

重视自然病程研究,科学开展遗传性视网膜疾病的基因治疗

汪枫桦 陈洁琼 孙晓东

上海交通大学附属第一人民医院眼科 上海眼视觉与光医学工程技术研究中心 200080

通信作者:孙晓东,Email:xdsun@sjtu.edu.cn

【摘要】 多数遗传性视网膜疾病(IRDs)可造成永久性视功能严重损害且缺乏有效的治疗方法。2017年全球首个IRDs的基因治疗药物Luxturna获得美国FDA批准,为该类疾病的治疗带来了新的希望。IRDs发病早、患者数量相对少,以往对自然病程的认识有限。IRDs的基因治疗研究必须基于对疾病发病机制、自然病程的深入认识,对基因疗法实施最佳“治疗窗”的选择是治疗成功的前提。目前,用于基因治疗的主要基因传递载体为重组病毒载体,其组织免疫原性、成瘤性及其与宿主细胞整合的安全性和有效性决定了治疗的结局,故亟待建立IRDs基因疗法的临床评价技术。眼科疾病的基因疗法还涉及法律法规、伦理道德、产品流程、人种和地域环境、疾病进展过程、基因突变种类、患者获益和风险比等多种因素的考量。因此,充分考虑IRDs人群的需求,尤其是儿童患者的特殊性,积极开展我国IRDs的自然病程研究,对于科学、规范地开展基因治疗临床试验、有效确立基因治疗临床研究的终点结局指标、遵循国际规范的伦理准则都具有重要意义。

【关键词】 基因疗法;遗传性视网膜疾病;自然病程;病毒载体;伦理

基金项目:“重大新药创制”科技重大专项课题项目(2019ZX09301113);上海交通大学医学院多中心临床研究项目(DLY201813)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20201007-00677

Paying attention to the natural course of disease for a development of gene therapy of inherited retinal diseases

Wang Fenghua, Chen Jieqiong, Sun Xiaodong

Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Engineering Center for Visual Science and Photomedicine, Shanghai 200080, China

Corresponding author: Sun Xiaodong, Email: xdsun@sjtu.edu.cn

【Abstract】 Most inherited retinal diseases (IRDs) severely impair vision and lack effective treatments. With the approval of Luxturna, the world's first gene therapy drug for IRDs in 2017 by the U. S. FDA, gene therapy has brought new hope for the treatment of the disease. With an early onset and a relatively small number of patients, the understanding of the natural course of IRDs is limited in the past. The research on gene therapy of IRDs is mainly based on the in-depth understanding of the pathogenesis and natural course of disease, and the selection of the optimal treatment window for the implementation of gene therapy is the premise of successful treatment. At the same time, the main vector for gene therapy is recombinant virus vector, and its tissue-immunogenicity, tumorigenicity, safety of its integration with host cells and effectiveness determine the outcome of therapy, so the evaluation technology of IRDs gene therapy needs to be established. Gene therapy for ophthalmic diseases also involves the consideration of laws and regulations, ethics, product process, races and regional environment, disease progression, gene mutation types, patient benefit and risk ratio, and other factors. Therefore, it is of great significance to take full account of the differences in IRDs population, especially the particularity of children patients, and actively carry out the study on the natural course of IRDs in China for the scientific and normative development of clinical trials of gene therapy, the effective establishment of endpoint and outcome indicators for clinical studies of gene therapy, and the compliance with international norms of ethics.

【Key words】 Gene therapy; Inherited retinal diseases; Natural course; Viral vectors; Ethics

Fund program: National Major Scientific and Technological Special Project (2019ZX09301113); Multi-



center Clinical Research Project from Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (DLY201813)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20201007-00677

从 20 世纪 90 年代早期开始,基因治疗开始进入临床试验阶段。近十年来,新的基因载体、基因编辑技术以及细胞生物学和免疫学研究取得了较大进展,为基因治疗的安全性和有效性提供了支撑。2017 年,作为全球首个遗传性视网膜疾病 (inherited retinal diseases, IRDs) 的基因治疗药物,用于治疗先天性黑矇的 *RPE65* 基因产品 Luxturna 获得美国 FDA 批准,开创了基因治疗的新篇章。目前,基因治疗从实验室走向临床,掀起了新的医学革命,而加深对罕见遗传性疾病自然病程的认识、保障病毒载体的安全性、临床级病毒载体的制备及其标准的建立、临床研究终点观察指标和伦理监管,均是基因疗法临床实践和疗效评价中面临的关键问题和挑战。因此开展 IRDs 相关的基因治疗临床试验须首先充分考虑上述问题,完善诊疗体系,建立合理可循的制度和规范化流程。

1 对 IRDs 临床特征和自然病程的全面了解是开展基因治疗的前提

目前基因疗法是改善 IRDs 患者视功能有效且可行的方法,但基因疗法的实施需基于对 IRDs 发病机制、自然病程、临床特征和遗传规律的深入认识。2018 年,美国 FDA《视网膜疾病的人类基因疗法指南》中第 1 条明确指出,深入研究 IRDs 的临床特征和自然病程是基因治疗药物研发的重要前提和基础。虽然近年来基因测序技术取得了长足进步且检测成本大幅下降,但 IRDs 具有高度遗传异质性和临床异质性^[1],因此与其他眼科常见病相比,IRDs 患病率较低,患者年龄段跨度大,临床表型差异大,基因突变类型多样化,综合的基因诊断和临床诊断过程复杂且相对不明确。例如,Leber 先天性黑矇 (Leber congenital amaurosis, LCA) 患儿视力常为 20/200~光感,甚至无光感,眼底表现可大致正常,也可出现各种异常表现,包括椒盐样或钱币样色素沉积、黄斑萎缩或缺损、视网膜白色斑点等^[2]。随着年龄的增长和病情变化,LCA 患者的视功能和眼底损害逐渐进展,疾病晚期大量视细胞凋亡,若此时选择基因治疗,则由于缺乏功能正常的宿主细胞而表现为治疗无效。先天性视网膜劈裂症通常为中度视力损伤,未累及黄斑区时可保持较好的中心视力,但多数患者 50~60 岁时视力明显减退,黄斑区视网膜色素上皮发生萎缩^[3],基因治疗效果也欠佳。因此,只有全面了解 IRDs 的自然病程规律和特点,才能确定基因治疗

中最佳“治疗窗”和临床终点评价指标。

目前,国外已有多个 IRDs 自然病程的系统性观察研究^[4-5],我国作为人口大国,人群疾病谱广,存在民族和地域差异。中国人群中 IRDs 病变特征与西方人群显著不同,如西方人群中 *CEP290* c. 2991+1655A>G (p. Cys998X) 为 LCA 常见的致病突变位点^[6-7],但该位点在我国 LCA 患者中极少报道。目前,我国对 IRDs 的自然病程研究仅限于很少量的横断面研究^[8-10]。因此,亟需开展基于我国人群遗传背景的前瞻性自然病程研究,深入、系统地观察不同基因突变引起的中国人群 IRDs 的临床特征和自然病程规律,为精准基因治疗以及临床适用的治疗操作技术和评价技术研究奠定基础。

2 基因治疗载体的安全性是基因治疗成功的关键

已上市的基因替代疗法是通过载体将遗传物质转移到患者的细胞中,并表达功能正常的蛋白,以达到治疗效果,载体相关的免疫原性及其与宿主基因组整合的风险是基因治疗安全性的关注热点。理想的载体应满足严格规范的表达、低不良反应、持续可控的治疗效果、靶细胞特异性以及足够的 DNA 容量等条件^[11]。目前大部分研究是使用腺病毒、腺相关病毒 (adenovirus-associated virus, AAV) 和慢病毒等病毒载体递送系统,各具优缺点。AAV 具有无致病性、高效长期表达、易于基因操作以及低免疫原性的特点,在基因治疗临床研究中应用较多,例如美国 Spark Therapeutics 公司开发的 Luxturna 即采用 2 型 AAV 作为递送载体,能够安全、有效地靶向视网膜色素上皮细胞,实现基因增补治疗的目标^[12]。

由于 AAV 在人群中存在普遍感染的问题,因此宿主体内针对各种 AAV 血清型的体液免疫应答是 AAV 用于基因治疗的挑战。人群中 96% 的人具有抗 AAV 中和抗体,其中 32% 的人能够完全中和 AAV^[13]。Boutin 等^[14]研究发现,人群中抗 AAV1、AAV2、AAV5、AAV6、AAV8 和 AAV9 中和抗体的血清阳性率分别约为 67%、72%、40%、46%、30% 和 47%。目前认为 AAV 中和抗体的存在是导致早期基因治疗临床试验失败的主要因素之一^[15]。然而,美国应用基因技术公司研究人员发现,眼内给予 AAV 治疗后,受试者血清或眼部存在的 AAV 中和抗体并不会影响基因递送、表达或眼部炎症反应,这是由于眼球本身为相对独立的器官,具

有相对免疫豁免特性,同时与其他器官相比,眼球体积较小,对有效治疗量的基因治疗载体数量所需较少,治疗剂量所产生的抗 AAV 中和抗体影响较小(<https://www.biospace.com>)。但是当眼部处于疾病状态时,眼球的免疫屏障受到破坏,抗 AAV 中和抗体相关的风险明显增大。因此,有研究者推荐进行基于 AAV 的基因治疗时应针对特定 AAV 的中和抗体进行检测,并确定最佳给药途径^[16]。

尽管大量临床研究在一定程度上显示了 AAV 载体的安全性,但其在基因治疗中的安全性问题仍受到高度关注。已有研究认为基因治疗过程中静脉注射高剂量 AAV 会产生毒性反应,引起肝功能严重损害^[17]。近期美国 Audentes Therapeutics 公司提供的 AT132 基因疗法的临床试验先后出现 3 例死亡事件,再次引起研究者对 AAV 载体安全性的关注。该基因疗法采用的是 8 型 AAV 载体,受试者在接受高剂量病毒载体注射后因出现败血症或胃肠道出血症状而导致死亡(<https://www.audentestx.com>)。因此,基因治疗中高剂量 AAV 注射引起严重并发症的机制及相应的解决方案值得深入探索。

同时在临床及临床前研究中依然发现 AAV 携带的治疗基因整合进入宿主基因组的现象。Inagaki 等^[18]研究发现,新生小鼠体内注入 AAV 后其携带的遗传物质整合入宿主基因组中并发生了肝癌;近期 Kaiser^[19]对犬进行 AAV 基因治疗后在犬的染色体上检测到 AAV 携带的治疗性基因片段,有些甚至位于与生长相关的基因附近,推测存在诱发癌症的可能性。由此提示我们,AAV 病毒载体在基因治疗中依然存在潜在的成瘤风险。在未来的基因治疗研究中,如何精准地导入目的基因并维持长期、有效、安全的表达仍是基因治疗的一个挑战。

3 GMP 级规模化病毒载体生产是目前基因治疗产业化发展的瓶颈

病毒载体比传统生物制剂的制作生产过程复杂得多,开发并定制病毒的周期长,同时研发费用高昂,因此大规模生产和制备合格的 GMP 级病毒载体是目前基因治疗产业化的瓶颈问题。成熟的 AAV 生产工艺必须能够提供高度一致、高纯度和高滴度的病毒产品,同时满足监管中的安全性和有效性要求并能够降低成本。

病毒的生产流程可分为上游的扩增病毒和下游的纯化病毒,目前业界仍然缺少 AAV 病毒生产的规模化、工业化平台。在目前的工业化生产过程中,通过改

进转染技术和细胞培养方法可以达到大规模病毒扩增的目的,如何高效、稳定地从大量细胞裂解物中纯化 AAV 是目前面临的主要挑战。病毒颗粒的下游纯化主要是去除工艺和产品的相关杂质,包括宿主细胞 DNA 和蛋白质、质粒 DNA 和病毒空壳,这些步骤的处理在生产总成本中占据很大比重,而其中的主要杂质,如宿主细胞 DNA 和蛋白质,由于受到宿主细胞 DNA 组蛋白的保护,且市售核酸酶很难分解染色质,同时该过程涉及多个步骤,显著降低回收率,因此实验室的成功纯化工艺难以扩展至大规模工业化生产中。

4 基因治疗产品管理规范的建立是基因治疗的“门槛”

大规模开展基因治疗的临床研究应有完善的基因治疗产品管理和评价规范作为保障。目前全球都是将基因治疗产品作为药品来申报和监管,对于全球监管机构来说,这是一个全新的产业,仅有数款产品作为孤儿药获批上市,监管依然面临挑战。中国面临的更大挑战是基因治疗相关的产业在国内刚刚兴起,目前国内整套质量监控法规管理体系尚未健全。2020 年 9 月,中国国家药品监督管理局药品审评中心颁布了《基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(征求意见稿)》,基于当前的技术发展和科学认知,针对基因治疗药学的特殊性提出要求,以确保研究和治疗用药品的质量、安全性和有效性,目的是规范和指导基因治疗产品按照药品管理规范进行研究、开发和评价。病毒载体作为基因治疗的临床治疗剂,首先应符合中国国家药典委员会 2019 年公示的《人用基因治疗制品总论》的要求,同时应满足《药品生产质量管理规范》的基本原则和相关要求,重点关注生产过程中外源因子的污染和交叉污染、生产人员的健康和安全防护、生产环境的生物等级和安全隔离,以及生产产物或废弃物对环境的生物安全性影响。

在病毒载体进行大规模生产制备的生产工艺中,首先需要建立符合要求的载体车间,对仪器设备、人员构成、选址、生物安全防护、能耗和环境评价等方面进行周密设计,以建立起一个合格的 GMP 级工厂^[20]。病毒载体的结构复杂性使得质量控制测试更为复杂,同时由于基因治疗产品储存对时效性要求较高,在质量控制检测中需要更高要求的快速检测方法和准确性,因此建立企业质量控制和放行测试是确保产品安全性、纯度和效力的重要环节。

基因治疗产品涉及体内生物学过程,虽然企业均有放行标准,但是否足以保证产品的质量依然是难以

确保的问题。基因治疗产品的温度敏感特性对冷链运输也提出了挑战,例如 Luxturna 必须在 -65°C 条件下进行运输和保存。同时国内已有多家医院开展了关于 IRDs 基因治疗研究者发起的临床试验,是否需要建立院前放行标准,以及建立怎样的快速检测指标来确保受试者的安全是值得进一步探讨的重要问题。

5 确定有效可行的临床研究方案和合理的伦理监管是基因治疗的保障

截至 2020 年 9 月,全球已开展 44 项 IRDs 相关的基因治疗临床试验研究 (<https://clinicaltrials.gov>),虽然第 1 例 LCA RPE65 基因治疗药物 Luxturna 的研发成功为眼科基因治疗提供了典范,但 IRDs 是一系列罕见、视网膜进行性退化的基因缺陷相关疾病,包括视网膜色素变性、无脉络膜症、Leber 遗传性视神经病变、LCA、Stargardt 病和 X 连锁视网膜劈裂等。由于这些疾病之间有着不同的致病基因和发病机制以及其临床特征多样化和病程不等的特点,难以设定统一的临床观察指标,给临床研究具体方案的设计和和实施提出了挑战。因此,针对特定基因导致的特定疾病,个性化选择主要和次要研究终点、制定详细的患者纳入和排除标准在基因治疗临床试验中至关重要。

基因治疗仍处于治疗疾病的早期阶段,所预期的获益或风险存在很大的不确定性,如何规范有效地保护患者的利益是基因治疗伦理监管的重要关注点。1999 年,基因治疗领域的先锋 James Wilson 教授对 1 例鸟氨酸转氨酶缺陷症患者进行基因治疗,患者全身发生免疫系统反应引起器官衰竭而死亡。由于在这项研究中研究者的临床前数据不透明、受试者风险告知不充分所引起的后果引发了基因治疗的伦理争论,因此之后的基因治疗伦理审查中强调,参与基因治疗研究者在设计基因治疗方案时应以全人类的利益为出发点,尊重人类自身而开展基因治疗研究,也应尽可能全面地获得对这一新技术进行评价和控制的能力,即“举证责任”,应明确无误地告知受试者和研究者在基因治疗的探索中做了什么、为何而做以及可能产生怎样的后果,让公众在完全知晓的前提下自愿选择。

6 严格遵守《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》是开展基因治疗的必要前提

根据国务院在 2019 年 7 月颁布的《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》,在合理开展基因治疗研究的过程中,研究者所涉及人体遗传样本的收集、调查和分析均属于我国人类遗传资源^[21]。当研究对象为

重要的遗传家系和特定地区的人类遗传资源时应当实行申报登记制度,保护和合理利用我国人类遗传资源,维护公众健康、国家安全和公共利益。

该条例表明,国家支持研究者合理利用人类遗传资源开展科学研究、发展生物医药产业、提高诊疗技术,以提高我国生物安全的保障能力,提升人民健康保障水平,对利用人类遗传资源开展研究开发活动以及成果的产业化依照法律、行政法规和国家有关规定予以支持。但研究的同时不得超越 5 条“红线”:(1) 采集、保藏、利用、对外提供我国人类遗传资源不得危害我国公众健康、国家安全和公共利益;(2) 应符合伦理原则,并按照国家有关规定进行伦理审查;(3) 应尊重人类遗传资源提供者的隐私,取得其事先知情同意,并保护其合法权益;(4) 禁止买卖人类遗传资源;(5) 外国组织、个人及其设立或者实际控制的机构不得在我国境内采集、保藏我国人类遗传资源,不得向境外提供我国人类遗传资源。

7 关注 IRDs 基因疗法的研究方向以合理开展相关研究

尽管基因治疗还存在许多关键性技术问题以及临床研究和治疗应用的监管和法规有待进一步完善,但对于很多目前无法治疗的疾病,基因治疗是值得期待的治疗方式。目前,基因治疗研究主要聚焦于罕见的单基因遗传病和肿瘤领域。在眼科的新生血管性年龄相关性黄斑变性中,针对关键致病因子血管内皮生长因子开展了多个基因治疗临床试验,取得了鼓舞人心的效果,在一项 II a 期的临床试验中,新生血管性年龄相关性黄斑变性患者在进行视网膜下腔注射 rAAV. sFlt-1 后视力获得显著提高^[22]。更值得期待的是,基因治疗并非仅用于罕见病的治疗,随着新技术、新理论的出现和改进,未来有望将基因治疗扩展应用到更为常见的遗传风险因子和营养因子相关疾病,如心血管病、糖尿病、阿尔茨海默症、帕金森症、精神分裂症等,基因治疗作为一种全新的给药治疗方式,为需要持续给药的疾病提供全新的治疗手段。目前基因治疗主要采用基因增补技术,随着新的基因编辑技术以及细胞生物学的发展,未来也将开展更多类型的基因治疗方式。随着对基因治疗载体功能和安全性不断改进,未来将进一步克服病毒载体的免疫原性,更加精准地表达并增加病毒装载容量,优化治疗过程,在基因治疗制剂的工艺制备中,优化各个环节并降低生产成本,获得高效、稳定的基因治疗制剂。目前,基因治疗犹如十年前的生物抗体药物应用初期一样,仍处于起步阶

段,随着相关产业的发展和研究工作的日臻成熟,生产出患者可耐受的高质量、安全的基因治疗产品是未来的方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Hamel C. Retinitis pigmentosa [J/OL]. Orphanet J Rare Dis, 2006, 1: 40 [2021-04-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17032466/>. DOI: 10.1186/1750-1172-1-40.
- [2] Chung DC, Traboulsi EI. Leber congenital amaurosis: clinical correlations with genotypes, gene therapy trials update, and future directions [J]. J AAPOS, 2009, 13 (6): 587-592. DOI: 10.1016/j.jaapos.2009.10.004.
- [3] Molday RS, Kellner U, Weber BH. X-linked juvenile retinoschisis: clinical diagnosis, genetic analysis, and molecular mechanisms [J]. Prog Retin Eye Res, 2012, 31 (3): 195-212. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2011.12.002.
- [4] Berson EL, Sandberg MA, Rosner B, et al. Natural course of retinitis pigmentosa over a three-year interval [J]. Am J Ophthalmol, 1985, 99 (3): 240-251. DOI: 10.1016/0002-9394(85)90351-4.
- [5] Birch DG, Anderson JL, Fish GE. Yearly rates of rod and cone functional loss in retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy [J]. Ophthalmology, 1999, 106 (2): 258-268. DOI: 10.1016/S0161-6420(99)90064-7.
- [6] 李杨. 中国人与欧美人 *USH2A* 基因突变谱不同 [J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29 (11): 961-963. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.11.001.
Li Y. *USH2A* gene mutations spectrum in Chinese different from Westerner [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2011, 29 (11): 961-963. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.11.001.
- [7] den Hollander AI, Roepman R, Koeneke RK, et al. Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms [J]. Prog Retin Eye Res, 2008, 27 (4): 391-419. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.05.003.
- [8] Gao FJ, Li JK, Chen H, et al. Genetic and clinical findings in a large cohort of Chinese patients with suspected retinitis pigmentosa [J]. Ophthalmology, 2019, 126 (11): 1549-1556. DOI: 10.1016/j.ophtha.2019.04.038.
- [9] Xu K, Xie Y, Sun T, et al. Genetic and clinical findings in a Chinese cohort with Leber congenital amaurosis and early onset severe retinal dystrophy [J]. Br J Ophthalmol, 2020, 104 (7): 932-937. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2019-314281.
- [10] Xu Y, Guan L, Shen T, et al. Mutations of 60 known causative genes in 157 families with retinitis pigmentosa based on exome sequencing [J]. Hum Genet, 2014, 133 (10): 1255-1271. DOI: 10.1007/s00439-014-1460-2.
- [11] High KA, Roncarolo MG. Gene therapy [J]. N Engl J Med, 2019, 381 (5): 455-464. DOI: 10.1056/NEJMr1706910.
- [12] Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al. Efficacy and safety of voretigene neparovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial [J]. Lancet, 2017, 390 (10097): 849-860. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31868-8.
- [13] Chirmule N, Probert K, Magosin S, et al. Immune responses to adenovirus and adeno-associated virus in humans [J]. Gene Ther, 1999, 6 (9): 1574-1583. DOI: 10.1038/sj.gt.3300994.
- [14] Boutin S, Monteilhet V, Veron P, et al. Prevalence of serum IgG and neutralizing factors against adeno-associated virus (AAV) types 1, 2, 5, 6, 8, and 9 in the healthy population; implications for gene therapy using AAV vectors [J]. Hum Gene Ther, 2010, 21 (6): 704-712. DOI: 10.1089/hum.2009.182.
- [15] Greenberg B, Butler J, Felker GM, et al. Prevalence of AAV1 neutralizing antibodies and consequences for a clinical trial of gene transfer for advanced heart failure [J]. Gene Ther, 2016, 23 (3): 313-319. DOI: 10.1038/gt.2015.109.
- [16] Brockstedt DG, Podsakoff GM, Fong L, et al. Induction of immunity to antigens expressed by recombinant adeno-associated virus depends on the route of administration [J]. Clin Immunol, 1999, 92 (1): 67-75. DOI: 10.1006/clim.1999.4724.
- [17] Hinderer C, Katz N, Buza EL, et al. Severe toxicity in nonhuman primates and piglets following high-dose intravenous administration of an adeno-associated virus vector expressing human SMN [J]. Hum Gene Ther, 2018, 29 (3): 285-298. DOI: 10.1089/hum.2018.015.
- [18] Inagaki K, Piao C, Kotchey NM, et al. Frequency and spectrum of genomic integration of recombinant adeno-associated virus serotype 8 vector in neonatal mouse liver [J]. J Virol, 2008, 82 (19): 9513-9524. DOI: 10.1128/JVI.01001-08.
- [19] Kaiser J. Virus used in gene therapies may pose cancer risk, dog study hints [J/OL]. Science, 2020 [2021-04-07]. <https://www.sciencemag.org/news/2020/01/virus-used-gene-therapies-may-pose-cancer-risk-dog-study-hints>. DOI: 10.1126/science.aba7696.
- [20] Fuerstenau-Sharp M, Pettitt D, Bure K, et al. Scalable purification of viral vectors for gene therapy: an appraisal of downstream processing approaches [J]. BioProcess Int, 2017, 15 (2): 12-17.
- [21] 中国眼遗传病诊疗小组 中国眼科遗传联盟. 眼遗传病基因诊断方法专家共识 [J]. 中华实验眼科杂志, 2018, 36 (7): 481-488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.001.
- [22] Constable IJ, Pierce CM, Lai CM, et al. Phase 2a randomized clinical trial: safety and post hoc analysis of subretinal raav. sflt-1 for wet age-related macular degeneration [J]. EBioMedicine, 2016, 14: 168-175. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.11.016.

(收稿日期: 2021-04-13 修回日期: 2021-06-26)

(本文编辑: 尹卫靖 刘艳)

读者 · 作者 · 编者

本刊对基金项目的证明和著录要求

文稿所涉及的课题如为国家级、部级、省级等基金资助项目,请分别用中英文表述并分别列于文章中中英文摘要关键词之下,“基金项目:”进行标识,并注明基金项目名称,并在圆括号内注明基金项目编号。基金项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写,多个基金资助的项目请全部列出,按资助机构的等级顺序排列,并以“;”隔开。如:基金项目:国家自然科学基金项目(30271269);国家重点基础研究发展规划(973计划)(2013CB532002);Fund program: National Natural Science Foundation of China(30271269);National Key Basic Research Program of China(973 Program)(2013CB532002)。获得基金项目资助的论文投稿时请提供基金项目资助证明的复印件或扫描后发至编辑部信箱。

(本刊编辑部)