

# 眼底疾病基因治疗新进展

刘小天

引用:刘小天.眼底疾病基因治疗新进展.国际眼科杂志,2025,25(7):1099-1104.

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(No.2024KY366)

作者单位:(315040)中国浙江省宁波市眼科医院宁波市致盲性眼病医学研究重点实验室

作者简介:刘小天,本科,副主任医师,科教科科长,研究方向:眼底病。

通讯作者:刘小天.523755781@qq.com

收稿日期:2024-11-23 修回日期:2025-05-20

## 摘要

眼底疾病基因治疗研究近年来取得显著进展,为多种难治性眼病带来新希望。文章系统梳理了该领域最新研究进展,评估当前挑战并展望未来趋势,重点介绍了遗传性视网膜病变的基因治疗研究,包括 RPE65-LCA 基因治疗的商业化应用、视网膜色素变性(RP)多种亚型和 Stargardt 病的临床进展,以及 Leber 遗传性视神经病变(LHON)基因治疗的“双眼效应”现象。同时探讨了年龄相关性黄斑变性(ARMD)和糖尿病视网膜病变(DR)等复杂眼底病变的基因治疗策略,分析了基因递送系统的技术进展,包括 AAV 载体改造、非病毒载体和 CRISPR/Cas9 技术应用。文章还讨论了眼底疾病基因治疗面临的安全性、免疫原性、长期疗效和个体化策略等挑战。研究表明,眼底疾病基因治疗正从概念验证迈向临床应用,随着技术创新和经验积累,有望为患者提供精准治疗方案,显著改善视功能预后。

关键词:眼底疾病;基因治疗;视网膜病变;基因编辑;递送系统

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.7.11

## Advances in gene therapy for fundus diseases

Liu Xiaotian

**Foundation item:** Medical Health and Science and Technology Project of Zhejiang Province (No.2024KY366)

Ningbo Eye Hospital; Ningbo Key Laboratory of Medical Research on Blinding Eye Diseases, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China

**Correspondence to:** Liu Xiaotian. Ningbo Eye Hospital; Ningbo Key Laboratory of Medical Research on Blinding Eye Diseases, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China. 523755781@qq.com

Received:2024-11-23 Accepted:2025-05-20

## Abstract

• Gene therapy research for fundus diseases has made

significant progress recently, offering new hope for refractory ocular conditions. This review summarizes the latest developments, evaluates challenges, and explores future trends. Gene therapies for inherited retinal diseases, including commercialized RPE65-LCA therapy, clinical advances in retinitis pigmentosa (RP) subtypes and Stargardt disease, and the “bilateral effect” in Leber hereditary optic neuropathy (LHON) therapy, were highlighted in this review. Gene therapy strategies for complex disorders such as age-related macular degeneration (ARMD) and diabetic retinopathy (DR) were discussed. Advances in gene delivery systems, including adeno-associated virus (AAV) vectors, non-viral vectors, and CRISPR/Cas9 applications, were also analyzed. Furthermore, major challenges, including safety, immunogenicity, long-term efficacy, and personalized approaches were also discussed. Research indicates fundus gene therapy is transitioning from proof-of-concept to clinical application. With continued innovation and experience, it promises to provide precise treatment options, significantly improving visual outcomes for patients.

• **KEYWORDS:** fundus diseases; gene therapy; retinopathy; gene editing; delivery systems

**Citation:** Liu XT. Advances in gene therapy for fundus diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025,25(7):1099-1104.

## 0 引言

眼底疾病是一类严重威胁视力和生活质量的复杂病变,其治疗一直是眼科领域的重大挑战。眼睛的免疫特权性使其成为基因治疗的理想靶器官<sup>[1-2]</sup>。这种独特的生理特性不仅降低了免疫排斥的风险,还为治疗提供了一个相对稳定的微环境。此外,眼球的解剖结构便于精准的局部给药,这可以显著减少全身性副作用,为基因治疗的安全性提供了重要保障<sup>[3]</sup>。在众多眼底疾病中,遗传性视网膜病变一直是基因治疗的重点攻关对象。Leber 先天性黑矇(Leber congenital amaurosis, LCA)、视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)和 Stargardt 病等疾病的治疗已取得突破性进展<sup>[4-5]</sup>。特别值得一提的是,针对视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)65 基因突变导致的 LCA,已成功开发出首个获 FDA 批准的眼科基因治疗产品 voretigene neparvovec(商品名 Luxturna)<sup>[5]</sup>。这些成果为整个眼科基因治疗领域注入了强劲动力。同时,更为复杂的多因素眼底病变,如年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)等疾病正成为基因治疗的新前沿<sup>[6-8]</sup>。这些研究不仅涵盖传统的基因替代策略,还包括如 CRISPR/Cas9 基因编辑系统(clustered regularly

interspaced short palindromic repeats/CRISPR - associated protein 9)等革命性的基因编辑技术<sup>[8]</sup>。这种多元化的研究方向反映了眼科基因治疗领域的蓬勃发展和创新精神。然而基因治疗在眼科领域的应用仍面临诸多挑战。安全性问题、免疫原性、长期疗效的不确定性以及个体化治疗策略的需求等,都亟待深入研究和解决<sup>[9]</sup>。这些不仅反映了技术本身的局限性,也凸显了我们对眼底疾病复杂病理机制理解的不足。此外,如何优化基因递送系统以提高治疗效率,以及如何将基因治疗与现有治疗方法有机结合,也是当前研究的焦点<sup>[3,9]</sup>。本综述旨在全面而深入地梳理眼底疾病基因治疗的最新研究进展,分析当前面临的挑战,并探讨基因治疗在眼科领域的未来发展方向,希望为眼底疾病的治疗提供新思路。

## 1 遗传性视网膜病变的基因治疗

遗传性视网膜病变是一组由基因突变引起的眼底疾病,严重影响患者视力。近年来,基因治疗在这些疾病的治疗中取得了显著进展。

**1.1 LCA** LCA是一种严重的早发型遗传性视网膜疾病<sup>[10]</sup>。近年来,基因治疗在LCA领域取得了重要进展。Cideciyan等<sup>[11]</sup>在2019年报告了一项针对CEP290基因突变导致的LCA患者的临床试验。该研究采用玻璃体内注射反义寡核苷酸(QR-110)治疗,结果显示治疗3 mo后,患者视力得到显著改善,治疗眼的视力比未治疗眼平均提高0.54LogMAR(26个字母)。全视野光敏感度测试也显示治疗眼光敏感度提高超过2个对数单位。此外,Daich Varela等<sup>[12]</sup>在2022年综述指出,得益于眼部的解剖和免疫特权特性,基因治疗在LCA治疗中取得突破性进展,其中针对RPE65基因突变的基因补充疗法已获FDA批准,成为首个获批的眼科基因治疗药物。这些研究为LCA的基因治疗提供了重要的临床证据,突显了基因诊断对识别潜在获益患者的重要性。

**1.2 RP** RP是一组以光感受器细胞进行性变性为特征的遗传性视网膜疾病。近年来,针对不同基因突变型RP的基因治疗临床试验取得了重要进展。Fischer等<sup>[13]</sup>报告了一项针对CNGA3基因相关先天性全色盲的I/II期临床试验结果,91例患者接受AAV8.CNGA3视网膜下注射后,治疗眼均表现出视锥功能改善,视力和对比敏感度显著提高。Cehajic-Kapetanovic等<sup>[14]</sup>首次报告了针对RPGR基因突变导致的X-连锁视网膜色素变性(X-linked retinitis pigmentosa, X-linked RP)的基因治疗试验初步结果。18例患者接受不同剂量AAV8-coRPGR视网膜下注射后,除高剂量组出现可控的炎症外,治疗总体安全,其中6例患者在治疗后出现视野改善。在功能改善最明显的患者中,研究者还观察到视网膜外核层厚度增加和可能的光感受器外节再生现象。在罕见亚型方面,Bietti结晶样视网膜色素变性(BCD)由CYP4V2基因突变引起,特征为视网膜和角膜的结晶样沉积物及进行性脉络膜-视网膜萎缩<sup>[15]</sup>。Wang等开展了一项针对BCD的I期基因治疗试验,6例患者接受了含人CYP4V2基因的重组腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV) rAAV2/8-hCYP4V2)视网膜下注射<sup>[15]</sup>。初步结果显示治疗安全且有一定疗效,3例患者视力平均提高14.5个ETDRS字母,为这一罕见亚型开辟了治疗新途径。

**1.3 Stargardt病** Stargardt病是一种常见的遗传性黄斑营养不良疾病,主要由ABCA4基因突变引起。由于

ABCA4基因较大,超出了常规AAV载体的承载能力,因此研究人员开发了多种策略来解决这一问题。McClements等<sup>[16]</sup>在2019年报道了一种优化的双AAV载体系统,该系统在成年Abca4-/-小鼠中显示出治疗效果,能够减少A2E的积累。Dyka等<sup>[17]</sup>在2019年的研究中使用了杂交双AAV载体系统,在色素Abca4敲除小鼠中注射后,A2E水平显著降低,全长ABCA4蛋白表达效率高于常规双AAV系统。Tornabene等<sup>[18]</sup>报道了基于内含肽的AAV载体策略,在人源视网膜类器官、小鼠和猪模型中表现良好,能在光感受器中表达功能性ABCA4蛋白,改善视网膜表型。Sun等<sup>[19]</sup>在2020年报道了非病毒基因治疗方法,使用ECO/pRHO-ABCA4自组装纳米粒子治疗Stargardt病。在Abca4-/-小鼠中,ABCA4特异性表达持续8 mo以上,A2E积累平均减少35%,疾病进展延缓至少6 mo。这种非病毒载体方法克服了AAV载体的承载限制,为Stargardt病和其他视网膜疾病的基因治疗提供了新可能。

**1.4 X连锁视网膜裂症** X连锁先天性视网膜裂症(XLRS)是一种由RS1基因突变导致的遗传性视网膜疾病。近年来,针对XLRS的基因治疗临床试验取得了重要进展。Pennesi等<sup>[20]</sup>在2022年报告了一项多中心I/II期临床试验结果。该试验招募了27例XLRS患者(22例成人 and 5例儿童),通过玻璃体内注射AAV2tYF-CB-hRS1载体,评估了3个剂量水平( $1 \times 10^{11}$ 、 $3 \times 10^{11}$ 和 $6 \times 10^{11}$  vg/eye)的安全性和有效性。安全性方面,常见不良事件眼部炎症(51.9%患者出现玻璃体细胞)多为轻中度且对免疫抑制治疗有反应,但最高剂量组中有3例(23%)患者发展为慢性葡萄膜炎,2例患者出现视网膜脱离。有效性评估显示,在12 mo随访期内,与对侧眼相比,治疗眼在各项指标上均未显示显著改善。Cukras等<sup>[21]</sup>报告了另一项针对XLRS患者的I/II期临床试验初步结果。该试验使用AAV8-RS1载体,评估了3个剂量水平。最常见的不良事件是剂量相关的眼内炎症,所有炎症对抗炎治疗有效。有效性方面,仅1例接受最高剂量的患者在注射后2 wk出现短暂的黄斑裂隙完全闭合,但1 mo后裂隙重新出现。该研究还观察到剂量依赖的抗AAV8抗体反应,但未检测到抗RS1抗体。这两项研究结果表明,尽管AAV介导的RS1基因治疗在XLRS患者中具有可接受的安全性,但疗效尚不明确。可能的原因包括治疗时机选择、载体选择或剂量不足等因素,提示需要优化治疗策略和参数,并可能需要更长期的随访来评估潜在的缓慢进展性改善。

**1.5 脉络膜缺失症** 脉络膜缺失症是一种罕见的X连锁遗传性视网膜疾病。Xue等<sup>[22]</sup>在2018年报道了14例脉络膜缺失症患者接受AAV2.REP1基因治疗2 a的随访结果。研究显示治疗眼视力中位数提高4.5个字母(相比对照眼减少1.5个字母, $P=0.04$ ),其中6只治疗眼视力提高超过5个字母(1行)。在接受规范治疗的12例患者中,治疗效果可持续至5 a,表明基因治疗可以长期维持并改善脉络膜缺失症患者的视力。Fischer等<sup>[23]</sup>在2020年报告了6例患者接受AAV2-REP1基因治疗的12 mo随访结果。除1例出现黄斑裂孔的患者外,其余5例患者的平均视网膜敏感度(增加2.3 dB)、峰值视网膜敏感度(增加2.8 dB)和注视区域(改善 $36.1 \text{ deg}^2$ )均有所改善,1例患者的视力显著提高17个字母。这两项研究证实了AAV2介导的基因治疗对脉络膜缺失症患者具有良好的安全性

和有效性,能够维持甚至改善晚期患者的视力,为这一疾病的治疗提供了新的希望。

## 2 Leber 遗传性视神经病变

Leber 遗传性视神经病变 (Leber hereditary optic neuropathy, LHON) 是一种由线粒体 DNA 突变引起的神经眼科疾病,主要影响视网膜神经节细胞和视神经,导致急性或亚急性的视力丧失。近年来,LHON 的基因治疗研究取得了显著进展。

**2.1 基因治疗策略** LHON 的基因治疗主要集中在使用 AAV 载体递送正常的 ND4 基因。Wan 等<sup>[24]</sup>在 2016 年报告了一项针对携带 G11778A 突变的 LHON 患者的基因治疗临床试验。9 例患者接受了单侧玻璃体内注射 rAAV2-ND4 基因治疗,并随访 9 mo。结果显示 6 例患者的视力显著改善,BCVA 提升至少 0.3 LogMAR。Koilkonda 等<sup>[25]</sup>在小鼠和非人灵长类动物模型中证实了 rAAV2-ND4 的安全性和有效性,为临床应用提供了重要的前临床数据支持。

**2.2 临床试验结果** Yu-Wai-Man 等<sup>[26]</sup>在 2020 年报道了一项针对 m.11778G>A 突变 LHON 患者的随机、双盲、安慰剂对照的 III 期临床试验 (RESCUE 和 REVERSE) 结果。该试验通过玻璃体内注射 rAAV2/2-ND4 基因治疗载体。研究发现,rAAV2/2-ND4 治疗 2 a 后,注射眼的最佳矫正视力 (BCVA) 从最低点平均改善了 RESCUE 试验中的 +26.5 个字母和 REVERSE 试验中的 +28.5 个 ETDRS 字母。Newman 等<sup>[27]</sup>在 2023 年报告了 LHON 基因治疗的 III 期临床试验 (REFLECT) 结果。该试验在 37 例 m.11778G>A 突变 LHON 患者中评估了 rAAV2/2-ND4 的双眼治疗。研究发现,在 96 wk 时,78% 的患者至少一只眼睛的 BCVA 改善  $\geq$  15 个 ETDRS 字母。值得注意的是,这项研究首次在多中心设计中证实了 LHON 基因治疗的“双眼效应”现象单眼注射后两眼均获益,这一发现对临床实践具有重要意义。Bouquet 等<sup>[28]</sup>在 2019 年报告了一项 I/II 期临床试验的结果,评估了 rAAV2/2-ND4 基因治疗在 LHON 患者中的安全性和耐受性。研究发现,在 96 wk 的随访中,14 例患者中有 6 例患者的治疗眼出现了临床显著的 BCVA 改善。

**2.3 安全性和免疫反应** Bouquet 等<sup>[28]</sup>在 2019 年对 rAAV2/2-ND4 基因治疗的 I/II 期临床试验进行了次要分析,评估了接受基因治疗的 LHON 患者的免疫反应与眼内炎症之间的关联。研究显示,13 例患者在注射后出现眼内炎症,主要表现为轻度前房炎症和玻璃体炎症。所有炎症事件都对抗炎治疗有效,没有长期后遗症。研究还发现眼内炎症与血清中的中和抗体 (NAbs) 滴度无明显相关性,这与其他眼科基因治疗研究结果不同,提示 LHON 基因治疗的免疫反应可能具有特异性机制。Lai 等<sup>[29]</sup>在非人灵长类动物模型中证实玻璃体下注射 AAV2.sFlt-1 不会引发细胞介导的免疫反应,病毒仅局限于眼部。Neroeva 等<sup>[30]</sup>的研究则提示,在 RPE 萎缩模型中,局部组织中炎症因子表达增加可能影响血-视网膜屏障功能,这需要在眼内基因治疗中予以考虑。这些研究表明,虽然 AAV 介导的基因治疗可能引起一定程度的眼内炎症,但通常是可控的,预防性使用免疫抑制剂可能有助于减轻这些反应。

**2.4 治疗时机和预后因素** Yang 等<sup>[31]</sup>在 2016 年的研究中评估了即将参加 LHON 基因治疗临床试验的患者。他们

发现,BCVA 是评估基因治疗效果的最重要指标,视野指数 (VFI)、平均缺陷 (MD) 和视觉诱发电位 (VEP) 的 P100 波也可作为辅助指标。Moster 等<sup>[32]</sup>的研究进一步探讨了 LHON 患者在基因治疗前的基线视觉参数。他们发现 LHON 的视觉功能和视网膜结构在视力丧失后的前 8 mo 内变化最大,随后进入相对稳定期。这一发现为基因治疗的最佳时机选择提供了重要参考。Catarino 等<sup>[33]</sup>研究为治疗时机提供了额外的见解。他们对 111 例接受艾地苯醌 (idebenone) 治疗的 LHON 患者进行了回顾性分析,发现 46% 患者出现临床相关的视力恢复 (CRR)。研究表明,治疗应尽早开始并持续较长时间 (>24 mo) 以获得最佳效果。此外,他们还发现 G11778A 突变患者的 CRR 率略低,提示基因型可能影响治疗效果。

## 3 复杂眼底病变的基因治疗策略

与单基因遗传性眼底疾病不同,复杂眼底病变通常涉及多个基因和环境因素的相互作用。尽管如此,基因治疗在这些疾病的治疗中仍显示出巨大潜力。

**3.1 ARMD** ARMD 是老年人视力丧失的主要原因之一。基因治疗在 ARMD 治疗中主要集中于抑制血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达。Khanani 等<sup>[6]</sup>在 2022 年对 ARMD 基因治疗的研究进展进行了综述。他们重点介绍了几个针对新生血管性 ARMD 的基因治疗方案,包括 RGX-314 和 ADVM-022。对于 RGX-314,作者报告,在第 I/II a 期试验中,接受最高剂量治疗的患者在 2 a 随访期间平均视力提高了 14 个字母,所需的抗 VEGF 注射次数减少了 61%。关于 ADVM-022,作者指出,在 OPTIC 试验中,接受较低剂量治疗的患者在 104 wk 内无需额外的抗 VEGF 治疗。Zhou 等<sup>[34]</sup>报告了一种新开发的 RNA 靶向 CRISPR 系统 CasRx,通过 AAV 递送可以敲低 VEGFA mRNA 的表达,显著减少脉络膜新生血管的范围,为 ARMD 的治疗提供了新方法。然而,ARMD 基因治疗的长期安全性和有效性仍存在争议。一些研究者担忧持续抑制 VEGF 可能影响正常脉络膜血管功能,同时对于干性 ARMD 的基因治疗策略尚未达成共识。补体系统调控和炎症通路的靶向干预可能是未来干性 ARMD 基因治疗的重要方向。

**3.2 DR** DR 是糖尿病的常见并发症,也是导致成年人视力丧失的主要原因之一。基因治疗在 DR 中的应用主要集中于调控炎症反应和血管生成。Biswas 等<sup>[7]</sup>在 2018 年研究了长链非编码 RNA MALAT1 在 DR 中的作用。他们发现,MALAT1 可以通过控制组蛋白甲基转移酶 PRC2 的表达来上调炎症分子如 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 MCP-1,用 siRNA 选择性靶向 MALAT1 可以降低 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 和蛋白水平,这为 DR 的基因治疗提供了新的潜在靶点。Tong 等<sup>[35]</sup>在 2019 年报告了另一种长链非编码 RNA MEG3 在 DR 中的保护作用。研究发现,MEG3 通过作为 miR-34a 的海绵来促进 SIRT1 的表达,从而抑制高糖诱导的 NF- $\kappa$ B 通路激活以及 Müller 细胞的活化、炎症反应和细胞凋亡,这一发现为 DR 的基因治疗策略提供了新的思路。“增加对 DR 基因治疗策略的讨论”尽管针对 DR 的基因治疗研究取得了进展,但将这些发现转化为临床应用仍面临挑战。DR 的复杂病理生理过程可能需要多靶点联合干预,而理想的治疗时机和基因递送系统尚需优化。未来研究可能需要将基因治疗与传统治疗方法结合,以实现最佳治疗效果。

## 4 基因治疗递送系统和策略

基因治疗的成功很大程度上依赖于有效的基因递送系统。在眼科领域,研究者们开发了多种递送策略,以实现高效、安全的基因转导。

**4.1 病毒载体** 病毒载体,特别是 AAV 载体,是眼科基因治疗中最常用的递送系统。Ding 等<sup>[36]</sup>在 2019 年评估了超脉络膜注射 AAV8 在大鼠、猪和非人灵长类动物中的转导效率。结果显示,脉络膜上腔注射 AAV8.GFP 导致视网膜色素上皮和光感受器中 GFP 的广泛表达,且脉络膜上腔和视网膜下注射编码抗 VEGF 蛋白的 AAV8 在抑制血管渗漏方面效果相似。Yiu 等<sup>[37]</sup>比较了非人灵长类动物中不同给药途径的 AAV8 转导效率。结果表明,脉络膜上腔注射导致 RPE 中广泛的周边转基因表达,视网膜下注射导致 RPE、光感受器和部分神经节细胞的局部转导,这两种方式均优于玻璃体内注射。然而,Chan 等<sup>[38]</sup>指出 AAV 载体可能引起免疫反应,他们开发的改造 AAV 载体通过抑制 Toll 样受体 9 信号传导,显著减少了眼内炎症反应。

**4.2 非病毒载体** 非病毒载体因其大包装容量(>20 kb)、低免疫原性和可重复给药等优势受到关注。Kansara 等<sup>[3]</sup>研究了 DNA 纳米粒子(DNPs)在兔模型中的应用。超脉络膜注射 DNPs 实现了对视网膜和 RPE/脉络膜的有效转染,且与玻璃体内注射效果相当,同时避免了手术风险。Sun 等<sup>[19]</sup>报道了使用 pH 敏感氨基脂质 ECO 与 ABCA4 质粒自组装纳米粒子治疗 Stargardt 病的方法。通过整合视紫红质启动子,在光感受器外段特异性表达 ABCA4。在小鼠模型中,单次注射后 ABCA4 持续表达 8 mo 以上,A2E 积累平均减少 35%,疾病进展延缓至少 6 mo,为大基因治疗提供了新思路。

**4.3 基因编辑技术** 基因编辑技术在眼底遗传病治疗中展现出巨大潜力。Sanjurjo-Soriano 等<sup>[39]</sup>利用 CRISPR/Cas9 系统成功修复患者 iPSC 中的 USH2A 常见突变(c.2299delG和 c.2276G>T),修复效率达到 13%~36%,且修复后的细胞未检测到明显脱靶效应,为 Usher 综合征这类大基因眼底病提供了新的治疗思路。Qin 等<sup>[40]</sup>开发的 Prime Editing 技术在 RP 小鼠中实现了高达 76%的体内编辑效率,成功修复 Pde6b 基因突变,不仅恢复了视网膜感光细胞结构,还显著改善了视觉功能测试表现,且效果可持续至老年阶段。这些研究证明基因编辑技术在眼底病治疗领域具有精准、高效的特点和广阔的应用前景。

## 5 基因治疗的挑战与未来展望

尽管眼底疾病的基因治疗取得了显著进展,但仍面临诸多挑战。同时,这些挑战也为未来的研究指明了方向。

**5.1 安全性和免疫原性** 安全性和免疫原性是基因治疗面临的主要挑战之一。Cukras 等<sup>[21]</sup>报告的 XLR5 基因治疗 I/II a 期临床试验中,44%患者出现了与剂量相关的基因治疗相关性葡萄膜炎。血清研究显示与剂量相关的抗 AAV8 抗体增加,但未检测到抗 RS1 基因产物的抗体。Bouquet 等<sup>[28]</sup>评估 LHON 患者接受基因治疗后的免疫反应,发现 15 例患者中 9 例在注射后出现了针对 AAV2 的抗体反应,但抗体反应与眼部炎症无显著关联。基因治疗的安全性风险还包括基因组整合风险、基因长期异常表达导致的潜在毒性以及基因产物导致的免疫反应<sup>[8,41]</sup>。值得注意的是,基因治疗安全性特征与给药途径密切相关,眼内给药因眼球免疫特权性而相对安全<sup>[42]</sup>,而全身给药

时则需警惕潜在的系统性不良反应<sup>[8,43]</sup>。为降低这些风险,研究者正致力于载体设计优化、个体化给药方案制定以及炎症预防策略开发,以期在保证疗效的同时最大限度地降低安全风险<sup>[41]</sup>。

**5.2 长期疗效** 确保基因治疗的长期疗效是另一个重要挑战。Parker 等<sup>[42]</sup>在 2022 年报告的 ABCA4 相关 Stargardt 病基因治疗的 3 a 安全性结果显示,27%患者出现了视网膜色素上皮萎缩加重的现象。这种结构性改变可能与治疗相关,表明基因载体类型、给药方式或特定基因表达的调控可能存在潜在的长期安全性问题。相比之下,Kiss 等<sup>[43]</sup>评估了 ADVN-022(一种用于治疗血管内皮生长因子相关视网膜疾病的基因治疗药物)在非人灵长类动物中的长期安全性,结果表明单次玻璃体内注射后可持续表达 aflibercept 达 2.5 a,并且未对正常视网膜结构和功能产生明显不良影响。这种对比表明不同类型基因治疗的长期安全性特征存在显著差异,可能与治疗基因、载体设计和表达调控机制相关。长期疗效的挑战还包括基因表达下降、治疗基因对疾病进展的长期影响以及可能出现的适应性变化。随着更多基因治疗进入临床阶段,需要完善的长期随访机制来系统评估不同策略的持久性和长期安全性,这对于确保患者获得持久的视功能改善至关重要。

**5.3 个体化治疗与联合疗法** 考虑到眼底疾病的遗传异质性,开发个体化治疗策略变得越来越重要。Moster 等<sup>[32]</sup>的研究探讨了 LHON 患者的基线视觉参数,发现视觉功能和视网膜结构在视力丧失后的前 8 mo 内变化最大,随后相对稳定。这一发现表明基因治疗应在疾病亚急性期实施,以防止不可逆结构损伤。Fry 等<sup>[44]</sup>研究显示,先天性黑矇症患者即使只有不到野生型水平 1%的全长 CHM 转录本也能显著减缓疾病进展。这一发现为基因治疗剂量选择提供了参考,表明治疗不一定需要恢复完全正常的表达水平,而应根据疾病特定机制确定有效表达阈值。因此,个体化治疗策略应综合考虑疾病的最佳干预时间窗口、最低有效基因表达需求以及患者的特定遗传背景,以最大化治疗效益。将基因治疗与其他治疗方法相结合可能是提高治疗效果的有效策略。Catarino 等<sup>[33]</sup>报告了 LHON 患者使用 idebenone 治疗的真实世界临床经验。与自然病程相比,治疗可以提高视力仍好的患者视力稳定的机会(50%患者),或使已显著降低的视力以临床相关方式恢复,这为基因治疗结合药物治疗提供了可能性。

**5.4 伦理性和成本考量** 基因治疗临床应用面临重要的伦理和经济挑战。《中国眼科基因治疗临床研究伦理审查专家共识(2022年)》<sup>[45]</sup>指出,基因治疗作为高风险技术,需建立严谨的科学与伦理双重审查机制,评估风险-受益比,并强调全面、可理解的知情同意过程。经济方面,首个获批眼科基因治疗药物 voretigene neparvovec 价格高达 85 万美元<sup>[5]</sup>,给医疗系统带来巨大负担。然而,相较于多次注射传统药物,眼部基因治疗所需载体剂量较低,且患者可能仅需一次性给药即可长期受益,从长期角度可能更具经济优势<sup>[44]</sup>。Sobh 等<sup>[1]</sup>的荟萃分析显示,眼科基因治疗有效性存在较大差异(41%患者视力改善,51%视觉敏感度提高),因此成本效益需个体化评估。监管框架方面,Banoun<sup>[8]</sup>指出监管分类的模糊性可能导致安全评估不一致,应基于风险-效益评估建立合理标准。在临床实践层面,基因治疗的应用已经开始改变某些遗传性眼病的诊疗流程。对于 RPE65 突变的 LCA 等疾病,早期基因诊断

和治疗干预已成为标准做法。随着更多基因治疗获批,眼科医生需要掌握基因治疗的适应证、时机选择和结果评估等新技术,这将推动眼科领域向精准医学方向发展。

## 6 小结

眼底疾病基因治疗研究已取得显著进展。在单基因遗传性视网膜病变领域,RPE65-LCA 基因治疗成功实现商业化应用,RP/Stargardt 病和脉络膜缺失症等疾病的临床试验也显示出不同程度的疗效。LHON 的 AAV2-ND4 基因治疗证实了单侧治疗可带来双眼视力改善的现象。对于多因素复杂眼底病变,ARM D 的基因治疗主要聚焦于抑制 VEGF 表达,DR 研究已识别 MALAT1 等潜在靶点。递送系统方面,AAV 载体工程化改造、非病毒载体开发及 CRISPR/Cas9 技术应用正快速推进。然而,安全性问题、长期疗效的不确定性、个性化治疗策略需求以及伦理与成本考量仍是眼底疾病基因治疗面临的主要挑战。随着技术进步与临床经验积累,未来研究将聚焦于优化递送系统、提高治疗精准性与安全性,使这一革命性治疗惠及更多患者。从临床转化角度看,眼底疾病基因治疗正从“概念验证”阶段迈向“实用工具”阶段。未来 10 a 内,随着更多基因治疗产品获批上市,治疗成本降低,我们有望见证基因治疗成为治疗多种眼底遗传病的常规选择,同时在复杂眼底病变中与传统治疗形成互补,最终实现精准、个体化的治疗范式,为患者提供更好的视觉预后和生活质量。

**利益冲突声明:** 本文不存在利益冲突。

**作者贡献声明:** 刘小天文献检索、数据分析、论文选题与撰写。所有作者阅读并同意最终的文本。

## 参考文献

- [1] Sobh M, Lagali PS, Ghiasi M, et al. Safety and efficacy of adeno-associated viral gene therapy in patients with retinal degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Transl Vis Sci Technol*, 2023, 12(11):24.
- [2] Hu ML, Edwards TL, O'Hare F, et al. Gene therapy for inherited retinal diseases: progress and possibilities. *Clin Exp Optom*, 2021, 104(4):444-454.
- [3] Kansara VS, Cooper M, Sesenoglu-Laird O, et al. Suprachoroidally delivered DNA nanoparticles transfect retina and retinal pigment epithelium/choroid in rabbits. *Trans Vis Sci Tech*, 2020, 9(13):21.
- [4] Battu R, Ratra D, Gopal L. Newer therapeutic options for inherited retinal diseases: Gene and cell replacement therapy. *Indian J Ophthalmol*, 2022, 70(7):2316-2325.
- [5] Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, 2017, 390(10097):849-860.
- [6] Khanani AM, Thomas MJ, Aziz AA, et al. Review of gene therapies for age-related macular degeneration. *Eye*, 2022, 36(2):303-311.
- [7] Biswas S, Thomas AA, Chen SL, et al. MALAT1: an epigenetic regulator of inflammation in diabetic retinopathy. *Sci Rep*, 2018, 8(1):6526.
- [8] Banoun H. mRNA: vaccine or gene therapy? the safety regulatory issues. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13):10514.
- [9] He X, Fu Y, Ma L, et al. AAV for gene therapy in ocular diseases: progress and prospects. *Research (Wash D C)*, 2023, 6:0291.
- [10] Fuller-Carter PI, Basiri H, Harvey AR, et al. Focused update on AAV-based gene therapy clinical trials for inherited retinal degeneration. *BioDrugs*, 2020, 34(6):763-781.

- [11] Cideciyan AV, Jacobson SG, Drack AV, et al. Effect of an intravitreal antisense oligonucleotide on vision in Leber congenital amaurosis due to a photoreceptor Cilium defect. *Nat Med*, 2019, 25(2):225-228.
- [12] Daich Varela M, Cabral de Guimaraes TA, Georgiou M, et al. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: current management and clinical trials. *Br J Ophthalmol*, 2022, 106(4):445-451.
- [13] Fischer MD, Michalakakis S, Wilhelm B, et al. Safety and vision outcomes of subretinal gene therapy targeting cone photoreceptors in Achromatopsia: a nonrandomized controlled trial. *JAMA Ophthalmol*, 2020, 138(6):643-651.
- [14] Cehajic - Kapetanovic J, Xue KM, Martinez - Fernandez de la Camara C, 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.
- [15] Georgiou M, Robson AG, Fujinami K, et al. Phenotyping and genotyping inherited retinal diseases: Molecular genetics, clinical and imaging features, and therapeutics of macular dystrophies, cone and cone-rod dystrophies, rod - cone dystrophies, Leber congenital amaurosis, and cone dysfunction syndromes. *Prog Retin Eye Res*, 2024, 100:101244.
- [16] McClements ME, Barnard AR, Singh MS, et al. An AAV dual vector strategy ameliorates the stargardt phenotype in adult *Abca4*<sup>-/-</sup> mice. *Hum Gene Ther*, 2019, 30(5):590-600.
- [17] Dyka FM, Molday LL, Chiodo VA, et al. Dual ABCA4-AAV vector treatment reduces pathogenic retinal A2E accumulation in a mouse model of autosomal recessive stargardt disease. *Hum Gene Ther*, 2019, 30(11):1361-1370.
- [18] Tornabene P, Trapani I, Minopoli R, et al. Intein-mediated protein trans-splicing expands adeno-associated virus transfer capacity in the retina. *Sci Transl Med*, 2019, 11(492):eaav4523.
- [19] Sun D, Schur RM, Sears AE, et al. Non-viral gene therapy for stargardt disease with ECO/pRHO-ABCA4 self-assembled nanoparticles. *Mol Ther*, 2020, 28(1):293-303.
- [20] Pennesi ME, Yang P, Birch DG, et al. Intravitreal delivery of rAAV2tYF-CB-hRS1 vector for gene augmentation therapy in patients with X-linked retinoschisis: 1-year clinical results. *Ophthalmol Retina*, 2022, 6(12):1130-1144.
- [21] Cukras C, Wiley HE, Jeffrey BG, et al. Retinal AAV8-RS1 gene therapy for X-linked retinoschisis: initial findings from a phase I/II a trial by intravitreal delivery. *Mol Ther*, 2018, 26(9):2282-2294.
- [22] Xue KM, Jolly JK, Barnard AR, et al. Beneficial effects on vision in patients undergoing retinal gene therapy for choroideremia. *Nat Med*, 2018, 24(10):1507-1512.
- [23] Fischer MD, Ochakovski GA, Beier B, et al. Changes in retinal sensitivity after gene therapy in choroideremia. *Retina*, 2020, 40(1):160-168.
- [24] Wan X, Pei H, Zhao MJ, et al. Efficacy and safety of rAAV2-ND4 treatment for leber's hereditary optic neuropathy. *Sci Rep*, 2016, 6(1):21587.
- [25] Koilkonda RD, Yu H, Chou TH, et al. Safety and effects of the vector for the Leber hereditary optic neuropathy gene therapy clinical trial. *JAMA Ophthalmol*, 2014, 132(4):409-420.
- [26] Yu-Wai-Man P, Newman NJ, Carelli V, et al. Bilateral visual improvement with unilateral gene therapy injection for Leber hereditary optic neuropathy. *Sci Transl Med*, 2020, 12(573):eaaz7423.
- [27] Newman NJ, Yu - Wai - Man P, Subramanian PS, et al. Randomized trial of bilateral gene therapy injection for m.11778G>A

MT-ND4 Leber optic neuropathy. *Brain*, 2023,146(4):1328-1341.

[28] Bouquet C, Vignal Clermont C, Galy A, et al. Immune response and intraocular inflammation in patients with leber hereditary optic neuropathy treated with intravitreal injection of recombinant adeno-associated virus 2 carrying the ND4 gene: a secondary analysis of a phase 1/2 clinical trial. *JAMA Ophthalmol*, 2019,137(4):399-406.

[29] Lai CM, Estcourt MJ, Himbeck RP, et al. Preclinical safety evaluation of subretinal AAV2.sFlt-1 in non-human Primates. *Gene Ther*, 2012,19(10):999-1009.

[30] Neroeva NV, Balatskaya NV, Neroev VV, et al. Features of local expression of genes of immune response cytokines and trophic and vasoregulatory factors in modeling of retinal pigment epithelium atrophy. *Bull Exp Biol Med*, 2022,172(4):453-459.

[31] Yang S, Yang H, Ma SQ, et al. Evaluation of Leber's hereditary optic neuropathy patients prior to a gene therapy clinical trial. *Medicine (Baltimore)*, 2016,95(40):e5110.

[32] Moster ML, Sergott RC, Newman NJ, et al. Cross-sectional analysis of baseline visual parameters in subjects recruited into the RESCUE and REVERSE ND4-LHON gene therapy studies. *J Neuroophthalmol*, 2021,41(3):298-308.

[33] Catarino CB, von Livonius B, Priglinger C, et al. Real-world clinical experience with idebenone in the treatment of leber hereditary optic neuropathy. *J Neuro Ophthalmol*, 2020,40(4):558-565.

[34] Zhou C, Hu X, Tang C, et al. CasRx-mediated RNA targeting prevents choroidal neovascularization in a mouse model of age-related macular degeneration. *Natl Sci Rev*, 2020;7(5):835-837.

[35] Tong P, Peng QH, Gu LM, et al. LncRNA-MEG3 alleviates high glucose induced inflammation and apoptosis of retina epithelial cells via regulating miR-34a/SIRT1 axis. *Exp Mol Pathol*, 2019,107:102-109.

[36] Ding K, Shen JK, Hafiz Z, et al. AAV8-vectored suprachoroidal gene transfer produces widespread ocular transgene expression. *J Clin Invest*, 2019,129(11):4901-4911.

[37] Yiu G, Chung SH, Mollhoff IN, et al. Suprachoroidal and subretinal injections of AAV using transscleral microneedles for retinal gene delivery in nonhuman Primates. *Mol Ther Meth Clin Dev*, 2020,16:179-191.

[38] Chan YK, Wang SK, Chu CJ, et al. Engineering adeno-associated viral vectors to evade innate immune and inflammatory responses. *Sci Transl Med*, 2021,13(580):eabd3438.

[39] Sanjurjo-Soriano C, Erkilic N, Baux D, et al. Genome editing in patient iPSCs corrects the most prevalent USH2A mutations and reveals intriguing mutant mRNA expression profiles. *Mol Ther Meth Clin Dev*, 2019,17:156-173.

[40] Qin H, Zhang WL, Zhang SY, et al. Vision rescue *via* unconstrained *in vivo* prime editing in degenerating neural retinas. *J Exp Med*, 2023,220(5):e20220776.

[41] Costa Verdera H, Kuranda K, Mingozi F. AAV vector immunogenicity in humans: a long journey to successful gene transfer. *Mol Ther*, 2020,28(3):723-746.

[42] Parker MA, Erker LR, Audo I, et al. Three-year safety results of SAR422459 (EIAV-ABCA4) gene therapy in patients with ABCA4-associated stargardt disease: an open-label dose-escalation phase I/IIa clinical trial, cohorts 1-5. *Am J Ophthalmol*, 2022,240:285-301.

[43] Kiss S, Oresic Bender K, Grishanin RN, et al. Long-term safety evaluation of continuous intraocular delivery of aflibercept by the intravitreal gene therapy candidate ADVIM-022 in nonhuman Primates. *Trans Vis Sci Tech*, 2021,10(1):34.

[44] Fry LE, Patricio MI, Williams J, et al. Association of messenger RNA level with phenotype in patients with choroideremia: potential implications for gene therapy dose. *JAMA Ophthalmol*, 2020,138(2):128-135.

[45] 中华医学会眼科学分会眼底病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼底病学组. 中国眼科基因治疗临床研究伦理审查专家共识 (2022年). *中华眼科杂志*, 2022,58(12):1010-1016.