

基因治疗湿性年龄相关性黄斑变性的研究进展

张 依, 王文俊, 杨安怀

引用: 张依, 王文俊, 杨安怀. 基因治疗湿性年龄相关性黄斑变性的研究进展. 国际眼科杂志 2020;20(3):481-484

作者单位: (430060) 中国湖北省武汉市, 武汉大学人民医院眼科
作者简介: 张依, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 玻璃体视网膜膜疾病、白内障超声乳化吸除术及复杂眼外伤。

通讯作者: 杨安怀, 男, 毕业于武汉大学, 医学博士, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 玻璃体视网膜膜疾病、白内障超声乳化吸除术及复杂眼外伤. Yah0525@126.com

收稿日期: 2019-06-24 修回日期: 2020-02-16

摘要

湿性年龄相关性黄斑变性是中心视力进行性受损的严重致盲性疾病, 约占年龄相关性黄斑变性的 10%~15%。近些年来, 随着对其发病机制理解的不断深入, 特别是抗 VEGF 家族的发现, 新药物的临床推广为患者带来了福音。但这种治疗模式, 需要频繁的眼内注射, 许多患者必须无限期的继续使用才得以保存视力。而基因治疗可以提供长期稳定的抗 VEGF 活性, 成为研究的新热点。现将几种基因治疗的方法综述如下。

关键词: 湿性年龄相关性黄斑变性; 基因治疗; 抗血管内皮生长因子; 临床试验

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.3.16

Research progress in gene therapy for wet age-related macular degeneration

Yi Zhang, Wen-Jun Wang, An-Huai Yang

Department of Ophthalmology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: An - Huai Yang. Department of Ophthalmology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. Yah0525@126.com

Received: 2019-06-24 Accepted: 2020-02-16

Abstract

• Wet age-related macular degeneration is a severe and blinding disease with progressive central visual impairment, accounting for about 10% - 15% of age-related macular degeneration. In recent years, with the deepening understanding of its pathogenesis, especially the discovery of anti-VEGF family, the clinical popularization of new drugs has brought benefits to patients. However, this treatment mode requires frequent intraocular injection, and many patients must continue to use it indefinitely to preserve their vision. Gene therapy can provide long-term stable anti-VEGF activity, which has become a new hotspot of research. Several methods

of gene therapy are summarized as follows.

• **KEYWORDS:** wet age-related macular degeneration; gene therapy; anti-VEGF; clinical trials

Citation: Zhang Y, Wang WJ, Yang AH. Research progress in gene therapy for wet age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(3):481-484

0 引言

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 又称为老年性黄斑变性 (senile macular degeneration, SMD), 患者多为 50 岁以上, 双眼先后发病或同时发病, 严重影响老年人的生活质量, 是欧美等发达国家患者致盲最主要的原因。由于人口的老齡化, 我国 ARMD 患者也日益增多^[1-2]。目前, 根据临床表现及病理特征改变的不同可分为两型: 干性老年性黄斑变性 (dry senile macular degeneration, dry-SMD), 或称为非渗出型老年性黄斑变性 (nonexudative senile macular degeneration), 或非新生血管性年龄相关性黄斑变性 (non-neovascular age-related macular degeneration, non-NAMD); 湿性老年性黄斑变性 (wet senile macular degeneration, wet-SMD), 或称为渗出型老年性黄斑变性 (exudative senile macular degeneration), 或新生血管性年龄相关性黄斑变性 (neovascular age-related macular degeneration, NAMD)^[1,3]。

1 NAMD 的发病机制及致病因子

ARMD 是一种多因素的变性疾病, 其病因及发病机制尚不明确。可能与遗传易感性、环境暴露、营养失调、代谢障碍、视网膜的慢性光损伤等因素有关。随着年龄增长, 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 功能障碍, RPE 细胞内物质积聚, 细胞外基质异常地聚集于基底膜, 在 RPE 层与 Brush 膜之间聚集形成玻璃膜疣 (drusen), 这种聚积物沿着 Brush 膜扩散增厚, 最终光感受器和 RPE 细胞逐渐死亡, 这一阶段的疾病称为 non-NAMD 或 dry-SMD^[1,3]。随着病变的发展, 大多数 ARMD 患者的中心视力进行性恶化, 这是由于感光细胞和 RPE 层细胞死亡增多, 导致视网膜局部萎缩, 称为地图样萎缩。遗传研究表明, 补体介导的炎症损伤在 ARMD 的易感性中起着重要的作用^[4-6], 但它究竟是如何发挥作用还不得而知。总的来说, 目前对于 non-NAMD 的发病机制还没有足够了解, 因此无法确定其治疗的发展路径。

大约 20% 的 non-NAMD 患者由于脉络膜和 (或) 视网膜深层毛细血管的异常生长, 侵犯视网膜下空间, 最终转变为 NAMD^[3]。NAMD 是以黄斑下脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 形成, 血管发生渗漏、出血、水肿, 最终形成纤维瘢痕为特点, 致使中心视力进行性受损的严重致盲性疾病^[1,7]。目前认为 NAMD 主要发病机制有以下两点: (1) 由于 RPE 细胞的应激或损伤以及相

关的免疫反应促进血管内皮生成因子(choroidal neovascularization, VEGF)的产生,从而驱动 CNV 的形成^[8]。(2)脉络膜血管系统的退行性改变是促进病理性血管生成的另一个可能的因素。从早期的 ARMD 患者的检查可以发现,脉络膜毛细血管和 Sattler 层的血管减少和(或)血流灌注的减低,可促使病理性血管的形成。无症状的病理性血管的改变可引起脉络膜缺氧及 VEGF 分泌增多,导致病变血管的形成^[7,9-10]。VEGF 在新生血管形成、血管渗透增加中发挥重要的作用。在 VEGF 家族中,有 VEGF A~F 六个成员,其中 VEGF-A 是动物模型和人类 NAMD 的关键因子^[11-12]。临床观察表明,玻璃体腔内注射抗 VEGF-A 药物,抑制了 CNV 的生成,减少血管的渗漏,显著地改善了 NAMD 患者的预后。因此抗 VEGF 是治疗 NAMD 的中心环节^[12-13]。

2 基因治疗的发展背景

目前,临床上常用抗 VEGF 药物治疗 NAMD,但是随着大量的临床应用,发现这种治疗方法,需要频繁持久的眼内注射,增加了治疗成本,且容易并发眼内炎、眼压升高及其他不良事件的风险,同时需要良好的依从性的配合,患者才得以保存中心视力^[14]。随着我国的人口老龄化,我们迫切需要给 NAMD 患者提供长期的治疗方案,探索发展一种具有持续抗 VEGF 活性的治疗方法,而基因治疗为这种治疗策略提供了一个可行的方案。

3 眼部基因治疗的特点

基因治疗的前提,需要将遗传物质传递到宿主细胞,以纠正功能失调的基因或编码成治疗蛋白^[15]。基因治疗通常针对单因素变性疾病,目前大量临床试验数据表明,基因治疗在眼科多因素变性疾病中发挥作用,如糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)和 ARMD^[3,16-17]。

眼睛作为基因治疗的靶器官,其优势有以下几点:(1)可以进行局部治疗而不是静脉注射,可以最大限度地减少基因载体的全身吸收,一旦被感染,眼部免疫相关机制会限制引发不必要的全身反应^[18]。(2)由于眼睛体积小,极少量的载体浓度足以达到基因治疗的水平。(3)眼部的局部解剖,显示出高度的生理分隔,使特定的细胞群体容易成为治疗目标。(4)光学介质的透明性使得眼科相关检查如视网膜电图(electroretinogram, ERG)、光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)、荧光素眼底血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)等易于进行评估^[16]。

4 常见的基因治疗 NAMD 的方法

基因治疗 NAMD 可以提供长期持续表达抗 VEGF 作用的蛋白质。这种治疗方式中,遗传信息的传递需要病毒作为载体。目前用于眼基因治疗的临床试验中常用的病毒载体包括腺病毒(adenovirus)、腺相关病毒(adenovirus-associated virus, AAV)载体,即细小病毒家族的小单链 DNA 病毒,以及逆转录病毒家族中的慢病毒(lentiviral, LV)即 RNA 病毒。这两类病毒都可以转染非分裂细胞,但腺病毒及 AAV 载体转染细胞是不整合的,而 LV 载体可将外源基因整合到宿主细胞基因组中,具有更大的转基因能力^[13-14]。在成功转染后,靶细胞转录并将病毒携带的遗传物质转化为治疗蛋白,发挥治疗的作用。

4.1 色素上皮衍生因子 色素上皮衍生因子(pigment epithelium derived factor, PEDF)是一种较强的抗血管生成因子,在内皮细胞增殖过程中具有促进细胞凋亡的作

用^[19]。在 2006 年, Campochiaro 等^[20]发布了使用表达人 PEDF 的腺病毒载体(AdPEDF.11)进行 I 期临床试验(NCT00109499)的结果。在他们的多中心、剂量递增的研究中,给予 28 例晚期 NAMD 的患者玻璃体腔内注射 AdPEDF.11,观察发现注射后的几个月,没有严重的不良事件及毒副作用,而且其抗血管生成作用可以持续几个月,高剂量载体治疗组患者 1a 后的病变大小稳定。抗血管生成活性及载体良好的安全性足够支持 II 期临床试验来测试载体的有效性。然而,可能由于以下原因,目前并没有针对腺病毒的进一步临床试验:(1) Campochiaro 等的研究小组早期进行的研究是在几种小鼠模型中使用编码人 PEDF 的腺病毒靶向抑制新生血管的形成^[21-22],在基因治疗的发展史中,被证明与猝死有关^[23];(2)腺病毒缺乏靶向性,且具有较强的免疫原性,尤其是基因治疗持续时间短等特点^[24],与基因治疗 NAMD 需要长期稳定地表达抗 VEGF 蛋白的设计思路背道而驰。随后 Campochiaro 等通过试验使用表达人 PEDF 的 AAV 载体,研究抑制新生血管形成的作用^[25]。AAV 载体可持续表达人 PEDF,在小鼠模型中尚未发现病毒毒性,长期表达 PEDF 对眼睛的影响需要进一步的研究,但利用 AAV 载体表达人 PEDF 在未来可能是一个可行的临床试验。

4.2 可溶性的血管内皮生长因子受体-1 由 Genzyme 赞助的 I 期临床试验(NCT01024998),是在美国四家视网膜门诊所进行的一个剂量递增的开放标签试验,可溶性的血管内皮生长因子受体-1(soluble VEGF receptor 1, sFlt-1)成为研究的靶点。在 19 例晚期 NAMD 患眼的玻璃体腔内注射编码 sFlt-1 的 AAV2 载体(a recombinant AAV2 encoding sFlt-1, AAV2.sFLT1),随访 52wk,通过测定房水中 sFlt-1 和 AAV2 中和抗体(neutralizing antibody, NAbs)的水平,证实了玻璃腔内注射所有剂量下都具有良好的耐受性。然而,在接受最大剂量的患者中,有 50% 患者没有检测到 sFlt-1。在 sFlt-1 表达阳性的患者中,4/5 患者没有测到 NAbs,而另 1 例患者的滴度非常低(1:100)。在 5 例给予最大剂量而无 sFlt-1 表达的患者中,4/5 患者的 NAbs 滴度较高,1 例无 NAbs。这项研究结果表明,需要高剂量的 AAV2.sFlt-1 的安全性和有效性进一步验证,同时,是否 NAbs 的存在对靶基因的表达有影响,尚须进一步的研究^[26-27]。

在澳大利亚进行了第 2 个 I 期、II a 期的单中心、随机对照临床试验(NCT01494805),I 期、II a 期分别招募 9 例患者和 32 例患者,符合入选标准条件下所有的患者在治疗之初及第 4wk 接受玻璃体腔内注射雷珠单抗的治疗,然后每 4wk 随访患者的不良事件及最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)的变化,必要时可给予雷珠单抗的补救治疗。I 期临床试验虽然不足以评价载体的疗效,但可初步说明视网膜下注射 rAAV.sFLT-1(AVA-101)的可重复性,值得注意的是,4/6 接受治疗的患者不需要补救治疗,2/6 患者在随访近 4mo 的治疗期间需要 1 次补救治疗^[28]。因此该临床试验结果表明,视网膜下注射 rAAV.sFlt-1 是安全的、耐受性良好,而 II a 期的临床试验进一步验证了 I 期临床试验的结果,但并没有新结果的发现^[29]。随后, Rakoczy 等^[30]在前期的临床研究的基础上公布了 I 期/II a 期视网膜下注射 rAAV.sFLT-1 治疗渗出性年龄相关性黄斑变性的临床研究结果,结果同之前无异,同样由于样本量少,无法证实生物学效应,但它同样证

实了视网膜下注射 rAAV.sFlt-1 是安全的,同时在老年人中耐受性良好。

4.3 AA8 载体介导的抗人 VEGF 抗体片段 Liu 等^[31]在表达人 VEGF 的转基因小鼠中建立 III 型 CNV,通过视网膜下注射不同剂量的 AA8 载体介导的抗人 VEGF 抗体片段(AAV8-antiVEGFfab),可以观察到 AAV8-antiVEGFfab 的抗血管生成及抗血管渗透的作用。研究表明,小鼠眼部注射 $\geq 1 \times 10^7$ 基因拷贝数(gene copy, GC)的 AAV8-antiVEGFfab 比无载体注射可显著地减少视网膜新生血管(neovascular, NV)的区域,剂量依赖反应可以被观察到, $\leq 3 \times 10^7$ 的 GC 可轻度地减少视网膜新生血管, $\geq 1 \times 10^8$ 的 GC 可减少 50% NV, 3×10^9 或 1×10^{10} 的 GC 可几乎完全消除 NV。这项研究强烈地支持在 NAMD 患者中开展视网膜下注射 AAV8-antiVEGFfab 的临床试验。

AAV8-antiVEGFfab 目前也被 Regenxbio 公司赞助的 I 期临床试验(NCT03066258)作为研究目标,他们正在评估 AAV8-antiVEGFfab (RGX-314)的安全性和耐受性, RGX-314 是一种编码可溶性抗 VEGF 蛋白的 AAV8 载体的药物。RGX-314 旨在对抗因眼睛中形成的 NV 而引起视力的丧失,从而减少对抗 VEGF 药物注射频率的需求。该研究中纳入 18 例晚期 NAMD 患者,分别接受 3 种不同剂量的基因治疗。从 Regenxbio 公司公布的 I 期临床试验的中期数据可以看出,基因疗法 RGX-314 在所有剂量下都是安全且耐受良好的,所有三组的蛋白质表达水平均呈剂量依赖性增高,抗 VEGF 药物的注射频率也呈剂量依赖性减少^[27,32]。

4.4 内皮抑素和血管抑素 内皮抑素(endostatin)是胶原蛋白 18 的裂解产物,内源性内皮抑素在抑制实验小鼠 CNV 模型中得到了验证^[33]。血管抑素(angiostatin)是纤溶酶原的一个片段,在激光诱导的 CNV 大鼠模型中,视网膜下注射 AAV-Angiostatin 可以显著减小 CNV 的病变范围^[34]。由 Campochiaro 等发布了针对晚期 NAMD 患者的 I 期剂量递增的临床试验——Endostatin/Angiostatin 基因转录治疗黄斑变性的研究结果(GME 研究, NCT01301443),检测表达 Endostatin/Angiostatin 的马传染性贫血病毒(equine infectious anemia virus, EIAV)载体的安全性和生物活性。结果显示,在该研究的受试对象中,房水中检测到 Endostatin/Angiostatin 的水平与载体剂量相关,持续高水平的 Endostatin/Angiostatin 在眼内表达可减少 FFA 中 CNV 的渗漏,但并不能可靠地消除晚期 NAMD 患者视网膜下和(或)视网膜内液体。每个剂量组的受试患者的耐受性良好,没有剂量限制的毒性,几乎没有眼部炎症的发生。与手术相关的严重不良事件为黄斑裂孔,在治疗过程中结局良好。因此视网膜下注射 EIAV-Endostatin/Angiostatin (RetinoStat[®])是安全的,耐受性良好,可持续的转基因表达,重复性好^[35]。

4.5 抗 VEGF rAAV-cDNA 抗 VEGF rAAV-cDNA (ADVM-022/ADVM-032)是一种编码阿柏西普(aflibercept)/雷珠单抗(ranibizumab)的优化的腺相关病毒载体的药物,主要被用于玻璃体腔内注射,以传递目的基因和高水平表达治疗蛋白。这些疗法尚处于临床前期的研究阶段。目前,ADVM-022 的临床前期工作结束,结果显示,在激光诱导的非人类灵长类动物的 CNV 模型中,玻璃体腔内注射 ADVM-022 的动物模型耐受性良好,可致持续生成 aflibercept,类似于长期持续 aflibercept 作用的

效果。此外,在激光照射前 13mo 给予 ADVM-022 可预防临床相关的 CNV 病变的发生,类似于动物 CNV 模型接受 aflibercept 的护理标准。结果表明,单次玻璃体腔内注射 ADVM-022 可能为 wet-ARMD 提供一种安全有效的长期治疗方案,并可能最终改善患者的视力结果^[36]。ADVM-032 仍处于临床前期的研究阶段,尚未公布相关研究的临床前试验的数据及结果。

4.6 抗 TANK 结合激酶 1 单克隆抗体 抗 TANK 结合激酶 1(TANK-binding kinase 1, TBK1),又称 NF- κ B 激活激酶(NF- κ B-activating kinase, NAK),是一种广泛表达色氨酸、丝氨酸的激酶,它属于非典型性的 I κ B 激酶,在调节 I 型干扰素(interferon, IFN)的产生和 IFN 调节因子 3(IFN regulatory factor 3, IRF3)与 NF- κ B 的信号通路中起重要的作用^[37]。在之前的研究中证实, TBK1 参与多种细胞途径的激活和促炎因子的产生,以及细胞生长和增殖等细胞稳态等功能^[38-40]。并且, TBK1 可诱导人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)增殖,是肿瘤血管形成的新介质,同时它也可以上调炎症因子的生成发挥促炎作用,尽管一些研究暗示了 TBK1 在血管生成和炎症中的作用,但 TBK1 在 CNV 中的作用还未得到验证^[41-43]。而在 Cui 等^[37]开展的试验研究中证实, TBK1 可以促进脉络膜视网膜内皮细胞系(A choroid-retinal endothelial cell line, RF/6A)的增殖和成管,增加 VEGF 的表达,在激光诱导形成 CNV 的鼠模型中,玻璃体腔内注射抗 TBK1 单克隆抗体可显著地减少 CNV 的形成,这个研究结果表明 TBK1 是治疗 NAMD 的潜在靶点。

5 结局和展望

基因治疗在眼病的治疗和失明的预防方面显示出巨大的前景。前期的临床试验数据表明,基因治疗对视网膜和(或)脉络膜 CNV 的形成、VEGF 水平的高表达有抑制作用,但目前尚不清楚,长期持续有效的 VEGF 阻断是否会对正常脉络膜血管和视网膜光感细胞产生不良影响。此外,同抗 VEGF 中和蛋白的治疗相似,抗 VEGF 基因治疗效果的丧失是对 NAMD 的另一个重要的临床问题。尽管基因疗法在治疗湿性年龄相关性黄斑变性中展现出积极的效果,但仍需要大量临床前期的研究结果来验证这些问题,同时可为后期临床试验奠定基础。

参考文献

- 葛坚,王宁利. 眼科学. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社 2015
- Margherio RR, Margherio AR, DeSantis ME. Laser treatments with verteporfin therapy and its potential impact on retinal practices. *Retina* 2000;20(4):325-330
- Campochiaro PA. Gene transfer for neovascular age-related macular degeneration. *Human Gene Ther* 2011;22(5):523-529
- Gold B, Merriam JE, Zernant J, et al. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nature Genetics* 2006;38(4):458-462
- Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, et al. Complement Factor H Variant Increases the Risk of Age-Related Macular Degeneration. *Science* 2005;308(5720):419-421
- Edwards AO, Ritter R, Abel KJ, et al. Complement Factor H Polymorphism and Age-Related Macular Degeneration. *Science* 2005;308(5720):421-424
- van Lookeren Campagne M, Lecouter J, Yaspan BL, et al. Mechanisms of age-related macular degeneration and therapeutic opportunities. *J Pathol* 2014;232(2):151-164

- 8 Ambati J, Fowler BJ. Mechanisms of Age - Related Macular Degeneration. *Neuron* 2012;75(1):26-39
- 9 Arjamaa O, Aaltonen V, Piippo N, et al. Hypoxia and inflammation in the release of VEGF and interleukins from human retinal pigment epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exper Ophthalmol* 2017; 255(9):1757-1762
- 10 Mullins RF, Johnson MN, Faidley EA, et al. Choriocapillaris Vascular Dropout Related to Density of Drusen in Human Eyes with Early Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(3):1606-1612
- 11 Campa C, Kasman I, Ye W, et al. Effects of an Anti-VEGF-A Monoclonal Antibody on Laser-Induced Choroidal Neovascularization in Mice: Optimizing Methods to Quantify Vascular Changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(3):1178-1183
- 12 黎晓新. 正确理解新生血管性疾病的发病机制,合理行使抗新生血管药物治疗. *中华眼底病杂志* 2008;24(3):157-159
- 13 Hussain RM, Ciulla TA. Emerging vascular endothelial growth factor antagonists to treat neovascular age-related macular degeneration. *Expert Opin Emerg Drugs* 2017;22(3):235-246
- 14 Pechan P, Wadsworth S, Scaria A. Gene Therapies for Neovascular Age - Related Macular Degeneration. *Cold Spring Harbor Perspect Med* 2014;5(7):a17335
- 15 Prea SM, Chan EC, Dusing GJ, et al. Gene Therapy with Endogenous Inhibitors of Angiogenesis for Neovascular Age - Related Macular Degeneration: Beyond Anti - VEGF Therapy. *J Ophthalmol* 2015;2015:201726
- 16 Stieger K, Cronin T, Bennett J, et al. Adeno - Associated Virus Mediated Gene Therapy for Retinal Degenerative Diseases. *Adeno - Associated Virus* 2011;807:179-218
- 17 Fritsche LG, Fariss RN, Stambolian D, et al. Age-related macular degeneration; genetics and biology coming together. *Ann Rev Genom Human Genet* 2014;15:151-171
- 18 Zhou R, Caspi RR. Ocular immune privilege. *Biol Rep* 2010;2:3
- 19 Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, et al. Pigment Epithelium - Derived Factor: A Potent Inhibitor of Angiogenesis. *Science* 1999;285(5425):245-248
- 20 Campochiaro PA, Nguyen QD, Shah SM, et al. Adenoviral Vector-Delivered Pigment Epithelium - Derived Factor for Neovascular Age - Related Macular Degeneration: Results of a Phase I Clinical Trial. *Human Gene Ther* 2006;17(2):167-176
- 21 Mori K, Ando A, Gehlbach P, et al. Inhibition of choroidal neovascularization by intravenous injection of adenoviral vectors expressing secreted endostatin. *Am J Pathol* 2001;159(1):313-320
- 22 Mori K, Duh E, Gehlbach P, et al. Pigment epithelium - derived factor inhibits retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Physiol* 2001;188(2):253-263
- 23 Marshall E. Gene Therapy Death Prompts Review of Adenovirus Vector. *Science* 1999;286(5448):2244-2245
- 24 胡奇婵,陈玥,王丽,等.腺病毒载体用于基因治疗的研究进展. *解放军医药杂志* 2011;23(5):76-80
- 25 Mori K, Gehlbach P, Yamamoto S, et al. AAV - Mediated Gene Transfer of Pigment Epithelium - Derived Factor Inhibits Choroidal Neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):1994-2000
- 26 Heier JS, Kherani S, Desai S, et al. Intravitreal injection of AAV2-sFLT01 in patients with advanced neovascular age - related macular degeneration; a phase 1, open - label trial. *Lancet* 2017;390(10089):50-61
- 27 Ramlogan-Steel CA, Murali A, Andrzejewski S, et al. Gene therapy and the adeno-associated virus in the treatment of genetic and acquired ophthalmic diseases in humans: Trials, future directions and safety considerations. *Clin Exper Ophthalmol* 2019;47(4):521-536
- 28 Rakoczy EP, Lai C, Magno AL, et al. Gene therapy with recombinant adeno - associated vectors for neovascular age - related macular degeneration; 1 year follow - up of a phase 1 randomised clinical trial. *Lancet* 2015;386(10011):2395-2403
- 29 Constable IJ, Pierce CM, Lai C, et al. Phase 2a Randomized Clinical Trial: Safety and Post Hoc Analysis of Subretinal rAAV. sFLT-1 for Wet Age-related Macular Degeneration. *E Bio Med* 2016;14:168-175
- 30 Rakoczy EP, Magno AL, Lai CM, et al. Three-year follow-up of Phase 1 and 2a rAAV. sFLT-1 subretinal gene therapy trials for exudative age related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2019;204:113-123
- 31 Liu Y, Fortmann SD, Shen J, et al. AAV8 - anti VEGF Fab Ocular Gene Transfer for Neovascular Age - Related Macular Degeneration. *Mol Ther* 2018;26(2):542-549
- 32 REGENXBIO. Retrieved Aug 8, 2018. <https://regenxbio.gcs-web.com/news-releases/news-release-details/regenxbio-reports-second-quarter-2018-financial-and-operating>.
- 33 Marneros AG, She H, Zambarakji H, et al. Endogenous endostatin inhibits choroidal neovascularization. *FASEB J* 2007;21(14):3809-3818
- 34 Lai C, Wu W, Chen S, et al. Suppression of Choroidal Neovascularization by Adeno - associated Virus Vector Expressing Angiostatin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(10):2401-2407
- 35 Campochiaro PA, Lauer AK, Sohn EH, et al. Lentiviral Vector Gene Transfer of Endostatin/Angiostatin for Macular Degeneration (GEM) Study. *Human Gene Ther* 2017;28(1):99-111
- 36 Grishanin R, Vuilleminot B, Sharma P, et al. Preclinical Evaluation of ADVN-022, a Novel Gene Therapy Approach to Treating Wet Age-Related Macular Degeneration. *Mol Ther* 2019;27(1):118-129
- 37 Cui K, Zhang S, Liu X, et al. Inhibition of TBK1 reduces choroidal neovascularization *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;503(1):202-208
- 38 Cruz VH, Brekken RA. Assessment of TANK-binding kinase 1 as a therapeutic target in cancer. *J Cell Commun Signal* 2018;12(1):83-90
- 39 Ahmad L, Zhang SY, Casanova JL, et al. Human TBK1: A Gatekeeper of Neuroinflammation. *Trends Mol Med* 2016;22(6):511-527
- 40 Hasan M, Yan N. Therapeutic potential of targeting TBK1 in autoimmune diseases and interferonopathies. *Pharmacol Res* 2016;111:336-342
- 41 Korherr C, Gille H, Schäfer R, et al. Identification of proangiogenic genes and pathways by high-throughput functional genomics: TBK1 and the IRF3 pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(11):4240-4245
- 42 Czabanka M, Korherr C, Brinkmann U, et al. Influence of TBK-1 on tumor angiogenesis and microvascular inflammation. *Front Biosci* 2008;13:7243-7249
- 43 Lee SH, Kim KW, Joo K, et al. Angiogenin ameliorates corneal opacity and neovascularization via regulating immune response in corneal fibroblasts. *BMC Ophthalmol* 2016;16:57