综述

遗传性视网膜疾病基因治疗的研究进展

刘楚乔[1,2,3]，张 鹏[2,3]，付莉莉[1,2,3]，陶巧玉[1,2,3]，邱云良[3,4*]

（1. 安徽中医药大学药学院，安徽合肥 230013；2. 南通市海门长三角药物高等研究院，江苏南通 226133；
3. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏南通 226000；4. 中国医药工业研究总院上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：遗传性视网膜疾病（IRD）是造成患者不可逆视力丧失或失明的重要原因，其预后差，临床缺乏有效的干预手段。基因治疗药物为该类疾病治疗创造了新的可能。腺相关病毒（AAV）是目前基因治疗中应用较广泛、较有前景的病毒载体之一。该文简述了 AVV 载体眼部应用的可行性，重点阐述了应用 AAV 递送系统治疗 IRD 的临床前及临床进展，并结合取得的数据评估其安全性及有效性。最后总结了基因治疗 IRD 的影响因素，展望今后的研究方向，以期为 IRD 治疗技术创新、AAV 载体后续产品研发提供参考。

关键词：遗传性视网膜疾病；腺相关病毒；基因治疗；安全性

中图分类号：R979.9、Q812　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)10-1403-08

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.10.001

Advances in Gene Therapy for Inherited Retinal Diseases

LIU Chuqiao[1,2,3], ZHANG Peng[2,3], FU Lili[1,2,3], TAO Qiaoyu[1,2,3], QIU Yunliang[3,4*]

(*1. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230013;
2. Yangtze Delta Pharmaceutical College, Nantong 226133; 3. InnoStar Biotechnology Nantong Co., Ltd., Nantong 226000;
4. Shanghai InnoStar Bio-Tech Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Inherited retinal diseases (IRD) are an important cause of irreversible vision loss or blindness, whose prognosis is poor, and clinically effective intervention methods are lacking. Gene therapy has created new possibilities for IRD treatment. Adeno-associated viral (AAV) is a widely used viral gene therapy vector with application prospects. This paper briefly describes the feasibility of AVV vectors in ocular application, focuses on the preclinical and clinical progress of the application of AAV delivery system for IRD treatment, evaluates the safety and efficacy based on the obtained data, and summarizes the influencing factors of gene therapy for IRD, as well as looks forward to the future research directions, providing references for the technological innovation of IRD treatment and the subsequent product development of AAV vectors.

Key Words: inherited retinal disease; adeno-associated viral; gene therapy; safety

遗传性视网膜疾病（inherited retinal diseases，IRD）是由视网膜进行性退化引起的遗传性疾病，患病率为 0.06％～0.2％[1—3]。截至 2020 年，全球 IRD 病例数为 500 万～1 000 万[3—4]，是导致儿童及 16～64 岁人群不可逆失明的重要病因，给社会与家庭带来巨大的经济负担。IRD 的特点是遗传和临床表型表现的异质性[5—6]。在由 270 多个基因变异引起的 IRD 中[7]，约 70％为常染色体隐性遗传，25％为常染色体显性遗传，其余遗传方式为 X 连锁或线粒体遗传[3,7]。IRD 主要包括视网膜色素变性（retinitis pigmentosa，RP）、Leber 先天性黑矇

收稿日期：2022-12-02

基金项目：江苏省新药一站式高效非临床评价公共服务平台建设项目(BM2021002)

作者简介：刘楚乔(1995—)，女，硕士，从事药理学研究。

通信作者：邱云良(1978—)，男，研究员，从事药物毒理学研究。
E-mail：ylqiu@innostar.cn

(Leber congenital amaurosis，LCA)、无脉络膜症(choroideraemia，CHM)、Leber 遗传性视神经病变(Leber hereditary optic neuropathy，LHON) 等。

基因治疗是新型疾病治疗手段，指将外源正常基因导入靶细胞，以纠正或补偿缺陷及异常基因引起的疾病，达到治疗目的。全球首个 IRD 基因治疗药物 Luxturna 相继获得美国 FDA、EMA 批准上市[8]，成为眼科基因治疗领域里程碑式的标志，也是目前治疗 IRD 唯一、有效的治疗手段。基因治疗常用载体包括病毒载体和非病毒载体两类[9]。非病毒载体制造成本低、效益高、制备简单、可大规模生产，具有潜在的高承载能力，可负载的外源基因长度不受限制[10]，但无法长期、持续表达，需重复给药[11—12]，不利于临床应用。在病毒载体中，腺相关病毒 (adeno-associated viral，AAV) 较常用，具有细胞靶向性好、转导率高、免疫原性低、宿主细胞范围广、可维持治疗基因长期持续表达的特点。然而，AAV 载体容量有限 (≤ 5 kb)，限制了临床应用。有研究者采用修饰、改造 AAV 载体的方式[13—14]，调控基因的特异性表达[15]，增加负载量、细胞靶向性，并降低免疫原性。

本研究分析了 AAV 载体眼部应用的可行性，重点阐述了应用 AAV 递送系统治疗 IRD 的临床前及临床进展，总结了基因治疗 IRD 的影响因素，并展望今后的研究方向，以期为 IRD 治疗技术创新、AAV 载体后续产品研发提供参考。

1　基因疗法治疗 IRD 的可行性

眼睛是基因治疗较理想的器官：由于血 - 视网膜屏障，眼球相对独立，具有免疫豁免特性；眼部结构高度分区，视网膜解剖层次清晰，药物易进入不同和特定的眼组织；玻璃体腔及视网膜下腔给药量少，可降低不必要的全身效应；非侵入性技术可通过透明介质研究视网膜的结构和功能，评估药效；多数遗传性视网膜疾病的发病表现呈双侧对称，IRD 疾病进展中存在个体间差异，因此可将双眼作为对照[16—17]。

2　AAV 递送系统治疗 IRD 的应用

2.1　RP

RP 是较常见的 IRD。疾病发展初期，视杆细胞先变性，出现夜盲症和周边视野缺失；疾病后期视锥细胞也受到影响，会丧失中心视力和视觉；最终患者的光感受器功能和结构完整性逐渐丧失，眼底检查可见视网膜色素沉积[18]。迄今为止，已筛选出 107 个基因与 RP 相关，如编码原癌基因髓样上皮再生酪氨酸激酶 (myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase，MERTK)、视网膜色素上皮特异性蛋白 (retinal pigment epithelium-specific protein，RPE65)、视网膜色素变性三磷酸鸟苷酶调节因子 (retinitis pigmentosa GTPase regulator，RPGR)、磷酸二酯酶 6B(phosphodiesterase 6B，PDE6B) 的基因等[19]。

2.1.1　*MERTK* 基因

MERTK 基因参与调节视网膜色素上皮 (RPE) 对脱落的光感受器外节 (photoreceptor outer segments，POS) 的吞噬作用，突变会导致脱落的 POS 盘膜碎片沉积及感光细胞死亡[20]。采用 AAV 载体递送 *MERTK* 基因至皇家外科学院 (Royal College of Surgeons，RCS) 大鼠、*MERTK* 基因敲除小鼠等模型动物中可实现视网膜基因转移，改善视觉功能和视网膜形态，阻止光感受器变性并恢复 RPE 的吞噬功能。一项Ⅰ期临床试验 (NCT01482195) 中，6 名患者接受视网膜下腔注射 rAAV2-VMD2-*hMERTK* 的治疗，其中 2 名患者注射 150 μL(病毒滴度：5.96×10^{10} vg)，4 名患者注射 450 μL(病毒滴度：17.88×10^{10} vg)；2 年随访结果显示，接受治疗的 6 只眼中 3 只视力有所改善，但 2 名患者的此种改善在 2 年间消失，可能与术后白内障、疾病进展持续、治疗效果随时间延长而丧失有关[21]。

规律间隔成簇的短回文重复序列 (clustered regularly interspersed short palindromic repeats，CRISPR) 与 CRISPR 关联基因 (CRISPR associated，Cas) 组成 CRISPR/Cas9 基因编辑系统[22]。有研究[23] 采用 CRISPR/Cas9 构建了同源独立性靶向插入 (homology independent targeted insertion，HITI) 系统，并通过 AAV 载体将 HITI 系统和小向导 RNA(sgRNA) 经视网膜下腔注射递送至 RCS 大鼠，成功将完整外显子 2 敲入基因组，MERTK mRNA

和蛋白质水平增加，视网膜形态和视杆细胞反应也改善显著。

2.1.2 *RPGR* 基因

X 连锁视网膜色素变性（X-linked forms of retinitis pigmentosa，XLRP）致病基因 *RPGR* 多数突变位于外显子开放阅读框 15（open reading frame 15，ORF15）中，通过编码一种纤毛蛋白参与调节蛋白质向 POS 的运输 [24]。2020 年，有研究 [25] 报道了 XLRP 患者首次接受视网膜下腔给予 BIIB112（人源 AAV 8-*coRPGR*）的治疗，并进行了剂量递增的Ⅰ/Ⅱ期临床试验（NCT03116113）。18 名患者分别被给予了 6 个剂量（5×10^{10} ～ 5×10^{12} gp/mL，记为 C1 ～ C6）；结果表明所有患者 1 个月内均出现视觉清晰度的主观改善和视野增加，功能评估也显示患者视力达到与基线水平相似的程度。其中，低剂量（C1 ～ C2）组药物对眼视觉功能无明显改善，但视力于 3 个月后恢复至基线水平；中剂量（5×10^{11} gp/mL）组的 3 名患者视网膜敏感性有所提高，视野缺失部分恢复，随访 6 个月内治疗效果持续。低、中剂量组显示出良好的安全性，但高剂量（C4 ～ C6，高达 5×10^{12} gp/mL）组的 9 名患者中有 7 名表现出轻微的视网膜下炎症，其中 1 例患者（C4 组）出现前葡萄膜炎，可能为药物注射手术引起的术后炎症，该症状在局部类固醇治疗 4 周后消退。然而在 2021 年 5 月，其Ⅱ/Ⅲ期临床试验中的 5 年安全性、有效性研究因治疗 12 个月后黄斑完整性评估未达到主要终点而被中止。

在产品 MGT009（AAV 2/5-*RPGR*）的Ⅰ/Ⅱ期临床研究（NCT03252847）中，受试者分别接受视网膜下腔单眼单次给予 3 个剂量（2×10^{11}、4×10^{11}、8×10^{11} vg/mL）治疗及随机接受上述低或中剂量治疗的扩展试验。有 42 名成年男性受试者接受治疗，另有 3 名儿童接受中剂量治疗。结果显示该产品达到了安全终点，剂量递增阶段观察到 2 例严重不良反应事件（低剂量组有 1 例视网膜撕裂和 1 例葡萄膜炎）。预防性类固醇治疗可减少剂量扩展阶段炎症相关的不良反应事件，该模式下只观察到 1 例眼内压升高且在治疗后得到解决。儿科剂量确认队列中未观察到严重不良反应事件。治疗组和未治疗组在平均视网膜敏感性、中央视野进展方面存在显著差异，3 个月内显现出视网膜及视觉功能的显著改善，6 个月随访期间接受低、中剂量治疗的患者视力改善效果持续 [26]。英国 MeiraGTx 公司目前正赞助该产品开展Ⅲ期临床试验。

2.1.3 *PDE6B* 基因

关于 *PDE6B* 基因缺陷所致的Ⅰ/Ⅱ期临床试验（NCT03328130）正在进行中，通过视网膜下腔给予 4 个递增剂量的 AAV2/5-*hPDE6B*，探讨其安全性、有效性，但尚未报道结果。与 CRISPR/Cas9 基因编辑相比，碱基编辑（base editing，BE）能有效修复碱基突变、无双链 DNA 断裂、减少了目标位点插入或缺失发生，在治疗单核苷酸变异引起的遗传性疾病方面具有广阔前景。研究 [27] 通过单次视网膜下腔递送携带腺嘌呤碱基编辑器的双 AAV 系统（AAV-SpRY-ABE8e-A7）至 rd 10 小鼠，精准纠正了位于视网膜神经节细胞的致病性单核苷酸变异，有效率高达 49%，恢复了功能性蛋白的表达，保留了光感受器的形态。后续的视网膜电图（ERG）及视觉引导行为研究结果显示，rd 10 小鼠视觉功能显著改善。该项研究验证了基于碱基编辑的基因疗法的可行性，为 RP 治疗指明新方向。

2.2 LCA

Luxturna 的获批上市使 LCA 成为目前唯一可治疗的 IRD。LCA 发病年龄早，早期标志是视网膜综合电位反应减少或缺失和特征性眼底运动，患者儿童时期表现出早发性视力丧失、眼球震颤、视野向心性缩小和夜盲症，病程进展较快，通常在成年后迅速失明。目前有 26 个基因与 LCA 相关，包括编码 RPE 65、鸟苷酸环化酶 2D（guanylate cyclase 2D，GUCY2D）、中心体蛋白 290（centrosomal protein 290，CEP290）的基因等。

2.2.1 *RPE65* 基因

RPE65 基因在 RPE 细胞中特异性表达，编码一种类视黄醇异构酶，可在视杆及视锥细胞中催化生成可形成视色素的 11- 顺式视黄醛。目前已有许多 *RPE65* 缺失型 LCA 动物模型，如 rd 12

小鼠[28—29]、*RPE65*$^{-/-}$小鼠[30]以及瑞典Briard-Beagle犬[31]模型被应用于AAV载体的临床前安全性评价和药效试验。研究[32]报道了AAV 2/5-*OPTIRPE65*（NCT02781480）、rAAV 2-CB-*hRPE65*（NCT00749957）、rAAV 2/2-hRPE65p-*hRPE65*（NCT00643747）的Ⅰ/Ⅱ期临床安全性及有效性试验，试验期间均未报告与治疗相关的严重不良反应事件。NCT00749957更新了5年随访数据[33]，2组剂量（1.8×10^{11}、6×10^{11} vg）均未观察到安全性问题，在年轻患者中视功能改善的效果更明显且可持续，但其未治疗眼也有部分视功能改善，因此需要评估更多患者和进行更长时间随访，以确定罕见不良反应及安全性问题的发生率。美国Spark Therapeutics公司正在进行临床试验以确定Luxturna的长期影响（NCT03602820、NCT01208389、NCT00516477、NCT03597399、NCT00999609）。另外，研究[34]采用CRISPR/Cas9基因编辑系统治疗人源LCA模型rd 12小鼠的*RPE65*中过早终止密码子的无义突变。视网膜下腔注射载带CRISPR/Cas9和用作*RPE65*供体序列的单链寡脱氧核苷酸的双AAV系统，使RPE中*RPE65*的过早终止密码子发生同源重组修复（精确整合率为1.2%）和致病终止密码子删除（1.6%）。注射后7个月，表现出RPE65表达持续恢复、视网膜功能恢复（ERG的a波和b波振幅水平分别达到21.2%和39.8%）以及视网膜厚度维持。该研究首次使用CRISPR/Cas9纠正*RPE65*的无义突变，为开发LCA疗法提供了新的思路。

2.2.2 *CEP290*基因

MAEDER等[35]通过视网膜下腔注射递送EDIT-101［将向导RNA（gRNA）和SaCas9装载至AAV 5载体中］到人源*CEP290 IVS26*基因小鼠模型，结果证实该法可纠正*CEP290*剪切缺陷，恢复*CEP290*的功能性表达。并且，EDIT-101或非人灵长类（non-human primates，NHP）载体在被递送至视网膜下腔后（剂量分别为7×10^{11}、1×10^{12} vg/mL），均表现出良好的耐受性，并在小鼠和非人灵长类动物的感光细胞中实现了持续且剂量依赖性的*CEP290*编辑（编辑率达16%和28%），超过了目标治疗水平。首个基于CRISPR/Cas9基因编辑系统的人体内基因编辑临床试验（NCT03872479）已经启动，采用AAV 5载体负载Cas9和2个*CEP290*特异性sgRNA，并在光感受器中特异性表达。最新数据[26,36]显示，在15个月的随访中该疗法安全性良好，仅发生少量脱靶效应。另外，研究人员试图开发小基因片段解决AAV载体负载量较小的问题，将携带表达miniCEP290$^{580—1180}$的cDNA与AAV载体颗粒经视网膜下腔注射至新生*CEP290*^{rd16}小鼠中，其外核层保留，光感受器形态和功能显著改善[37]，为AAV载体传递大基因提供了更多选择。

2.3 CHM

CHM又称脉络膜血症，是进行性X连锁隐性遗传疾病，携带者常为女性，主要导致男性RPE、脉络膜毛细血管和光感受器萎缩；青春期患者出现夜盲及周边视力逐渐丧失，视野向心性缩窄，累及黄斑病变时中心视力下降。疾病末期会导致不同程度的视力障碍，直至失明[38—39]。

CHM由编码参与Rab GTPases脂质修饰（即异戊二烯化）的Rab护送蛋白（Rab escort protein-1，REP1）的*CHM*（*REP1*）基因功能丧失导致。有5项Ⅰ/Ⅱ期临床试验（NCT01461213、NCT02077361、NCT02553135、NCT02671539、NCT02341807）探究了人眼视网膜下腔注射rAAV 2-*REP1*或AAV 2-*hCHM*的安全性和有效性。对40名患者中的34名进行了2年的随访，结果显示患者视力出现边际改善，但治疗期间观察到多种外科手术并发症，如结膜出血、较严重的局部黄斑中心凹变薄、视网膜脱离和眼内炎症[39]。2018年，英国Nightstar Therapeutics公司启动BIIB111（AAV2-*REP1*）的Ⅲ期临床试验（NCT03496012），研究其在CHM患者中的长期安全性和有效性；但2021年Biogen报告该试验未达到主要治疗终点。虽然Ⅲ期临床试验的失败令人沮丧，但其临床经验或许有助于推动包括CHM在内的IRD的治疗创新。

2.4 LHON

LHON为神经退行性线粒体遗传病，视网膜神

经节细胞及其轴突退化，导致无痛性视力障碍，几个月内双侧视力丧失，视神经萎缩，中央视力丧失，呈现中心视野绝对暗点，色觉及对比敏感度障碍，造成急性或亚急性失明[40]。LHON相关的常见突变基因是线粒体DNA的*ND1*、*ND4*或*ND6*，它们将导致烟酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶的亚基发生突变，降低线粒体呼吸链中复合物Ⅰ的活性，造成线粒体内的氧化磷酸化过程受阻，降低ATP合成效率和长期增加氧化应激。

线粒体的双膜结构及表面高度疏水性蛋白限制了基因递送至线粒体中的效率。因此，有学者提出同体异位表达方法，即将线粒体基因功能性地重新定位到细胞核中，然后将细胞质中合成的编码蛋白导入线粒体中[41]。BONNET等[42]通过mRNA靶向线粒体表面，促使线粒体基因*ATP6*、*ND1*和*ND4*同体异位表达，在发生突变的人类成纤维细胞中获得了完整且持久的线粒体功能恢复。基于该策略，有研究[43—44]将突变的人类*ND4*基因分别引入小鼠、大鼠眼部创建了LHON动物模型，并采用AAV载体负载人类*ND4*复合物Ⅰ亚基（scAAV 2-*P1ND4v2*），对LHON小鼠模型以玻璃体内注射途径给药。结果显示，scAAV 2-*P1ND4v2*耐受性良好，并逆转了视力丧失和视神经病变。LAM等[45]在玻璃体腔内注射4个剂量（1.2×10^{8}、5.8×10^{8}、2.4×10^{9}、1.0×10^{10} vg）的AAV2（Y444,500,730F）-*P1ND4v2*，进行临床Ⅰ期安全性试验（NCT02161380）。结果显示，除剂量相关的葡萄膜炎（其中超高剂量及其他剂量组该反应的发生率分别为71%、15%）外，无其他不良反应；超高剂量组需要局部应用或口服免疫抑制剂药物，其他剂量组患者炎症轻微、可自然消退。患者视力在治疗24个月后均有改善，至36个月时则疗效不明显。THOMASSON等[46]评估了非人灵长类动物玻璃体腔注射GS010（rAAV 2/2-*ND4*）的局部耐受性、脱落和免疫原性，并首次进行Ⅰ/Ⅱ期临床安全性研究（NCT02064569）。结果显示，该药物耐受性良好，不良反应多为轻度眼部炎症。法国GenSight Biologics公司开展了GS010的Ⅲ期药效试验（Reverse NCT02652780和Rescue NCT02652767），2项研究的平均最佳矫正视力（best corrected visual acuity，BCVA）曲线持续改善至第96周，但均未达到主要终点。该公司后续启动了Ⅲ期长期安全性试验（Restore NCT03406104）及双侧给药Ⅲ期试验（Reflect NCT03293524），这个系列的研究将有助于探讨GS010基因治疗的可能性。一项关于rAAV2-*ND4*的临床试验（NCT01267422）结果显示，在约7年的随访期间，8名患者（接受治疗的患者共9名）中有6名患者的BCVA保持临床显著改善；治疗过程同样会引起局部和全身炎症反应，但短期口服糖皮质激素可缓解症状，显示该疗法的耐受性和安全性良好[47]。2017年，一项包含53例患者的临床试验（NCT03153293）结果显示，rAAV2-*ND4*的疗效存在显著个体差异，预后因素尚不明确，需进一步研究。综上所述，同体异位表达或可成为LHON的有效疗法，并为其他破坏性线粒体疾病的临床试验开辟道路。

3 小结与展望

近年来，基于AAV载体的IRD基因治疗的临床前及临床试验结果证明了AAV载体眼内递送基因药物的安全性及有效性，为治愈IRD患者带来了新希望。

然而，基因治疗受众多因素影响。例如，给药途径。治疗IRD的常用给药途径是玻璃体腔注射、视网膜下腔注射。玻璃体腔注射的术后风险较小，但视网膜内界膜使许多AAV亚型的转导效率降低[48]，且玻璃体自身的胶体性质使药物的扩散、分布不完全，导致治疗效果较差[49]。病毒载体通过视网膜下腔注射给药更易透过视网膜物理屏障，但侵入性强，对操作人员的专业要求较高，可能会造成短暂的医源性视网膜脱离，可从颞侧血管弓上方给药，以增加安全性[32,50]。临床研究[51—52]表明，视网膜下腔注射给药的安全性、耐受性良好，疗效也较好，是目前较可行的方法。AAV载体的装载量有限，可引起免疫反应及炎症，需联合使用免疫抑制剂，且AAV载体或存在潜在的遗传毒性[53]及整合风险[54]，治疗后需长期监测。基于CRISPR/

Cas9的基因编辑技术，存在编辑效率不稳定、易脱靶及Cas9蛋白过表达所致的毒性等问题。因此，IRD基因治疗仍面临巨大挑战。为实现一次给药达到长期、稳定、有效的临床效果的需求，采取个性化和联合治疗策略，开发更安全、有效、稳定、靶向性高的病毒载体，广泛应用基因编辑技术，不断精进外科技术，可能是IRD基因治疗未来的发展方向。

参考文献：

[1] GALVIN O, CHI G, BRADY L, *et al*. The impact of inherited retinal diseases in the Republic of Ireland (ROI) and the United Kingdom (UK) from a cost-of-illness perspective [J]. *Clin Ophthalmol*, 2020, **14**: 707-719.

[2] GONG J, CHEUNG S, FASSO-OPIE A, *et al*. The impact of inherited retinal diseases in the United States of America (US) and Canada from a cost-of-illness perspective [J]. *Clin Ophthalmol*, 2021, **15**: 2855-2866.

[3] FENNER B J, TAN T E, BARATHI A V, *et al*. Gene-based therapeutics for inherited retinal diseases [J]. *Front Genet*, 2022, **12**: 794805.

[4] HANANY M, RIVOLTA C, SHARON D. Worldwide carrier frequency and genetic prevalence of autosomal recessive inherited retinal diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, **117**(5): 2710-2716.

[5] DIAKATOU M, MANES G, BOCQUET B, *et al*. Genome editing as a treatment for the most prevalent causative genes of autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(10): 2542.

[6] RIVOLTA C, SHARON D, DEANGELIS M M, *et al*. Retinitis pigmentosa and allied diseases: numerous diseases, genes, and inheritance patterns [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**(10): 1219-1227.

[7] DAIGER S P, SULLIVAN L S, BOWNE S J. Genes and mapped loci causing retinal diseases [EB/OL]. (2022-10-07) [2022-10-17]. https://web. sph. uth. edu/RetNet/disease. htm.

[8] KEELER A M, FLOTTE T R. Recombinant adeno-associated virus gene therapy in light of Luxturna (and Zolgensma and Glybera): where are we, and how did we get here? [J]. *Annu Rev Virol*, 2019, **6**(1): 601-621.

[9] WANG Y H, RAJALA A, CAO B, *et al*. Cell-specific promoters enable lipid-based nanoparticles to deliver genes to specific cells of the retina *in vivo* [J]. *Theranostics*, 2016, **6**(10): 1514-1527.

[10] REN D H, FISSON S, DALKARA D, *et al*. Immune responses to gene editing by viral and non-viral delivery vectors used in retinal gene therapy [J]. *Pharmaceutics*, 2022, **14**(9): 1973.

[11] APAOLAZA P S, DELGADO D, DEL POZO-RODRÍGUEZ A, *et al*. A novel gene therapy vector based on hyaluronic acid and solid lipid nanoparticles for ocular diseases [J]. *Int J Pharm*, 2014, **465**(1/2): 413-426.

[12] PURAS G, MASHAL M, ZÁRATE J, *et al*. A novel cationic niosome formulation for gene delivery to the retina [J]. *J Control Release*, 2014, **174**: 27-36.

[13] AIL D, MALKI H, ZIN E A, *et al*. Adeno-associated virus (AAV)-based gene therapies for retinal diseases: where are we? [J]. *Appl Clin Genet*, 2023, **16**: 111-130.

[14] GHOSH A, YUE Y, LAI Y, *et al*. A hybrid vector system expands adeno-associated viral vector packaging capacity in a transgene-independent manner [J]. *Mol Ther*, 2008, **16**(1): 124-130.

[15] 滕小龙, 史硕博. CRISPR/Cas9 系统在基因组编辑中的优化与发展[J]. 合成生物学, 2023, **4**(1): 67-85.

[16] LEROY B P, FISCHER M D, FLANNERY J G, *et al*. Gene therapy for inherited retinal disease: long-term durability of effect [J]. *Ophthalmic Res*, 2023, **66**(1): 179-196.

[17] DHOOGE P P, VALKENBURG D, HOYNG C B. Gene therapy for inherited retinal diseases [M]// GAO X R. Genetics and genomics of eye disease. Amsterdam: Elsevier, 2020: 279-295.

[18] HAMEL C. Retinitis pigmentosa [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2006, **1**(1): 40.

[19] 沈科炯, 沈　吟. 遗传性视网膜疾病腺相关病毒载体基因治疗新进展[J]. 中华眼底病杂志, 2020, **36**(3): 242-248.

[20] MERCAU M E, AKALU Y T, MAZZONI F, *et al*. Inflammation of the retinal pigment epithelium drives early-onset photoreceptor degeneration in *MERTK*-associated retinitis pigmentosa [J]. *Sci Adv*, 2023, **9**(3): eade9459.

[21] GHAZI N G, ABBOUD E B, NOWILATY S R, *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 [J]. *Hum Genet*, 2016,

135(3): 327-343.

[22] HERNÁNDEZ-JUÁREZ J, RODRíGUEZ-URIBE G, BOROOAH S. Toward the treatment of inherited diseases of the retina using CRISPR-based gene editing [J]. *Front Med* (Lausanne), 2021, **8**: 698521.

[23] SUZUKI K, TSUNEKAWA Y, HERNANDEZ-BENITEZ R, *et al*. *In vivo* genome editing via CRISPR/Cas9 mediated homology-independent targeted integration [J]. *Nature*, 2016, **540**(7631): 144-149.

[24] DE SILVA S R, ARNO G, ROBSON A G, *et al*. The X-linked retinopathies: physiological insights, pathogenic mechanisms, phenotypic features and novel therapies [J]. *Prog Retinal Eye Res*, 2021, **82**: 100898.

[25] CEHAJIC-KAPETANOVIC J, XUE K, 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* [J]. *Nat Med*, 2020, **26**(3): 354-359.

[26] MARTINEZ VELAZQUEZ L A, BALLIOS B G. The next generation of molecular and cellular therapeutics for inherited retinal disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(21): 11542.

[27] WU Y D, WAN X L, ZHAO D D, *et al*. AAV-mediated base-editing therapy ameliorates the disease phenotypes in a mouse model of retinitis pigmentosa [J]. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 4923.

[28] KISER P D. Retinal pigment epithelium 65 kDa protein(RPE65): an update [J]. *Prog Retinal Eye Res*, 2022, **88**: 101013.

[29] PANG J J, CHANG B, HAWES N L, *et al*. Retinal degeneration 12(rd12): a new, spontaneously arising mouse model for human Leber congenital amaurosis(LCA) [J]. *Mol Vis*, 2005, **11**(17): 152-162.

[30] LAI C M, YU M J, BRANKOV M, *et al*. Recombinant adeno-associated virus type 2-mediated gene delivery into the *Rpe65*$^{-/-}$ knockout mouse eye results in limited rescue [J]. *Genet Vaccines Ther*, 2004, **2**(1): 3.

[31] ACLAND G M, AGUIRRE G D, BENNETT J, *et al*. Long-term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness [J]. *Mol Ther*, 2005, **12**(6): 1072-1082.

[32] WELEBER R G, PENNESI M E, WILSON D J, *et al*. Results at 2 years after gene therapy for RPE65-deficient Leber congenital amaurosis and severe early-childhood-onset retinal dystrophy [J]. *Ophthalmology*, 2016, **123**(7): 1606-1620.

[33] PENNESI M E, WELEBER R G, YANG P, *et al*. Results at 5 years after gene therapy for RPE65-deficient retinal dystrophy [J]. *Hum Gene Ther*, 2018, **29**(12): 1428-1437.

[34] JO D H, SONG D W, CHO C S, *et al*. CRISPR-Cas9-mediated therapeutic editing of *Rpe65* ameliorates the disease phenotypes in a mouse model of Leber congenital amaurosis [J]. *Sci Adv*, 2019, **5**(10): eaax1210.

[35] MAEDER M L, STEFANIDAKIS M, WILSON C J, *et al*. Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10 [J]. *Nat Med*, 2019, **25**(2): 229-233.

[36] PHILIPPIDIS A. One small dose, one giant leap for CRISPR gene editing [J]. *Hum Gene Ther*, 2020, **31**(7/8): 402-404.

[37] LEON L M, ZHANG W, SAHU B, *et al*. A MiniCEP290 gene replacement therapy to treat CEP290-Leber congenital amaurosis(LCA10) [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2022, **63**(7): 3843.

[38] HEON E, ALABDULJALIL T, MCGUIGAN Ⅲ D B, *et al*. Visual function and central retinal structure in choroideremia [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2016, **57**(9): OCT377-OCT387.

[39] ABBOUDA A, AVOGARO F, MOOSAJEE M, *et al*. Update on gene therapy clinical trials for choroideremia and potential experimental therapies [J]. *Medicina* (Kaunas), 2021, **57**(1): 64.

[40] CWERMAN-THIBAULT H, AUGUSTIN S, ELLOUZE S, *et al*. Gene therapy for mitochondrial diseases: Leber hereditary optic neuropathy as the first candidate for a clinical trial [J]. *C R Biol*, 2014, **337**(3): 193-206.

[41] ARTIKA I M. Allotopic expression of mitochondrial genes: basic strategy and progress [J]. *Genes Dis*, 2020, **7**(4): 578-584.

[42] BONNET C, KALTIMBACHER V, ELLOUZE S, *et al*. Allotopic mRNA localization to the mitochondrial surface rescues respiratory chain defects in fibroblasts harboring mitochondrial DNA mutations affecting complex Ⅰ or Ⅴ subunits [J]. *Rejuvenation Res*, 2007, **10**(2): 127-144.

[43] GUY J, QI X P, KOILKONDA R D, *et al*. Efficiency and safety of AAV-mediated gene delivery of the human ND4 complex I subunit in the mouse visual system [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2009, **50**(9): 4205-4214.

[44] KOILKONDA R, YU H, TALLA V, *et al*. LHON gene therapy vector prevents visual loss and optic neuropathy induced by G11778A mutant mitochondrial DNA: biodistribution and toxicology profile [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2014, **55**(12): 7739-7753.

[45] LAM B L, FEUER W J, DAVIS J L, *et al*. Leber hereditary optic neuropathy gene therapy: adverse events and visual acuity results of all patient groups [J]. *Am J Ophthalmol*, 2022, **241**: 262-271.

[46] THOMASSON N, GALY A, FITOUSSI S, *et al*. Relevance of NHP safety studies for ocular delivery of AAV-based gene therapy in humans: example of GS010 (rAAV2/2-*ND4*) local tolerability, shedding and immunogenicity for the treatment of Leber hereditary optic neuropathy (LHON), after intravitreal (IVT) injection in non-human primates (NHP) and in LHON patients [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2015, **56**(7): 1087.

[47] YUAN J J, ZHANG Y, LIU H L, *et al*. Seven-year follow-up of gene therapy for Leber's hereditary optic neuropathy [J]. *Ophthalmology*, 2020, **127**(8): 1125-1127.

[48] AURICCHIO A, KOBINGER G, ANAND V, *et al*. Exchange of surface proteins impacts on viral vector cellular specificity and transduction characteristics: the retina as a model [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, **10**(26): 3075-3081.

[49] LEBHERZ C, MAGUIRE A, TANG W X, *et al*. Novel AAV serotypes for improved ocular gene transfer [J]. *J Gene Med*, 2008, **10**(4): 375-382.

[50] MACLAREN R E, GROPPE M, BARNARD A R, *et al*. Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial [J]. *The Lancet*, 2014, **383**(9923): 1129-1137.

[51] BAINBRIDGE J W B, MEHAT M S, SUNDARAM V, *et al*. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis [J]. *N Engl J Med*, 2015, **372**(20): 1887-1897.

[52] TESTA F, MAGUIRE A M, ROSSI S, *et al*. Three-year follow-up after unilateral subretinal delivery of adeno-associated virus in patients with Leber congenital Amaurosis type 2 [J]. *Ophthalmology*, 2013, **120**(6): 1283-1291.

[53] HINDERER C, KATZ N, BUZA E L, *et al*. Severe toxicity in nonhuman primates and piglets following high-dose intravenous administration of an adeno-associated virus vector expressing human SMN [J]. *Hum Gene Ther*, 2018, **29**(3): 285-298.

[54] NGUYEN G N, EVERETT J K, KAFLE S, *et al*. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2021, **39**(1): 47-55.