

乙肝病毒载体平台及 基因治疗根治乙肝

王子元 PhD. 教授

1. 原创新药研发要满足患者需求

- 坚持在生物制药行业差异化发展
- 从企业发展的角度出发，聚焦常见重大疾病领域研发新技术平台和原创新药，满足未满足患者需求。

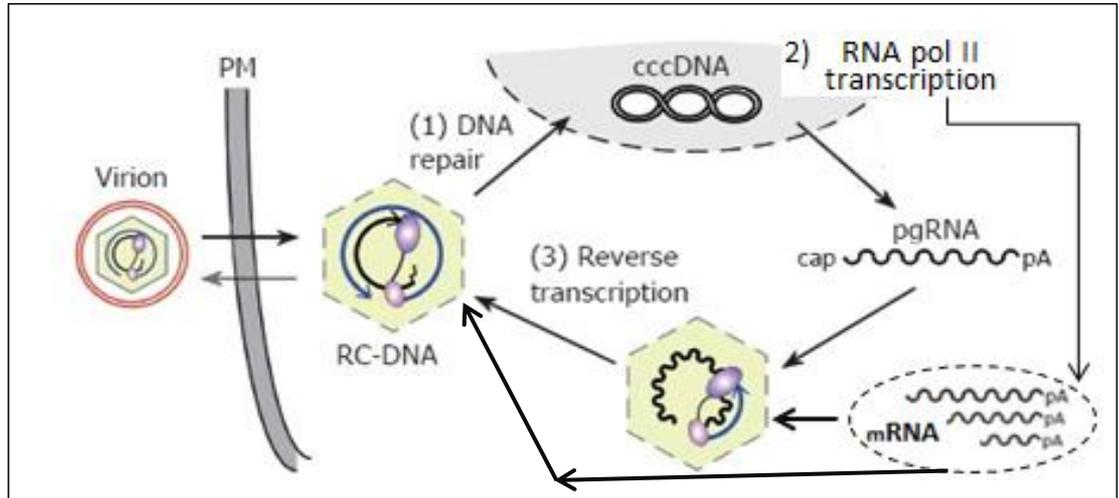
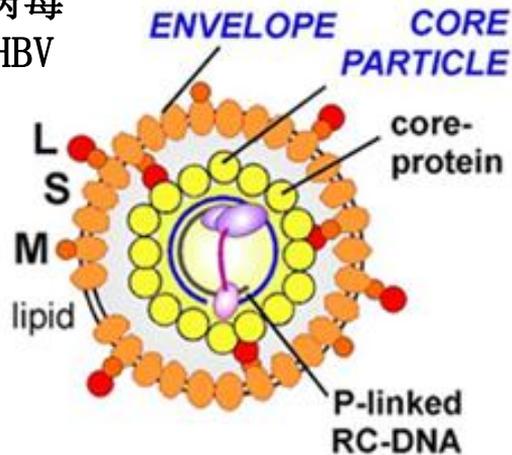
2. 根治乙肝可大幅降低肝硬化和肝癌发病率

- 乙型肝炎（HBV）可导致严重危害健康的肝硬化和肝癌。
- 2015至2030年间，估计共约一千万人会因与慢性肝炎相关的肝硬化、肝癌死亡，2020年我国肝癌死亡人数39万，大部分死亡是由于乙型肝炎感染。。
- 《健康中国2030规划纲要》提出肝癌患者5年生存率从12.1%提升至15%：10年只提高3%
- 根治乙肝：肝硬化和肝癌发病率、死亡率会大幅下降，一举两得。

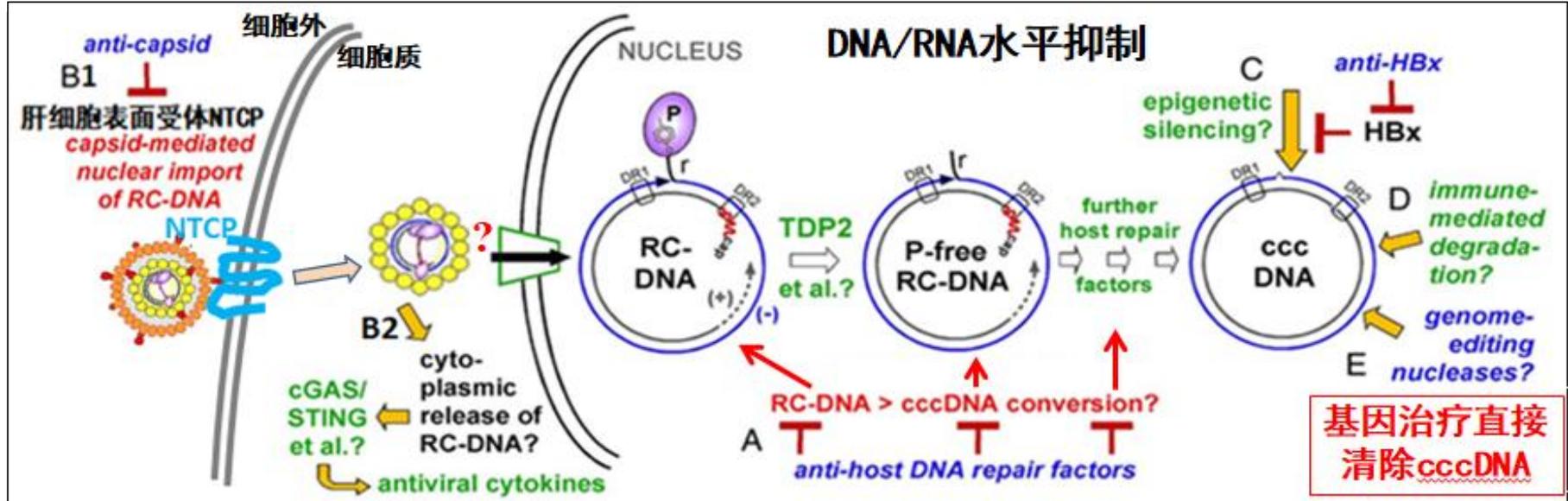
3. 基因治疗治愈乙肝的时代来临

- 乙肝病毒的复制和人基因组复制有很大的不同
- 2020年Crispr/Cas9获诺奖技术，为靶向清除cccDNA，治愈乙肝提供了技术准备，指明了前进的方向。

乙肝病毒
颗粒HBV



4. 传统乙肝药物设计不以cccDNA为靶点



A: 靶向DNA修饰因子;

B2: 阻止RC-DNA进入细胞核;

D: 免疫介导的DNA降解;

B1: 阻止病毒颗粒进入细胞

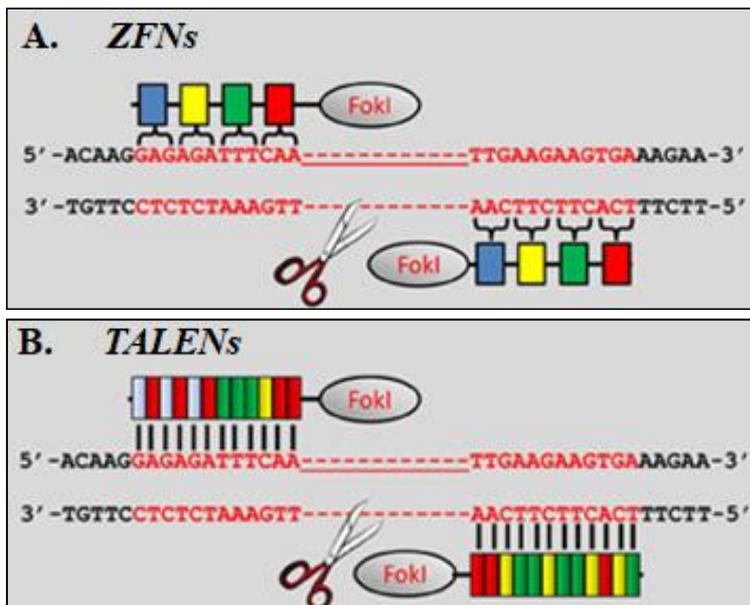
C: 抗HBx作用

E: 基因修饰: 核酸酶降解cccDNA

5. 乙肝的基因治疗尝试--无法治愈乙肝

- ① 基因载体侵染效率低：广谱性基因载体：裸DNA、纳米颗粒、AAV病毒等，嗜肝性有限。
- ② 缺乏安全有效DNA编辑工具：人类基因组有32亿碱基对，需识别17个碱基对（ $4^{16} = 43$ 亿）才能保证不脱靶，不切割人基因组序列。
- ③ 锌指核酸酶（ZFNs）、类转录激活因子效应核酸酶（TALENs）等模块化+核酸酶FokI靶向DNA技术，体积超过了载体包装能力。

核酸酶+DNA靶序列识别模块化

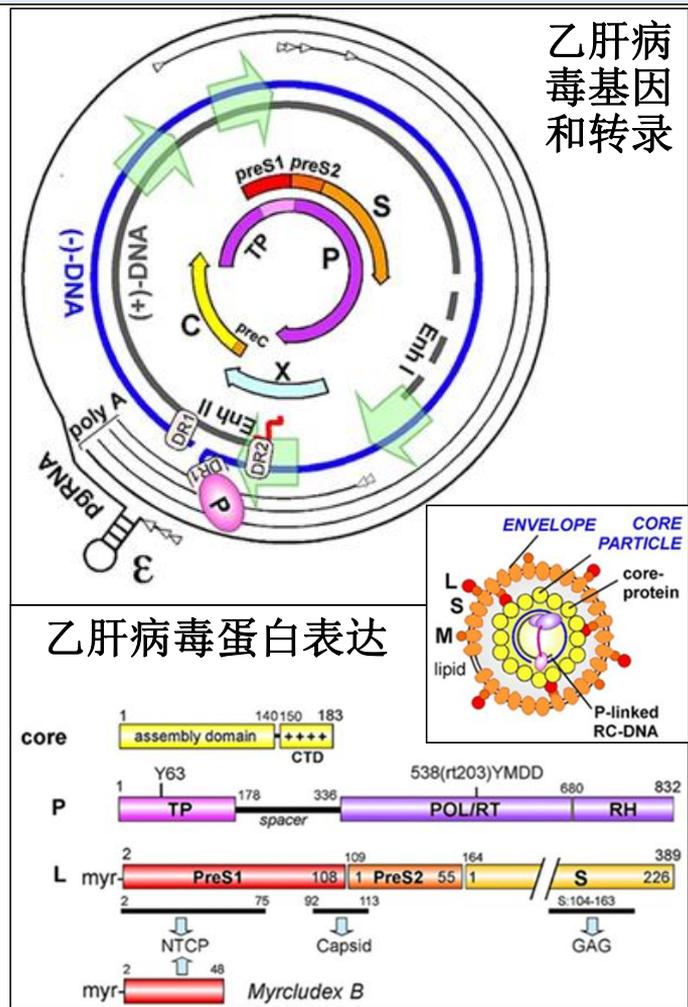


清除病毒cccDNA的策略

6A. 乙肝病毒基因治疗载体

A. 乙肝病毒基因治疗载体优势

- ① 有嗜肝性，是天然、最好的基因治疗肝病载体。
- ② 可以重复感染肝细胞
- ③ 乙肝病毒启动子转录四个mRNA，可用于治疗目的。



清除病毒cccDNA的策略

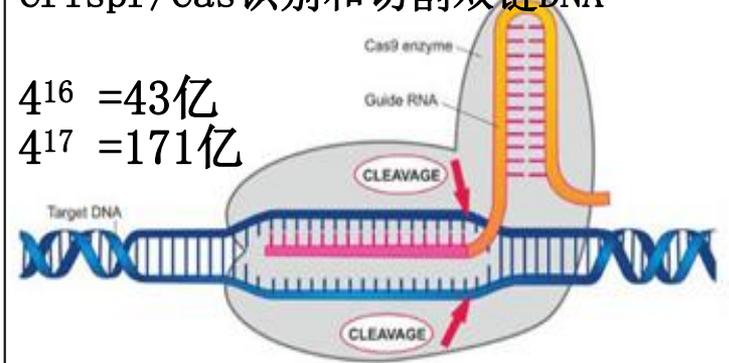
6B. Crispr系统靶向切cccDNA

B. Crispr/Cas基因编辑

- ① Cas9切割双链DNA，编码Cas的基因可包装在乙肝病毒颗粒内
- ③ 人基因组长度为32亿碱基对
- ④ 20个碱基的向导gRNA、PAM引导切割病毒cccDNA，特异性强。
- ⑤ AAV5载体搭载Cas9的临床试验已证明其安全性。

Crispr/Cas识别和切割双链DNA

$4^{16} = 43$ 亿
 $4^{17} = 171$ 亿



- *Streptococcus pyogenes*有长1.8M的环状染色体。
 $4^{10} = 1048576$; $4^{11} = 4194304$
- 细菌用20个碱基的序列识别外源基因，有很大的冗余度保障安全，不会脱靶。

7. 基因治疗机制: 对急、慢性乙肝有效

内切环状乙肝cccDNA成2个线性片段, 不再转录产生病毒mRNA; 无端粒不能稳定存在, 在肝细胞核中降解, 消失。

A. 对急性乙肝的效果

- a) 减少cccDNA直接降低病毒mRNA和蛋白质的产量, 减轻对肝的急性伤害;
- b) 降低病毒颗粒释放数量、降低传染能力。

B. 对慢性乙肝的效果

- a) 乙肝cccDNA无法*De Nove*补充, 在细胞核中逐步消失。
- b) 结合现有功能性治疗乙肝药物, 彻底治愈乙肝。

8. 病毒不能再进入已感染细胞的常识

- ① 常识：病毒感染后会产生体液（抗体）和细胞免疫 = 不会发生再次感染，免疫力不够，病毒依然会在体液内存在，再次感染也会发生，如现有的新新冠病毒疫苗。
- ③ 已受感染肝细胞，表面病毒受体依然存在，病毒和细胞受体结合服从物理化学规律，再次进入细胞自然发生。
- ④ 如果不能内吞进入细胞，说明已在细胞内部的病毒产生了阻止再感染的机制，那就需要理解这个新机制。
- ⑤ 理解了病毒再次进入细胞受阻的机制，就能利用这种机制的高技术壁垒，建立企业防火墙。
- ⑥ 也可用不同亚型的乙肝病毒，其抗体并没有交叉免疫力。

9. 肝病基因治疗载体--平台技术

- a) 许多肝脏遗传性和获得性疾病的分子机理得到阐明，必将进入基因治疗的时代。
- b) 急需嗜肝性基因治疗载体平台。
- c) 乙肝病毒基因载体：天然的肝脏基因治疗载体，对肝脏基因传递特异性强、效率高。
- d) 没有致病性、免疫原性的问题：存在有效的急性乙肝治疗技术和药物

肝炎的分类

- 有甲乙丙丁五种肝病毒，可以重叠感染。
- 药物性肝炎
- 酒精肝
- 脂肪肝，国内有1亿两千万患者。

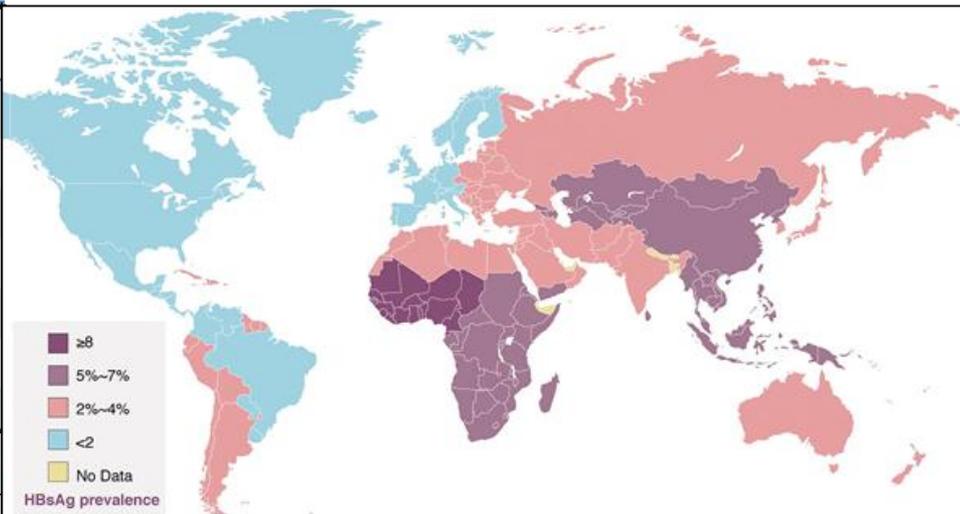
10. 创业创新团队

- 王子元博士，1994年获得康斯坦茨大学硕士学位，1998年获得科隆大学分子遗传学博士学位，1999年至2004年3月在海德堡大学和哥廷根大学医学院进行博士后研究。2004年至汕头大学，2009年调动工作至江苏师范大学生科院工作。
- 李军博士，2008年获得重庆大学生物医学工程硕士学位，2012年3月获德国哈勒-维腾贝格大学药剂学博士学位。2012年7月至2016年7月在清华大学医学院从事博士后研究工作，目前在江苏师范大学生科院任教。
- 侯星生博士，1992年在复旦大学大学毕业，2001年在中国疾病预防控制中心病毒所获得硕士学位，2010年在澳大利亚新英格兰大学获得博士学位，目前在山西医科大学工作。

11. 治愈乙肝的市场价值

世界卫生组织2019年公布慢性乙肝区域流行区域

热点区域	占人口的比例 (%)	慢性乙肝人数
西太平洋区域	6.2	1.15亿
非洲区域	6.1	6000万
东地中海区域	3.3	2100万
东南亚区域	2	3900万
欧洲区域	1.6	1500万
美洲区域	0.7	700万



国际市场



- WHO估计，2019年有2.96亿人患有慢性乙肝感染（HBsAg阳性），导致约82万人死亡；
- 2019年约150万人新感染乙型肝炎。
- 假如50%的慢性乙肝患者进行基因治疗治愈，每例费用5万元¥，盈利1万元¥，则总的市场价值约7.4万亿¥，总盈利约1.48万亿¥。

国内市场

- 据不完全统计，我国现有的乙肝病毒携带者，大约在八千万到一亿左右，每年新增慢性乙肝患者人数不详。
- 若以1亿患者计，50%的乙肝病毒携带者进行基因治疗，每例费用5万元¥，盈利1万元¥，总的市场价值2.5万亿¥，总盈利约5千亿¥。

总结

a) 原创新药

- ① 乙肝病毒载体靶向Crispr/Cas9精准治疗乙肝
- ② 乙肝病毒作为载体嗜肝性强，副作用低。
- ③ 线性DNA从核内逐步降解消失的机制

- b) 用20个核苷的gRNA精确引导靶向乙肝cccDNA，具有高特异性、治疗安全性，致癌风险很低。
- c) 乙肝病毒属于非个体化药物，患者负担的费用低。
- d) 可作为肝基因治疗平台，相比其它通用型载体，肝特异性是差异化基因治疗发展路径。

希望本颠覆性创新的
基因治疗技术和生物
药为千万乙肝病毒携
带者带来治愈的希望，
开始美好的新生活。



基因治疗治愈乙肝
江苏 徐州



谢谢！