

# 视网膜色素变性基因治疗的相关研究进展

邓方圆<sup>1,2</sup>, 韩梦雨<sup>1,2</sup>, 邓婷婷<sup>2</sup>, 金明<sup>2</sup>

引用: 邓方圆, 韩梦雨, 邓婷婷, 等. 视网膜色素变性基因治疗的相关研究进展. 国际眼科杂志 2021;21(7):1205-1208

作者单位:<sup>1</sup>(100029) 中国北京市, 北京中医药大学;<sup>2</sup>(100029) 中国北京市, 中日友好医院眼科

作者简介: 邓方圆, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医药防治眼底病。

通讯作者: 金明, 女, 硕士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中医药防治眼疾病. jinmingyk@163.com

收稿日期: 2020-07-22 修回日期: 2021-05-26

## 摘要

视网膜色素变性(RP)是以视杆和视锥感光细胞退化及视网膜色素上皮细胞变性为特征的遗传性视网膜疾病。RP发病年龄和病情进展与基因和遗传方式有关,受环境影响。基因治疗通过载体转移治疗性基因,对靶细胞进行遗传修饰,纠正或替代致病RP基因。本文介绍RP基因治疗相关基因载体研究进展,并就5个常见基因型(RHO、PDE6B、MERTK、RLBP1、RPGR)对RP基因治疗疗效及安全性研究进展予以综述。

关键词: 视网膜色素变性; 基因治疗; 研究进展; 综述

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.7.15

## Research progress of gene therapy for retinitis pigmentosa

Fang-Yuan Deng<sup>1,2</sup>, Meng-Yu Han<sup>1,2</sup>, Ting-Ting Deng<sup>2</sup>, Ming Jin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Correspondence to: Ming Jin. Department of Ophthalmology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China. jinmingyk@163.com

Received:2020-07-22 Accepted:2021-05-26

## Abstract

• Retinitis pigmentosa (RP) is a hereditary retinal disease characterized by degeneration of retina rods and cones photoreceptor cells and degeneration of retinal pigment epithelial cells. The age of onset and progression of RP are genetically related and influenced by the environment. Gene therapy uses vectors in delivering therapeutic genes to genetically modify target cells, so as to correct or replace the disease-causing RP genes. This article introduces the research progress of vectors in RP gene therapy, and review the efficacy and safety of gene therapy on five common genotypes (RHO, PDE6B,

MERTK, RLBP1, RPGR).

• KEYWORDS: retinitis pigmentosa; gene therapy; research progress; review

Citation: Deng FY, Han MY, Deng TT, et al. Research progress of gene therapy for retinitis pigmentosa. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(7):1205-1208

## 0 引言

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一组以视杆和视锥感光细胞退化及视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞变性为特征的遗传性视网膜疾病<sup>[1]</sup>。RP首发症状多为夜盲,随后是进行性视野丧失及视力下降等。眼底退行性表现通常包括视网膜骨细胞样色素沉着、视网膜血管变细及视盘蜡黄三联征。非综合征型视网膜色素变性15%~25%为常染色体显性遗传RP (autosomal dominant retinitis pigmentosa, ADRP),5%~20%为常染色体隐性遗传RP (autosomal recessive retinitis pigmentosa, ARRP),5%~15%为X连锁遗传RP(X-linked retinitis pigmentosa, XLRP)<sup>[2]</sup>。

RP发病、病情严重程度及进展与基因和遗传方式有关,受环境影响。基因治疗使用病毒或非病毒载体转移治疗性基因,对视网膜细胞进行遗传修饰,在基因水平上纠正遗传缺陷。视网膜为基因治疗提供了以下条件:(1)眼内结构高度分区,允许基因传递载体集中传递,约100 $\mu$ L体积内能够传递高达每个载体1.0 $\times$ 10<sup>10</sup>到2.0 $\times$ 10<sup>10</sup>个拷贝数<sup>[3]</sup>;(2)血-眼屏障避免基因载体眼外扩散,只转染眼部特定靶细胞,且不易引发全身副作用;(3)视网膜细胞群体稳定,非整合载体导入基因可持续表达。故而RP基因治疗具有独特优势及切实可行性。

## 1 RP基因治疗载体

基因治疗将外源性基因通过基因载体转染靶细胞,并得以稳定复制及表达。RP基因治疗载体主要分为病毒载体与非病毒载体。腺病毒(adenovirus, AD)和腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)是RP基因治疗研究常用病毒载体<sup>[4]</sup>。AD转导有效性高且运载量大。但AD某些血清型流行度高,部分患者携带中和性抗体,人体较高免疫原性限制AD基因治疗应用。AAV具有广泛转染性、较低免疫原性、较高转导效率及细胞特异性,可有效靶向RPE和视杆、视锥感光细胞,是目前RP基因治疗最常用递送系统。利用基因工程技术修改AAV衣壳,使AAV更适合RP基因治疗输送。Carvalho等<sup>[5]</sup>在小鼠和灵长类动物视网膜下注射Anc80L65-AAV变体,表现出高水平RPE和光感受器细胞靶向。为了优化转导效率,已分离出几种AAV衣壳,AAV2/1,AAV2/4和AAV2/6血清型有效转染RPE细胞<sup>[6]</sup>。尽管具有较高转染效率,但病毒载体免疫原性、致瘤性、致突变性不容忽视。非病毒载体可用较大基因片段转染细胞,且免疫反应风险较低,但缺乏使基因

长期表达能力。Gallego 等<sup>[7]</sup>基于微环 DNA 技术,有效提高阳离子脂质体在体外 RPE 细胞及大鼠视网膜基因转染效率。具体可根据各载体特点,针对致病基因亚型及患者情况酌情选用。

RP 基因载体注射途径主要分为视网膜下注射和玻璃体腔内注射。多数 RP 基因治疗研究采用视网膜下注射载体,通过短暂视网膜脱离注入视网膜下空间以转染靶细胞。玻璃体腔内注射将基因载体注入玻璃体腔,避免视网膜脱离造成视网膜损伤。Davis 等<sup>[8]</sup>证实玻璃体腔内注射对视网膜内或视神经疾病有效。Reid 等<sup>[9]</sup>注射重组腺相关病毒 (recombinant adeno-associated virus, rAAV) 载体 rAAV2/2[7m8] 及 rAAV2/2[QuadYF+TV] 突变嵌合载体 rAAV2/2[ MAX ] 于小鼠玻璃体腔内,光感受器转染效率明显高于单突变血清型。Khabou 等<sup>[10]</sup>改造成玻璃体内注射耐受性良好 AAV2 载体,但对非人类灵长类动物光感受器渗透主要或仅在中心凹。

目前 RP 基因治疗研究多基于动物模型,少数 ARR (PDE6B、MERTK、RLBP1 等) 和 XLRP (RPCR 等) 基因型临床试验正在进行。ADRP 虽尚无相关临床试验报道,但 ADRP 最常见基因型 RHO 基因治疗相关研究较为热点。现总结 RP 常见基因型基因治疗相关文献,对 RP 基因治疗疗效及安全性研究进展予以综述。

## 2 视网膜色素变性基因治疗

### 2.1 RHO 视紫红质基因 (rhodopsin gene, RHO) 编码参与视觉转导的光敏蛋白,为 ADRP 最常见突变基因,约占 ADRP 的 40%<sup>[11]</sup>。RHO 突变型 RP 患者多于 20 岁前出现首发症状,平均每年视敏度 (visual acuity, VA) 下降 1.6%、视野 (visual field, VF) 丧失 2.6%,于 50~70 岁失明。RHO 特征性眼底改变多局限于 1~2 个象限,且伴发黄斑囊样水肿 (cystoid macular edema, CME),少数患者见广泛眼底改变。RHO 基因 P23H 突变为首个确认 RP 相关基因突变,Mitra 等<sup>[12]</sup>将短干扰 RNA (short interfering RNA, shRNA) 和野生型 RHO 与纳米颗粒一起输送到敲入型 Rho<sup>P23H/P23H</sup> 小鼠模型中,小鼠视觉功能出现部分改善。然而相关研究结果对比并非十分明显,或因 RHO 为活跃基因,在 mRNA 水平上干扰调节蛋白质水平具有挑战,故而基因组编辑技术成为 ADRP 基因治疗研究热点。Bakondi 等<sup>[13]</sup>于 Rho<sup>S334</sup> 突变小鼠视网膜下注射常回文重复序列丛集及其相关蛋白 9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeat/CRISPR-associated protein 9, CRISPR/Cas9) 组件,小鼠视敏度增加 53%,光感受器得以挽救。Latella 等<sup>[14]</sup>将 CRISPR/Cas9 和针对 RHO 基因外显子 1 的 3' 和 5' 区域向导 RNA (guide RNA, gRNA) 注射表达 RHO<sup>P23H</sup> 小鼠模型视网膜下,成功降低突变基因表达水平。Tsai 等<sup>[15]</sup>于小鼠视网膜下注射 AAV2/8 载体系统传递 CRISPR/Cas9 系统和外源 RHO 基因,3mo 后联合消融置换基因治疗小鼠外核层 (outer nuclear layer, ONL) 厚度比单纯基因置换治疗小鼠 ONL 厚度增加约 17%~36%,且视网膜电图 (electroretinogram, ERG) a 波和 b 波振幅更大。Cideciyan 等<sup>[16]</sup>于 RHO<sup>T4R/+</sup> 犬视网膜下注射 AAV-shRNA<sub>820</sub>-RHO<sub>820</sub>, 13、17、27、37wk 治疗区域 ERG 振幅 a 波、b 波均较未治疗区域更大,形成显著对照。CRISPR/Cas9 基因编辑可纠正常见 RHO 突变体 (如 P23H),然而 RHO 基因有 150 多个突变体,针对所有突变形式的基因敲除与替换相结合或为有效疗法。RHO 相关 RP 基因治

疗于动物模型疗效显著,但 ADRP 暂无基因治疗临床试验报道,于 RP 患者有效性与安全性待确认。

### 2.2 PDE6B 视杆细胞环鸟苷酸 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) $\beta$ 亚基由 PDE6B 基因编码,可水解 cGMP 形成 5'-GMP,是视杆细胞光信号转导激活关键酶。视杆细胞为主要受累细胞,PDE6B 基因突变使感光细胞内 cGMP 增多,cGMP 门控阳离子通道持续开放,阳离子高浓度毒性致使感光细胞坏死。PDE6B 突变导致 2%~5% 的 ARR<sup>[2]</sup>, PDE6B 突变型 RP 患者较早出现夜盲<sup>[17]</sup>,多于 10 岁前出现首发症状,主要病情变化为周边视野丧失,于高龄 (80 岁左右) 出现 CME、后囊下白内障 (posterior subcapsular cataracts, PSC) 及眼底色素沉着。CRISPR/Cas9 技术利用单向导 RNA (single-guide RNA, sgRNA) 指导 Cas9 于靶基因座处形成 DNA 双链断裂 (double-strand breaks, DSB),断裂可非同源末端连接 (nonhomologous end joining, NHEJ) 或同源定向修复 (homology-directed repair, HDR)。已被广泛应用的 NHEJ 技术基因编辑错误率相对高;HDR 效率相对低且依赖细胞分裂,但为生殖细胞和增殖细胞基因编辑高保真途径。Cai 等<sup>[18]</sup>在 Cas9 介导基因组编辑中添加靶向 sgRNA 的细菌重组酶 A (recombinase A, RecA) 蛋白,靶向 PDE6B 基因座外显子 7,将终止密码子 UAA 更改为 UAC,发现 Cas9/RecA 组小鼠存活视杆细胞数超过 Cas9 组 5 倍,Cas9/RecA 组小鼠视锥细胞数增加超过 Cas9 组 4 倍,成功纠正点突变,挽救感光细胞变性,改善小鼠视觉功能,且体内外用 Cas9/RecA 系统提高 HDR 效率均有效。但 Pichard 等<sup>[19]</sup>发现 PDE6B-RP 犬模型视网膜下基因治疗只有视网膜发育早期可实现。PDE6B 基因治疗概念验证及安全性研究已在鼠及犬类动物模型完成。目前一项 PDE6B 基因治疗 I/II 期临床试验正在进行,尚未发表研究成果,而已发表相关基因治疗结果对视杆细胞功能和结构评估不足<sup>[20]</sup>。

### 2.3 MERTK MER 原癌基因酪氨酸激酶 (MER proto-oncogene, tyrosine kinase, MERTK) 与 RPE 顶膜感光细胞外段吞噬关键受体相关。MERTK 基因突变使 RPE 细胞吞噬能力降低,中断视觉循环,使光感受器退化,导致约 3% 遗传性视网膜营养不良 (inherited retinal dystrophy, IRD)<sup>[21]</sup>。MERTK 突变型 RP 患者于 20 岁前出现首发症状及视野缺损,10~20 岁 VA 降至 20/200 及以下,40 岁左右失明。眼底病变可见眼球震颤、牛样黄斑病变及黄斑萎缩,未见视盘苍白相关报道。Ghazi 等<sup>[22]</sup>已经成功在皇家外科医师学院 (Royal College of Surgeons, RCS) 视网膜营养不良模型大鼠视网膜下注射 AD 和 AAV 载体补充 MERTK,延长大鼠光感受器细胞寿命周数。Lavail 等<sup>[23]</sup>在 RCS 大鼠视网膜下注射 RPE 特异性 AAV2 载体 (AAV2-VMD2-hMERTK),大鼠 ERG 反应振幅随之增加,并于视网膜 RPE 细胞发现吞噬小体。Ghazi 等<sup>[22]</sup>通过猴的临床前研究证实了试验安全性,并启动一项 I 期非盲剂量递增试验,向 6 例 MERTK 相关 RP 晚期患者视网膜下注射 rAAV2-VMD2-hMERTK,术后 3 例患者视力一过性的改善,无相关副作用及并发症,但 2 例患者视力改善 2a 后消失。MERTK 基因治疗概念验证及安全性研究已在鼠及非人类灵长类动物模型完成,但 I 期临床试验结果不甚理想,未来研究或需更关注基因治疗疾病及入组患者选择,并完善结局评价。即使已在动物模型充分验证,人体

临床试验细节仍存在差异。

**2.4 RLBP1** 视黄醛结合蛋白 1 (retinaldehyde binding protein 1, RLBP1) 基因于 RPE 和神经胶质细胞 (Müller cell) 表达 11-顺式视黄醛结合蛋白, 为视觉周期重要部分。RLBP1 突变导致常染色体隐性视网膜色素变性, 患病率地域差异大, 部分偏远地区相对高。RLBP1 突变导致感光细胞退化和 RPE 萎缩, Lima 等<sup>[24]</sup> 检测到无症状携带者也存在视觉周期缺陷。RLBP1 突变型 RP 患者视野渐进性丧失, 最终 <5° 中心视野残留, 眼底可见白点状视网膜变性 (retinitis punctata albescens, RPA), 少见或不见骨细胞样色素沉着。Choi 等<sup>[25]</sup> 于小鼠视网膜下注射 AAV 载体同时转染 RPE 和 Müller 细胞, 发现小鼠视杆细胞暗适应速度改善。Maclachlan 等<sup>[26]</sup> 于小鼠模型证明在短启动子 CPK850 控制下 AAV8 载体携带 RLBP1 基因治疗有效性, 但于小鼠、大鼠和非人类灵长类动物的临床前安全性研究显示眼内炎症和剂量依赖性视网膜变薄有所发生。RLBP1 基因治疗概念验证及安全性研究已在鼠及非人类灵长类动物模型完成, 进行中临床试验尚未发表改善视杆和视锥细胞视觉周期缺陷并稳定视网膜变性相关报道。

**2.5 RPGR** RPGR 为视网膜色素变性三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 酶调节基因 (GTPase regulator, RPGR), 为最常见引起 XLRP 基因, 约占 XLRP 的 70%~90%。RPGR 突变型 RP 患者较早出现中心视野缺损, 年均视野丧失 4.7%~9%, 多于 45 岁左右失明。眼底改变见黄斑萎缩, 光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 显示椭圆体带年均缩窄 175 $\mu$ m, ONL 年均变薄 250 $\mu$ m, 早期即存在黄斑中心凹感光细胞外段厚度变薄, 或为视力降低最大原因<sup>[27]</sup>。XLRP 临床基因增强治疗试验主要集中在 RPGR, 尤其是占 RPGR 疾病 70% 以上的 ORF15 突变<sup>[20]</sup>。RPGR 基因治疗于动物模型显示一定疗效, 但 RPGR 固有序列不稳定性导致病毒载体克隆过程或发生不可预测重组错误。Fischer 等<sup>[28]</sup> 对 RPGR 基因进行密码子优化, 使其具有良好稳定性和体外表达水平, 来自密码子优化序列的 RPGR 蛋白中谷氨酰化模式与野生型没有区别, 即密码子优化不会显著改变翻译后修饰。经 AAV8 载体递送密码子优化 RPGR 改善 R<sub>pgr</sub><sup>-y</sup> 和 C57BL/6J<sup>Rd9/Boc</sup> 两种小鼠模型表型, 并在 C57BL6/J 野生型小鼠中表现出良好安全性。Song 等<sup>[29]</sup> 于野生型和突变小鼠进行了安全性研究, 并解决了 ORF15 不稳定性问题。Hu 等<sup>[30]</sup> 将携带 sgRNA 和供体模板的 AAV 载体注射于 6mo 大 R<sub>pgr</sub><sup>-y</sup> Cas9<sup>+WT</sup> 雄性小鼠视网膜下, 注射后 6mo 和 12mo 于治疗视网膜区域观察到光感受器保留, 与未治疗视网膜区域形成显著对照。Cehajic-Kapetanovic 等<sup>[31]</sup> 进行首个人类 RPGR-XLRP 基因治疗剂量递增试验, 将密码子优化的人 RPGR (AAV8-coRPGR) 注射于 18 例患者视网膜下, 6mo 随访结果显示, 全部 18 例患者治疗眼微视野平均增加 0.5dB 且 OCT 示 ONL 厚度增加, 与未治疗眼形成显著对照, 未发现明显剂量相关毒副作用或严重不良事件。RPGR 基因治疗概念验证及安全性研究已在鼠及犬类动物模型完成, 且首个临床试验初步结果证实 RPGR-XLRP 基因治疗有效性。另外两项 I / II 期临床试验正在进行, 但尚未发表研究相关结果。

### 3 小结

遗传学技术的发展使更多 RP 相关基因被发现, 也为基因治疗提供可能。RP 基因治疗有效性于动物模型试验

证实, 几项临床试验正在开展且初步结果显示有较好疗效, 为临床带来希望。然而在广泛实施前, 必须克服重要挑战。比如基因载体改良、基因转移靶向性控制、基因表达产物调控等, 以及治疗载体一次性给药是否能提供长期、持久临床益处等剂量相关问题尚不清楚。此外, 基因治疗高度个性化治疗形式的昂贵经济成本也是推广重要阻碍。故而在正式应用于临床前, RP 基因治疗仍有前路需要探索。

### 参考文献

- 1 邢怡桥, 黄蓉, 李敏. 视网膜色素变性分类的研究进展. 临床眼科杂志 2017;25(2):173-176
- 2 Dias MF, Joo K, Kemp JA, et al. Corrigendum to molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspective progress in retinal and eye research (2018) Vol 63, 107-131. *Prog Retin Eye Res* 2018;66:220-221
- 3 DiCarlo JE, Mahajan VB, Tsang SH. Gene therapy and genome surgery in the Retina. *J Clin Invest* 2018;128(6):2177-2188
- 4 DiCarlo JE, Deconada A, Tsang SH. Viral vectors, engineered cells and the CRISPR revolution. *Adv Exp Med Biol* 2017;1016:3-27
- 5 Carvalho LS, Xiao R, Wassmer SJ, et al. Synthetic adeno-associated viral vector efficiently targets mouse and nonhuman primate Retina in vivo. *Hum Gene Ther* 2018;29(7):771-784
- 6 Gonzalez-Cordero A, Goh D, Kruczek K, et al. Assessment of AAV vector tropisms for mouse and human pluripotent stem cell-derived RPE and photoreceptor cells. *Hum Gene Ther* 2018;29(10):1124-1139
- 7 Gallego I, Villate-Beitia I, Martínez-Navarrete G, et al. Non-viral vectors based on cationic liposomes and minicircle DNA technology enhance gene delivery efficiency for biomedical applications in retinal disorders. *Nanomedicine* 2019;17:308-318
- 8 Davis JL, Gregori NZ, MacLaren RE, et al. Surgical technique for subretinal gene therapy in humans with inherited retinal degeneration. *Retina* 2019;39(Suppl 1):S2-S8
- 9 Reid CA, Ertel KJ, Lipinski DM. Improvement of photoreceptor targeting via intravitreal delivery in mouse and human Retina using combinatory rAAV2 capsid mutant vectors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(14):6429-6439
- 10 Khabou H, Garita-Hernandez M, Chaffiol A, et al. Noninvasive gene delivery to foveal cones for vision restoration. *JCI Insight* 2018;3(2):96029
- 11 Sudharsan R, Beltran WA. Progress in gene therapy for rhodopsin autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Adv Exp Med Biol* 2019;1185:113-118
- 12 Mitra RN, Zheng M, Weiss ER, et al. Genomic form of rhodopsin DNA nanoparticles rescued autosomal dominant Retinitis pigmentosa in the P23H knock-in mouse model. *Biomaterials* 2018;157:26-39
- 13 Bakondi B, Lv W, Lu B, et al. In vivo CRISPR/Cas9 gene editing corrects retinal dystrophy in the S334ter-3 rat model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Ther* 2016;24(3):556-563
- 14 Latella MC, di Salvo MT, Cocchiarella F, et al. In vivo editing of the human mutant rhodopsin gene by electroporation of plasmid-based CRISPR/Cas9 in the mouse Retina. *Mol Ther Nucleic Acids* 2016;5(11):e389
- 15 Tsai YT, Wu WH, Lee TT, et al. Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-based genome surgery for the treatment of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2018;125(9):1421-1430
- 16 Cideciyan AV, Sudharsan R, Dufour VL, et al. Mutation-independent rhodopsin gene therapy by knockdown and replacement with a single AAV vector. *PNAS* 2018;115(36):E8547-E8556

17 Tatour Y, Tamaiev J, Shamaly S, *et al.* A novel intronic mutation of PDE6B is a major cause of autosomal recessive retinitis pigmentosa among Caucasus Jews. *Mol Vis* 2019;25:155-164

18 Cai Y, Cheng T, Yao Y, *et al.* *In vivo* genome editing rescues photoreceptor degeneration via a Cas9/RecA - mediated homology - directed repair pathway. *Sci Adv* 2019;5(4):eaav3335

19 Pichard V, Provost N, Mendes-Madeira A, *et al.* AAV-mediated gene therapy halts retinal degeneration in PDE6 $\beta$ -deficient dogs. *Mol Ther* 2016;24(5):867-876

20 Garafalo AV, Cideciyan AV, Héon E, *et al.* Progress in treating inherited retinal diseases; Early subretinal gene therapy clinical trials and candidates for future initiatives. *Prog Retin Eye Res* 2020;77:100827

21 Patel N, Aldahmesh MA, Alkuraya H, *et al.* Expanding the clinical, allelic, and locus heterogeneity of retinal dystrophies. *Genet Med* 2016;18(6):554-562

22 Ghazi NG, Abboud EB, Nowilaty SR, *et al.* Treatment of retinitis pigmentosa due to MERTK mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector; results of a phase I trial. *Hum Genet* 2016;135(3):327-343

23 Lavail MM, Yasumura D, Matthes MT, *et al.* Gene therapy for MERTK-associated retinal degenerations. *Adv Exp Med Biol* 2016;854:487-493

24 Lima de CJR Jr, Kim HJ, Ueda K, *et al.* Effects of deficiency in the *RLBP1*-encoded visual cycle protein CRALBP on visual dysfunction in

humans and mice. *J Biol Chem* 2020;295(19):6767-6780

25 Choi VW, Bigelow CE, McGee TL, *et al.* AAV-mediated *RLBP1* gene therapy improves the rate of dark adaptation in *RLBP1* knockout mice. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2015;2:15022

26 Maclachlan TK, Milton MN, Turner O, *et al.* Nonclinical safety evaluation of scAAV<sub>g-i</sub> > *RLBP1* for treatment of *RLBP1* retinitis pigmentosa. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2018;8:105-120

27 Menghini M, Jolly JK, Nanda A, *et al.* Early cone photoreceptor outer segment length shortening in RPGR X-linked retinitis pigmentosa. *Ophthalmologica* 2020; Epub ahead of print

28 Fischer MD, McClements ME, Martinez-Fernandez de la CC, *et al.* Codon-optimized RPGR improves stability and efficacy of AAV8 gene therapy in two mouse models of X-linked retinitis pigmentosa. *Mol Ther* 2017;25(8):1854-1865

29 Song CJ, Conlon TJ, Deng WT, *et al.* Toxicology and pharmacology of an AAV vector expressing Codon-optimized RPGR in RPGR-deficient Rd9 mice. *Hum Gene Ther Clin Dev* 2018;29(4):188-197

30 Hu S, Du J, Chen NN, *et al.* *In vivo* CRISPR/Cas9-mediated genome editing mitigates photoreceptor degeneration in a mouse model of X-linked retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(4):31

31 Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la CC, *et al.* Initial results from a first-in-human gene therapy trial on X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR. *Nat Med* 2020;26(3):354-359