人有功能的 β 珠蛋白或 γ 珠蛋白基因整合至患者造血干细胞的基因组中适当位置,然后将改造后的造血干细胞回输至患者体内,定植回骨髓腔后,分化的红细胞生成高水平的正常的成年人或胎儿血红蛋白,该类方式代表产品是Bluebird Bio公司已在欧洲上市的zynteglo^[11];(2)间接基因编辑去除抑制基因方式,在体外通过基因编辑技术(ZFN、TALEN、CRISPR-Cas9)对调节 γ 珠蛋白基因的转录因子或 γ 珠蛋白基因的转录因子结合位点实施基因编辑,解除患者造血干细胞的 γ 珠蛋白基因的负向调控因子(如BCL11A)对 γ 珠蛋白基因的转录抑制作用,编辑后的造血干细胞定植后,在体内进行增殖、分化,最终产生高水平的胎儿血红蛋白,以替代缺失的成年人血红蛋白功能。此外,在基因编辑过程中还可以引入红系增强子元件,促进红系增殖能力,该类方式代表产品是瑞士CRISPR Therapeutics公司的CTX001和美国Sangamo Therapeutics公司的ST-400,目前采用此策略设计的治疗性产品尚未上市^[12]。

随着国内对基因编辑技术和干细胞的基础及临床研究水平不断提高,我国目前已有多家机构正在开展 β 地中海贫血的基因治疗药物研发。由于我国现行的干细胞临床研究及应用以风险管理为基础的双轨制,即对于仅开展临床研究而言,经备案的临床研究机构作为主体,对拟开展的临床研究项目进行备案后,可在机构内开展该项目的临床研究;对于开发上市销售的干细胞治疗产品而言,则需向国家药品监督管理局申请注册临床试验,完成注册临床试验后,再提交上市申请。在这样的监管环境和政策引导下,多个产品已经开展了备案制临床研究。但根据国家药品监督管理局药品评审中心和公开可查询信息,目前仅有一个采用基因修饰BCL11A红系增强子的自体CD34阳性造血干祖细胞注射液于2021年获准开展药物临床试验。

因此针对类似 β 地中海贫血这类在我国部分地区发病率较高,但有效治疗手段有限,患者生存率低,并且给家庭和社会带来沉重负担的遗传性疾病,亟需鼓励和引导相关企业尽快以药品研发的标准和规范进行产业化开发,以期提高申报注册的效率,提升社会资源的利用率,及早惠及患者。

3 β 地中海贫血临床试验设计考虑要点

根据我国2017年发布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则(试行)》以及目前的临床试验进展,对开展以自体造血干细胞为基础的基因治疗 β 地中海贫血的临床试验中需要考虑的一些因素进行探讨,以供相关研究人员在进行临床试验设计时参考。

3.1 临床试验设计

与传统药物临床研发过程不同,目前基因治疗药物一般不能很清晰地按照I、II、III期对临床试验阶段进行划分。比较常见的是按照探索性和确证性临床试验来进行区分。

基因治疗作为一种全新的治疗方式,我国目前正在研发的相关产品均为自主知识产权的创新性药物,在产品特点、工艺路径等方面都存在差异。因此每个产品在探索性临床研究阶段都要对多个相关问题进行深入研究,有可能需要

开展多个临床研究才可能获得关键数据,以支持后期确证性临床研究的顺利开展,在这个阶段最重要的是开展安全性剂量探索。虽然根据现有自体 and 异基因造血干细胞移植技术经验,移植成功率和回输给患者的CD34阳性细胞数呈正相关。自体造血干细胞移植由于没有外来的抗原性,耐受性良好,理论上应该细胞越多,越有利于植入。但由于该类细胞经过体外基因编辑,不同于传统的自体移植,要重视对合适的安全剂量的探索。对于入组儿童患者的试验,可按照移植的经验根据体质量换算后进行剂量摸索的设定。其他需要探索的重要问题还应包括:(1)有效性方面,包括植入成功率、对患者血红蛋白总体水平和(或)胎儿血红蛋白水平及比例的影响、外周血有核细胞和骨髓有核细胞中携带已编辑细胞的比例、对患者健康状况和生命质量的影响、对患者心脏和肝脏铁负荷以及血清铁蛋白的影响等。其中对重要有效性评价指标,即患者输血量 and 输血频率的影响,可以详细收集患者入组前较长时间(如2年)的血液学数据作为自身对照,评估输血需要的改变。(2)安全性方面,包括移植安全性、细胞回输后对患者外周血总T淋巴细胞和总B淋巴细胞水平的影响、对各类血细胞异常增殖的影响等安全性数据。(3)其他方面,包括药代动力学/药效动力学、免疫原性等问题,对于儿童患者,可能需要对适合的骨髓方案进行探索。

在确证性试验中,需根据探索性临床试验数据,选择合适的人群和对照。对于治疗 β 地中海贫血的临床试验而言,由于患者临床症状严重,不经治疗会危及生命,但现有治疗手段有限且存在较明显的未被满足的需求,因此确证性试验可以考虑选择单臂试验的设计。

3.2 入组人群

从年龄方面考虑, β 地中海贫血作为遗传性疾病,患者幼年即可发病,如不接受规范有效治疗,难以生存至成年,因此儿童患者常是主要的受试者人群。但开展药物临床试验,应参考现有的治疗常规。目前国内诊疗指南推荐重度 β 地中海贫血符合移植条件者,应尽早进行异基因造血干细胞移植,适宜年龄段为2~6岁。因此对于探索性临床试验,尤其是首次人体试验,应考虑仅入组重症输血依赖且无异基因造血干细胞移植条件的 β 地中海贫血患者,并应在获得一定的成年患者安全性和有效性数据后,再纳入儿童和青少年患者。

从基因型别方面考虑,由于不同 β 地中海贫血基因型患者临床表现存在差异,对具体药物的疗效和安全性需要探索。因此,入选标准中除临床表现和详细可靠的2年以上输血史记录外,应由指定的中心实验室进行基因检测以确定表型。zynteglo的临床试验已显示对 β^0/β^0 患者无效,故对于采用相似研发路径的产品,在前期研究缺乏对该基因型有效性数据的情况下,开展临床试验时对于该基因型患者的入组应谨慎。

3.3 有效性评价指标

在探索性临床研究阶段,应根据研究目的采用多个指标,从多方面、多维度对治疗的有效性进行评估。为加快研发进度,可以采用替代的或中间有效性指标。

在确证性临床研究阶段,主要的有效性评价指标应具备明确的临床意义。目前较多采用输血独立性/输血非依赖

(TI)作为主要有效性评价指标,具体评估定义为:无浓缩红细胞输注情况下维持血红蛋白 ≥ 90 g/L至少12个月,TI应从血红蛋白 ≥ 90 g/L且过去60 d无浓缩红细胞输注时开始计算。

目前对不同基因型的患者达到TI后是否能长期保持TI状态的数据较少。在临床试验设计时,对于所有入组患者,即使达到主要终点,都应进行更长时间的随访,以确定单次输注后造血干细胞维持的持久性。

3.4 对受试者的风险监测

由于基因治疗药物技术创新性较强,开展临床试验较少,尚缺乏安全性数据的积累,对于该类药物的风险认知有限。为充分保护受试者的权益,在临床试验过程中应根据产品设计原理、工艺特征、前期药理毒理研究数据、疾病的病理生理特点和受试者情况,制定较完善的风险管理计划,并根据临床研发积累的数据和同类产品的相关报道,及时更新安全性风险识别和控制措施。

风险管理计划至少应包括以下几个方面:基因修饰技术可能的脱靶效应导致的潜在致癌风险以及应对措施;自体造血干细胞移植过程,包括造血干细胞动员采集和体外处理保存、化疗预处理、细胞回输的潜在风险和控制计划;移植失败的风险和应对措施;没有疗效的风险和应对措施;对儿童和青少年受试者还应进行生长发育和生育能力等方面影响的评估并制定应对措施。对潜在致癌风险应进行至少15年或直至患者死亡的随访。

4 结语

β 地中海贫血是在我国南方多个地区高发的遗传性溶血性贫血疾病,患者多且幼年即发病,目前治疗手段有限,其中重症患者生命质量和预后差,给家庭和社会带来沉重的负担。基因治疗是目前能修正基因缺陷的对因治疗方式,患者有可能一次性治愈。目前,全球有多个针对 β 地中海贫血的基因治疗产品,其中zynteglo采用慢病毒整合正常HBB基因至自体造血干细胞的方式治疗 β 地中海贫血,已在欧洲获批上市。

随着我国生物医药研究水平的提高和临床试验的不断开展,并在国内相关法规的影响下,开展基因治疗药物研发的企业迅速增加,创新性产品不断涌现,我国 β 地中海贫血的基因治疗类药物研发也正朝着积极的方向快速发展。监管机构和科研界、产业界正在不断加深沟通、加快合作,推动该类药物的研发申报和相关产业规范快速发展,以期促进更多、更好的基因治疗药品上市,给广大 β 地中海贫血患者带来更多的治疗选择和治愈的希望。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 黄云虹:研究实施、论文撰写;刘晓、赵晨阳、鲁爽、高晨燕、马军:研究指导、论文修改

参考文献

- [1] Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators [J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(6):480-487. DOI: 10.2471/blt.06.036673.
- [2] Lai K, Huang G, Su L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys [J]. Sci Rep,

- 2017, 7(1):920. DOI: 10.1038/s41598-017-00967-2.
- [3] 北京天使妈妈慈善基金会, 北京师范大学中国工艺研究院. 中国地中海贫血蓝皮书-中国地中海贫血防治状况调查报告 2020 [M]. 北京: 中国社会科学出版社, 2021.
- [4] Thein SL. Molecular basis of β thalassemia and potential therapeutic targets [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2018, 70: 54-65. DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.06.001.
- [5] 中华医学会儿科学分会血液学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 重型 β 地中海贫血的诊断和治疗指南(2017年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(10): 724-729. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2018.10.002
- [6] Isgrò A, Gaziev J, Sodani P, et al. Progress in hematopoietic stem cell transplantation as allogeneic cellular gene therapy in thalassemia [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1202: 149-154. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05543.x.
- [7] Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al. Marrow transplantation in patients with advanced thalassemia [J]. *N Engl J Med*, 1987, 316(17): 1050-1055. DOI: 10.1056/NEJM198704233161703.
- [8] Davis R, Gurumurthy A, Hossain MA, et al. Engineering globin gene expression [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 12: 102-110. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.12.004.
- [9] May C, Rivella S, Callegari J, et al. Therapeutic haemoglobin synthesis in beta-thalassaemic mice expressing lentivirus-encoded human beta-globin [J]. *Nature*, 2000, 406(6791): 82-86. DOI: 10.1038/35017565.
- [10] 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.
- [11] Negre O, Eggimann AV, Beuzard Y, et al. Gene therapy of the β -hemoglobinopathies by lentiviral transfer of the β (A(T87Q))-globin gene [J]. *Hum Gene Ther*, 2016, 27(2): 148-165. DOI: 10.1089/hum.2016.007.
- [12] Frangoul H, Bobruff Y, Cappelline MD, et al. Safety and efficacy of CTX001 in patients with transfusion-dependent β -thalassemia and sickle cell disease: early results from the climb THAL-111 and climb SCD-121 studies of autologous CRISPR-CAS9-modified CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor cells [J]. *Blood*, 2020, 139 Suppl 1: 3-4. DOI: 10.1182/blood-2020-139575.

(收稿日期: 2022-10-12)

(本文编辑: 郎华 校对: 胡睿)

·读者·作者·编者·

本刊关于论文作者署名的规范

为尊重作者的署名权, 弘扬科学道德和学术诚信精神, 本刊论文作者署名应遵守以下规范。

1. 作者署名

本刊论文作者姓名在题名下按序排列, 排序应在投稿前由全体作者共同讨论确定, 投稿后不应再作改动, 确需改动时必须出示单位证明以及所有作者亲笔签名的署名无异议书面证明。作者应同时具备以下四项条件: (1) 参与论文选题和设计, 或参与资料分析与解释; (2) 起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容; (3) 能按编辑部的修改意见进行核修, 对学术问题进行解答, 并最终同意论文发表; (4) 除了负责本人的研究贡献外, 同意对研究工作各方面的诚信问题负责。仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者, 仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。

2. 通信作者

每篇论文均需确定一位能对该论文全面负责的通信作者。通信作者应在投稿时确定, 如在来稿中未特殊标明, 则视第一作者为通信作者。集体署名的论文应将对该文负责的关键人物列为通信作者。规范的多中心或多学科临床随机对照研究, 如主要责任者确实超过一位的, 可酌情增加通信作者。

3. 同等贡献作者

不建议著录同等贡献作者, 需确定论文的主要责任者。

4. 志谢

对给予实质性帮助但不符合作者条件的单位或个人可在文后给予志谢, 但必须征得志谢人的书面同意。被志谢者包括: (1) 对研究提供资助的单位和个人、合作单位; (2) 协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人; (3) 协助诊断和提出重要建议的人; (4) 给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者; (5) 做出贡献又不能成为作者的人, 如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人, 此时应阐明其支援的性质; (6) 其他。不宜将应被志谢人放在作者的位置上, 混淆作者和被志谢者的权利和义务。