

成果名称:	基因敲除食蟹猴疾病模型的干细胞治疗研究
登记日期:	2020-07-26
完成单位:	华南农业大学,中山大学,中山大学附属第三医院,麻省理工学院麦戈文脑科学研究所
完成人员:	杨世华,冯国平,黄群山,柯琼,剡海阔,刘宇,康庄,贾坤,潘俊斌,黄利华,赖兴强,马瑞瑞,张文辉,李加宇,王歌,仇思恩,龚呈,吴绮琪,刘晓星,徐冬冬,卢红宇
研究起止日期:	2015-01-01至2018-12-31
主要应用行业:	卫生和社会工作
社会经济目标:	卫生事业发展
评价单位:	广东省科学技术厅
评价日期:	2020-06-19

成果简介:

一.课题来源与背景 课题来源 课题类型: 广东省重大科技专项; 课题来源单位: 广东省科技厅; 课题立项名称: 基因敲除食蟹猴疾病模型的干细胞治疗研究; 课题编号: 2014B020225007。课题背景 2013年国际上首批报道利用最新的基因编辑技术 (CRISPR/Cas9) 成功研制斑马鱼、小鼠及灵长类动物的基因编辑动物, 引起社会极大关注和反响。此后, 基因编辑技术得到不断改进与发展, 为创制遗传改变所致疾病模型提供了机遇。在项目申报前期, 项目组已经建立猕猴辅助生殖技术体系, 申请人于2007年报道了中国首例试管猴, 2010年报道了转GFP猴, 2014年在国际上报道了p53基因敲除猕猴。在干细胞方面, 项目成员单位已建立20余种食蟹猴多能干细胞系及携带了致病基因的人类多能干细胞系, 并具有嵌合能力; 发现Cx43可显著提高细胞重编程; 利用报告基因载体系统建立调控细胞分化的体系等。这些前提条件为本项目的研究提供了思路, 着力于研制基因突变所致人类疾病的灵长类动物疾病模型, 研究精准治疗研究, 打破此类研究的瓶颈。二.研究目的与意义 灵长类功能基因组学、疾病与遗传突变相关性、遗传性疾病的治疗策略研究等方面, 都对人类疾病模型提出更高的要求, 尤其需要与人类生理病理接近的、自发的、遗传与突变背景清楚的动物模型。许多人类重大复杂疾病尚未有有效的动物模型, 很大程度上阻止了科学研究和产品研发, 如精神神经类发育与疾病、器官发育与发育代谢疾病等, 一直困扰医学的发展。虽然啮齿类为基础医学及生命科学进步做出巨大的贡献, 但目前对这些问题仍然显得束手无策。干细胞移植治疗和干细胞产品具有广泛的应用前景, 但其研究和开发仍然存在许多问题, 如体外分化细胞的种类、数量、功能有限, 关键缺少构建复杂的组织器官模型用于干细胞治疗研究。啮齿类疾病模型研究中, 如小鼠FAH、PDX1和MCPH1基因敲除分别导致肝脏、胰腺和脑神经功能缺陷, 同种干细胞可在FAH和PDX1基因敲除鼠上获得良好治疗效果, 但是人源肝脏细胞治疗FAH基因缺失鼠的疗效较差。这些结果表明, 当同种或物种差异比较小时, 才可真实反映干细胞治疗器官功能缺陷疾病, 模拟人类个性化治疗和精准治疗。因此, 在精准治疗研究方面也需要高质量的动物模型。因此, 研制人类复杂疾病模型和开展干细胞治疗及精准治疗研究, 将打破目前这一问题的瓶颈, 这不仅能推进疾病的分子病因与疾病机理研究, 也为攻克人类重大复杂疾病开拓了新思路和途径, 同时也凸显我国在基因编辑动物方面的领先优势, 为利用基因修饰猴解决人类重大疾病的科学问题和精准医学研究提供重要思路和途径, 也体现了国家生物战略领域发展的紧迫性、前瞻性、重要性。三.主要论点与论据 1、主要论点 人类疾病研究需要基因突变所致的灵长类动物疾病模型。模拟人类疾病的发生、发展与转归的分子基础及机理, 将为精准治疗和生物医药创新发展提供重要的支撑。2、论据 人类面临许多的复杂疾病尚无有效的治疗方案, 且不知道疾病的病因、病理及其分子基础。但是利用人类自身研究不可取, 其中存在伦理、实验材料、实验设计等不可逾越的制约因素, 因此, 寄希望于高度模拟人类复杂疾病的动物模型研究, 尤其在神经与代谢方面, 需要高度模拟人类疾病的模型。另外, 越来越多证据表明, 人类疾病发生与人类遗传改变有关。以及灵长类动物在生理生化及病理方面与人类最近。因此, 本项目以人类疾病相关的突变基因为靶基因, 研制靶基因突变所致的灵长类动物模型, 研究模型模拟人类疾病的特征症状的潜能, 并研究疾病发生的遗传病理学证据, 为疾病的精准治疗和生物医药研究提供重要实验材料, 具有重要的现实意义。四.创见与创新 1、本项目的突破点: 利用和优化国际前沿热点技术—基因编辑技术, 如TALEN和CRISPR/Cas9技术体系, 特别将最新的高效率及点突变技术CPF1、BE3、BE4、ABE、xCAS9、HiFiCas9引入编辑食蟹猴胚胎基因, 完成胚胎基因敲除、基因敲入和点突变。2、本项目获得的创新性成果表现在: (1) 以基因编辑技术创制FAH、PDX1、HBB、MCPH1、SHANK3基因突变食蟹猴, 获得与人类病理接近的基因突变的、自发的、器官功能缺陷的动物疾病模型, 研究基因突变引起受累器官发育和病理的分子机理。(2) 建立FAH基因敲除猴的iPSc细胞系等建系技术和靶向分化技术, 建立食蟹猴羊水干细胞建系方法和细胞系, 提升建立诱导多潜能干细胞的方法。(3) 发现子宫内膜与子宫肌层厚度的比值是胚胎移植受体的关键指标, 建立诱导食蟹猴幼猴(1-2岁)性早熟方法, 快速繁殖其后代。由此, 加快了基因编辑猴子代猴的繁殖效率。全面提高辅助生殖技术体系。(4) 利用核酸递送系统递送miRNA治疗老年食蟹猴骨质丢失, 首次开展灵长类的基因治疗研究。五.社会效益, 存在的问题 人类疾病灵长类动物模型是人类疾病研究的重要动物模型, 尤其在神经、代谢类疾病及传染病等方面具有不可或缺。与人类生理病理接近的、自发的、遗传与突变背景清楚的、由基因突变所致的疾病动物模型是人类复杂疾病研究的理想疾病模型之一, 其突破性发展可有效推动生物医药创新发展, 发挥国家医疗体系对人民生命安全的重要保障作用。六.历年获奖情况 无。