



基因治疗视网膜色素变性的机遇与挑战

罗学廷^{1,2,3}, 刘洋¹, 汪枫桦^{1,3,4,5*}, 孙晓东^{1,2,3,4,5}

1. 上海市第一人民医院, 上海 200080;
2. 上海市眼底病重点实验室, 上海 200080;
3. 上海眼视觉与光医学工程技术研究中心, 上海 200080;
4. 国家眼部疾病临床医学研究中心, 上海 200080;
5. 上海市眼科疾病精准诊疗工程技术研究中心, 上海 200080

* 联系人, E-mail: shretina@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2021-08-14; 接受日期: 2021-10-23; 网络版发表日期: 2022-01-19

“重大新药创制”科技重大专项课题(批准号: 2019ZX09301113)、上海交通大学医学院多中心临床研究项目(批准号: DLY201813)和上海交通大学医学院转化医学协同创新中心合作研究项目(批准号: TM201917)资助

摘要 原发性视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是发病机制尚未完全明确的视网膜退行性病变, 以夜盲、进行性视野缩窄和视力下降为主要临床特征。目前发现单基因缺陷是RP的主要病因, 已知有超过90个基因与RP发病相关, 但临床缺乏有效干预措施。近年来基因治疗技术取得突破, 为RP治疗带来了曙光。然而, 基因治疗仍有许多尚未解决的科学问题和亟待突破的技术瓶颈。需要结合自然病程研究, 科学、精准地开展针对不同遗传类型RP的基因治疗。

关键词 视网膜色素变性, 基因治疗, 研究进展

原发性视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一组以进行性视杆和视锥细胞退行性病变为特征的遗传性视网膜疾病, 发病率约为1/4000^[1], 全世界约有150万以上的患者^[2], 是最常见的遗传性视网膜退行性病变(inherited retinal dystrophy, IRD)^[3], 目前临床缺乏有效的治疗方法。口服维生素A、维生素E、DHA或神经保护因子可延缓感光细胞死亡从而延缓疾病进程, 但临床试验结果对这些药物的具体疗效仍有争议。近年来, 基因治疗、细胞移植以及视网膜假体等新一代技术渐趋成熟, 分别通过了不同阶段的临床前和临床研究。其中, 基因治疗不仅已经成功上市一项产品, 在

其他基因缺陷疾病中, 也表现出巨大的治疗潜力, 甚至为患者带来“治愈”的希望^[4]。同时, 基因治疗也为人们带来了巨大挑战, 包括对疾病本身的医学认识、对基因替代和新型基因编辑方法的技术需求以及基因制剂的临床转化等, 都制约了基因治疗在RP以及其他单基因遗传病中的应用。

1 RP的临床和遗传异质性制约了基因治疗应用

基因治疗通过病毒载体导入外源性基因以修复眼

引用格式: 罗学廷, 刘洋, 汪枫桦, 等. 基因治疗视网膜色素变性的机遇与挑战. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1015–1022

Luo X T, Liu Y, Wang F H, et al. Opportunities and challenges of gene therapy for retinitis pigmentosa (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 1015–1022, doi: 10.1360/SSV-2020-0012

部组织功能,是极具发展前景的新型治疗策略^[1,5],特别是针对*RPE65*基因突变导致的先天性黑矇症(Leber's congenital amaurosis, LCA)开发的Luxturna(Spark Therapeutics)作为全球首个眼部基因治疗药物,于2017年12月获得美国食品和药物监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市,被视为基因治疗领域的突破性里程碑。但是,由于基因的多样性,该药物仅可覆盖不到1%的RP患者,针对其他致病基因的药物研发依然任重道远。

RP具有显著遗传异质性,目前已知有至少90个致病基因。有研究显示,RP病变程度和病程特点与遗传方式有关,其中X染色体连锁遗传(X-linked RP, XLRP, 约占5%~15%)临床表现较常染色体隐性遗传(autosomal-recessive RP, ARRP, 约占50%~60%)更为严重,而常染色体显性遗传(autosomal-dominant RP, ADRP, 约占30%~40%)多数中心视力可长时间保留,预后相对较好^[2,6]。约有20%~30%患者合并除眼部症状以外的全身其他症状,被称为综合征型RP(syndromic retinitis pigmentosa, SRP)。实际上,随着对RP致病基因和遗传特征了解深入,可以将RP视为一组不同基因缺陷导致的视网膜退行性疾病。要覆盖众多致病基因,按照现有的基因治疗药物研发途径和速度,即使仅针对非综合征

型RP,耗时也可能长达数10年甚至更久。

同时,RP临床表现具有很大异质性(图1和2),典型症状为由于视杆细胞先受累引起的夜盲,进行性视野缩窄,进而发展为中央视力下降。眼底表现为不同程度的视乳头颜色蜡黄、视网膜血管狭窄和骨细胞样色素散布三联征,但是也有部分患者视锥细胞同时或先受累,表现为畏光、色觉障碍以及中心视力受损等典型视锥细胞营养不良症状。由于两者临床表现完全不同,有学者认为应当将它们视为两种疾病。临床表现的差异使RP的早期诊断相当困难,尤其是对那些缺乏家族史的散发患者,必须排除其他有相似表现的视网膜疾病;同时,临床异质性为治疗带来了另一个挑战,那就是干预策略:基因治疗通过修复致病基因阻断病程,但是即使同一个致病基因引起的RP,其病程和临床表型的差异也可能很大。如何选择合适的患者、合适的时间点进行干预才能有效阻断病程进展,从而使患者保持有用视力,需要更多的研究。

2 眼睛是基因治疗研发的重点靶器官

眼睛是最适合进行基因治疗的靶器官之一。首先,作为免疫豁免器官,外源性抗原的引入通常不会引起

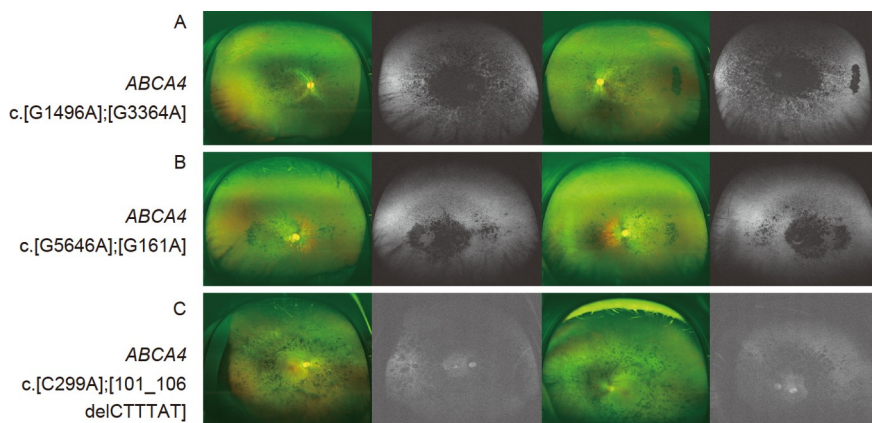


图1 3名*ABCA4*基因突变RP患者的广角眼底照相和自发荧光图像。*ABCA4*基因不同位点突变引起的RP可能具有不同的临床表型。A: 后极部至中周部视网膜RPE(retinal pigment epithelium)改变及大量骨细胞样色素沉着,自发荧光显示相应区域大片低荧光病灶;B: 骨细胞样色素沉着于后极部视网膜,相应区域低自发荧光;C: 后极部视网膜得以保留,中周部视网膜大量骨细胞样色素沉着及低自发荧光

Figure 1 Widefield fundus photographs and autofluorescence images of 3 RP patients with *ABCA4* gene mutation. RP caused by mutations at different sites of *ABCA4* gene may have different clinical phenotypes. A: Retinal pigment epithelium (RPE) changes and a large area of bone-spicule pigmentation were observed from the posterior pole to the mid peripheral retina, autofluorescence showed a large area of low-fluorescence lesions in the corresponding area; B: bone-spicule pigmentation was presented in the posterior pole, with low autofluorescence in the corresponding area; C: the retina in the posterior pole was preserved, and a large amount of bone-spicule pigmentation and low autofluorescence in the mid peripheral retina was presented

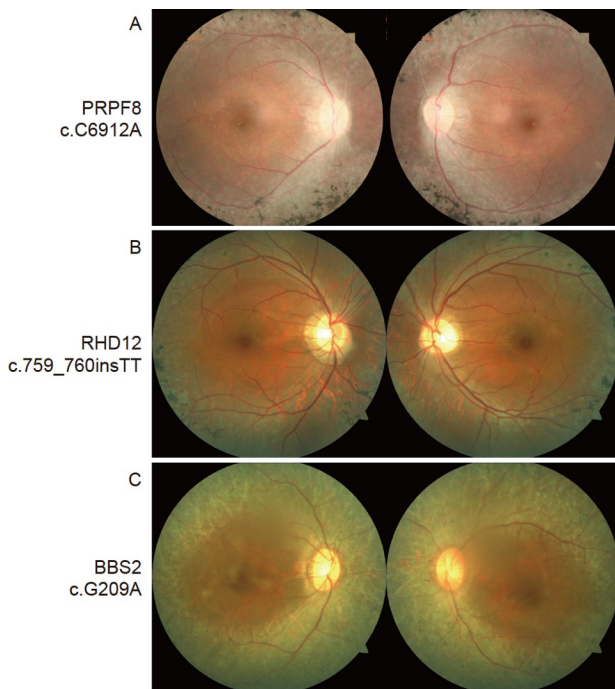


图 2 3名RP患者的眼底照相检查图像。不同基因突变引起的RP可能具有相似的眼底表现和临床表型。A~C: 3名患者眼底均表现为黄斑区外后极部视网膜青灰伴骨细胞样色素沉着, 视网膜血管变细, 而突变基因并不相同

Figure 2 Fundus photographs of 3 RP patients. RP caused by different gene mutations may have similar fundus performance and clinical phenotype. A~C: The fundus of the three patients all showed a grayish retinal sheen, bone-spicule pigmentation in the posterior pole around the macular area, and arteriolar attenuation. However, the causative genes are not the same

严重的免疫炎症反应^[7]; 其次, 视网膜病毒用量小, 并且血眼屏障的存在降低了病毒载体引起全身不良反应的风险^[7,8]; 最后, 由于视网膜细胞是高度分化细胞, 应用非整合病毒载体即可实现持续的基因表达^[9]。基因治疗常用的病毒载体包括慢病毒、腺病毒、腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)等。AAV是一类单链DNA缺陷型病毒, 目前天然存在的AAV已分离出13种血清型(AAV1~AAV13), 不同血清型AAV靶向不同的视网膜细胞, 例如视网膜下注射AAV2可高效率转染视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE), 而AAV5特异性转染感光细胞。此外, 为了提高特定细胞靶向性以及转导效率, 研究者通过对AAV进行修饰合成了多种AAV假型载体^[10,11]。AAV具有安全性好、嗜性广泛、免疫原性低、在体内表达外源基因时间长等特点, 在基因治疗中具有最广泛的应用^[12]。目前, AAV载体已应用于170项临床研究中(<https://clinicaltrials.gov/>)。然而AAV载体容量小, 目前最多只能容纳4.7 kb外源DNA片段。相比之下, 慢病毒(lentivirus, LV)载体具有更大的容量(8 kb)。慢病毒载体是来源于人类免疫缺陷病毒-1(human immunodeficiency virus 1, HIV-1)的一种病毒载体, 可整合入宿主基因组, 但同时宿主细胞基因突变风险也随之增加^[8]。目前眼部疾病基因治疗药物临床试验中, 36项应用AAV载体, 5项应用LV载体^[13]。

尽管眼部是相对免疫豁免区域, 但仍有研究在接受基因治疗的患者眼内观察到了不同程度的炎症反应^[14-16], 这些炎症反应经过治疗后均得以控制。

3 基于我国患者遗传特点开展基因治疗

RP的遗传异质性为疾病诊断和基因治疗带来了挑战。因此, 分析RP突变基因谱, 明确热点突变基因对于RP的早期快速诊断具有重要意义。研究表明, 不同种族RP患者基因突变谱存在显著差异。Xu等人^[17]对157个RP家系进行分析, 检出的突变位点中74%为新位点突变; Yang等人^[18]分析了34个RP家系后发现, 69%的突变位点无相关报道, 而在LCA或早发性RP中这一比例为62.5%^[19]。对我国179个RP家系进行分析后发现, 最常见的3个突变基因为USH2A, EYS和CRB1^[20]。最近的一项观察研究分析了我国1243名RP患者的突变基因^[21], 发现我国患者18%的病例由USH2A基因突变引起, 该基因是最常见的突变基因。15%的病例由CYP4V2基因突变引起, 该基因突变在白种人中较少, 而在东亚人群尤其是中国人群中较为常见, 突变基因频率约为0.05^[22]。17种热点突变基因约占全部突变基因的76%。因此, 总结我国患者热点突变并对这些基因进行筛查可能是早期诊断的快速简易的基因检测手段。

作为目前基因治疗研究的热点, RPGR突变在欧洲和北美人群中约占XLRP的85%~90%, 而XLRP约占RP病例的10%~15%^[23]。而在我国人群的研究中, RPGR突变患者仅占4%。因此, RPGR相关的基因治疗研究可能无法惠及较多患者。相反, 我国患者中最常见的CYP4V2基因突变尚无基因治疗研究开展。因此, 国外基因治疗研发重点基因治疗可能不适合我国患者。针对我国RP患者的基因治疗需要国内研究者基于我国特有的基因突变谱自主研发, 从而使更多患者获益。

4 RP基因治疗现状

4.1 ar-RP基因治疗

*RPE65*基因突变导致的LCA或早发性RP的基因治疗在近年取得突破, 商业化产品Luxturna于2017年12月获美国FDA批准上市, 为RP临床治疗带来了曙光。多个临床试验评估了单次视网膜下注射AAV-hRPE65的安全性、耐受性及有效性, 其中儿童受试者视力提高最为显著, 提示早期治疗可获得更佳视力预后^[24] (NCT00516477)。在已经结束的三期临床试验中 (NCT00999609), 患者接受治疗一年后, 视力平均提高9个字母, 视网膜敏感度明显改善^[25]。*RPE65*基因治疗的研发突破了RP的治疗瓶颈, 为RP的临床治疗开启了新篇章。目前针对其他基因突变的基因治疗也取得了巨大的进步。大部分已开展的基因治疗是导入功能正常的基因(包括*RLBP1*, *CNGBI*, *MERTK*等), 从而恢复缺陷基因编码蛋白的正常表达。研究显示, *Rlbp1*^{-/-}小鼠视网膜下注射scAAV8-*RLBP1*(CPK850)可使小鼠视网膜电图(electroretinography, ERG)暗反应和视锥细胞反应得到显著改善^[26]。非人灵长类动物网膜下注射也可检测到视网膜*RLBP1* mRNA表达。目前正在进行非随机、剂量递增、单眼视网膜下注射的I/II期临床研究(NCT03374657), 相关结果尚无报道。类似地, 在*CNGBI*^{-/-}小鼠和RCS大鼠(*MERTK*基因突变)视网膜下注射重组AAV载体, 均实现了野生型蛋白的表达和视网膜功能的部分恢复^[27,28]。目前, 沙特阿拉伯费萨尔国王眼科医院正在开展首个*MERTK*基因突变RP患者视网膜下注射rAAV2-VMD2-hMERTK的I期临床试验(NCT01482195), 并检测其安全性和初步有效性。

然而, 一些较大的基因无法直接装载到AAV中, 如*USH2A*基因等。由于*USH2A*基因长度远超过AAV或慢病毒可包装范围, 其基因治疗主要采用基于反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, AOs)的治疗策略^[29,30]。ProQR Therapeutics开发了针对*USH2A*外显子13突变的反义寡核苷酸QR-421a, 通过玻璃体腔注射靶向*USH2A* mRNA并实现外显子13跳读, 产生截短但有功能的usherin蛋白, 目前正在进行I/II期临床试验(NCT03780257)。此外, 针对PE40突变(c.7595-2144A>G)的反义寡核苷酸QR-411正处于研发阶段。

采用类似的策略, ProQR Therapeutics开发了针对CEP290 IVS26突变(c.2991+1655A>G)的反义寡核苷

酸QR-110。I/II期临床研究显示, 12位患者中的10位在治疗后3个月视力具有显著提高, 一名患者视力从光感提高到20/400^[31] (NCT03140969)。目前ProQR Therapeutics正在开展QR-110的II/III期临床试验(NCT03913143)。

4.2 XI-RP基因治疗

约70%的XLRP由*RPGR*基因突变引起^[32,33]。*RPGR*突变相关XLRP是RP最严重的形式之一, 表现为早期出现的夜盲和迅速进展的周边视野缺失, 大多数患者中年时期几乎失明。

*RPGR*引起RP的发病机制尚不明确, 普遍认为*RPGR*突变引起的连接纤毛蛋白运输障碍是感光细胞退变的主要原因^[34]。约60%的*RPGR*突变发生在3'端的ORF15, 即外显子15并延伸到内含子15^[35]。由于该段序列富含嘌呤碱基, 稳定性差, 并且*RPGR*蛋白转录后修饰复杂, 易形成错误剪切, Fischer等人^[36]设计了优化的*RPGR*^{ORF15}序列(codon-optimized *RPGR*^{ORF15}, *coRPGR*^{ORF15})。细胞实验显示, 该优化序列较WT *RPGR*具有更高的稳定性和表达水平。视网膜下注射rAAV8.co*RPGR*^{ORF15}在敲除鼠模型中有效恢复了*RPGR*的表达和感光细胞的功能。基于以上研究, NightstaRx开展了该重组病毒载体的多中心临床研究, 目前已进入II/III期剂量扩展研究阶段(NCT03116113)。

另外两项正在进行的临床试验包括: MeiraGTx UK Ltd开展的AAV2/5.hRKp.*RPGR*临床试验(NCT03252847), 以及AGTC开展的rAAV2tYFGRK1-*RPGR*临床试验(NCT03316560)^[37]。两项研究均处于I/II期开放标签剂量递增研究阶段^[38]。

4.3 ad-RP基因治疗

ar-RP和XI-RP通常导致蛋白功能缺失、产生低活性或无功能蛋白, 因此基因增补策略可以有效减轻疾病症状^[39]。而在ad-RP中, 突变基因编码蛋白的毒性效应可能难以通过简单补充正常蛋白来去除(显性负效应), 因此在基因治疗中需要首先将突变基因抑制, 而后导入WT基因^[40,41]。基于这种策略, Chadderton等人^[42-44]应用AAV载体携带*RHO*靶向RNAi(RNA interference)在多个人源化*RHO*突变小鼠模型中进行了ADRP的基因治疗尝试。结果显示, 由于小鼠模型携带

的人源*RHO*突变等位基因被抑制,小鼠源WT *RHO*等位基因编码蛋白得以发挥正常功能,从而实现了形态学和功能学的改善.基于上述思路,ProQR Therapeutics开发了针对P23H突变的反义寡核苷酸QR-1123,选择性减少P23H突变蛋白,而保留正常*RHO*表达,目前正在进行多中心随机三盲的 I / II 期临床试验(NCT04123626).

5 基因编辑技术

由于基因增补策略仅适用于单倍体不足或无功能突变,且AAV或慢病毒等载体包装片段长度有限,目前尚无法解决显性致病突变、大基因突变、非编码序列突变等问题.近年来,基于CRISPR/Cas9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-associated protein 9)系统的基因编辑技术日新月异^[45-48],该系统中的sgRNA(small guide RNA)包含靶向导航序列,可将Cas9核酸酶引导至目标DNA片段.Maeder等人^[49]利用基因编辑技术进行了RP治疗的尝试,开发了高度靶向人CEP290序列的sgRNA,研发了针对IVS26突变的CRISPR/Cas9基因编辑器EDIT-101.该编辑器中的两个sgRNA分别识别IVS26突变两端的特定序列,而后经过Cas9核酸酶的剪切,实现突变位点的切除.小鼠视网膜下注射EDIT-101最高可达到60.8%的视网膜编辑效率(3×10^{12} vg/mL).目前Allergan正在进行非随机、开放标签、剂量递增的 I / II 期临床试验(NCT03872479).

运用基因工程技术,对CRISPR系统进行改造和功能定向升级,可使其在基因修复领域表现出广阔的应

用前景.最近,David Liu团队^[50]通过改造sgRNA,并将Cas9切口酶与逆转录酶融合,开发出新型基因编辑工具PE(Prime Editors),这一全能性的工具可实现所有12种单碱基的自由转换,为基因编辑领域带来了重大变革.然而基因编辑技术相关安全问题同样值得关注,包括基因组范围内的脱靶效应^[51]、Cas9蛋白的免疫反应^[52,53]、p53抑癌基因的激活等^[54].因此,改善递送方式,适当降低免疫反应或抑制凋亡通路对于未来基因编辑技术的临床应用具有重要意义.

6 总结

RP是最常见的遗传性致盲性眼病之一,目前尚无有效的治疗方法,近年来基因治疗的迅猛发展为RP患者带来了希望.对于由较小基因突变导致的ARRP和XLRP,采用AAV等基因载体介导的基因增补策略通常可以补充正常基因,替代无功能的突变基因,因此可能成为此类RP的首选治疗方案.而针对ADRP,目前的研究主要以沉默突变基因及导入正常基因的干扰RNA疗法为主,首个相关临床研究已于2019年正式开展,但该疗法可能导致致病基因的未突变编码链同时被抑制,其疗效有待进一步观察研究.近年来,基因编辑技术的发展为不适于AAV载体基因治疗的大基因突变所致RP及ADRP的治疗提供了新的思路,利用CRISPR-Cas9系统或RNA编辑技术对突变基因进行修正可能成为未来基因治疗的新方向.为了实现精准医疗,未来我国基因治疗的尝试和推进应更多地以我国RP患者突变基因谱为导向进行研究,同时重视技术与产业化、临床密切结合,加快研发进度,从而惠及更多患者.

参考文献

- Hartong D T, Berson E L, Dryja T P. Retinitis pigmentosa. *Lancet*, 2006, 368: 1795-1809
- Verbakel S K, van Huet R A C, Boon C J F, et al. Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Prog Retin Eye Res*, 2018, 66: 157-186
- Pagon R A. Retinitis pigmentosa. *Surv Ophthalmol*, 1988, 33: 137-177
- Dias M F, Joo K, Kemp J A, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives. *Prog Retin Eye Res*, 2018, 63: 107-131
- Thompson D A, Ali R R, Banin E, et al. Advancing therapeutic strategies for inherited retinal degeneration: recommendations from the Monaciano Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56: 918-931
- Bunker C H, Berson E L, Bromley W C, et al. Prevalence of retinitis pigmentosa in Maine. *Am J Ophthalmol*, 1984, 97: 357-365
- Gupta P R, Huckfeldt R M. Gene therapy for inherited retinal degenerations: initial successes and future challenges. *J Neural Eng*, 2017, 14: 051002

- 8 Öner A. Recent advancements in gene therapy for hereditary retinal dystrophies. [Turk J Ophthalmol](#), 2017, 47: 338–343
- 9 Patricio M I, Barnard A R, Orlans H O, et al. Inclusion of the woodchuck hepatitis virus posttranscriptional regulatory element enhances AAV2-driven transduction of mouse and human retina. [Mol Ther Nucleic Acids](#), 2017, 6: 198–208
- 10 Vandenbergh L H, Bell P, Maguire A M, et al. AAV9 targets cone photoreceptors in the nonhuman primate retina. [PLoS ONE](#), 2013, 8: e53463
- 11 Mak K Y, Rajapaksha I G, Angus P W, et al. The adeno-associated virus—A safe and promising vehicle for liverspecific gene therapy of inherited and non-inherited disorders. [Curr Gene Ther](#), 2017, 17: 4–16
- 12 Ong T, Pennesi M E, Birch D G, et al. Adeno-associated viral gene therapy for inherited retinal disease. [Pharm Res](#), 2019, 36: 34
- 13 Auricchio A, Smith A J, Ali R R. The future looks brighter after 25 years of retinal gene therapy. [Hum Gene Ther](#), 2017, 28: 982–987
- 14 Bainbridge J W B, Mehat M S, Sundaram V, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber’s congenital amaurosis. [N Engl J Med](#), 2015, 372: 1887–1897
- 15 MacLachlan T K, Milton M N, Turner O, et al. Nonclinical safety evaluation of scAAV8-*RLBP1* for treatment of *RLBP1* retinitis pigmentosa. [Mol Ther Methods Clin Dev](#), 2018, 8: 105–120
- 16 Cukras C, Wiley H E, Jeffrey B G, et al. Retinal AAV8-RS1 gene therapy for X-linked retinoschisis: initial findings from a phase I/IIa trial by intravitreal delivery. [Mol Ther](#), 2018, 26: 2282–2294
- 17 Xu Y, Guan L, Shen T, et al. Mutations of 60 known causative genes in 157 families with retinitis pigmentosa based on exome sequencing. [Hum Genet](#), 2014, 133: 1255–1271
- 18 Yang L, Cui H, Yin X, et al. Dependable and efficient clinical molecular diagnosis of chinese RP patient with targeted exon sequencing. [PLoS ONE](#), 2015, 10: e0140684
- 19 Wang X, Wang H, Sun V, et al. Comprehensive molecular diagnosis of 179 Leber congenital amaurosis and juvenile retinitis pigmentosa patients by targeted next generation sequencing. [J Med Genet](#), 2013, 50: 674–688
- 20 Huang X F, Huang F, Wu K C, et al. Genotype-phenotype correlation and mutation spectrum in a large cohort of patients with inherited retinal dystrophy revealed by next-generation sequencing. [Genet Med](#), 2015, 17: 271–278
- 21 Gao F J, Li J K, Chen H, et al. Genetic and clinical findings in a large cohort of Chinese patients with suspected retinitis pigmentosa. [Ophthalmology](#), 2019, 126: 1549–1556
- 22 Zhang X, Xu K, Dong B, et al. Comprehensive screening of *CYP4V2* in a cohort of Chinese patients with bietti crystalline dystrophy. [Mol Vis](#), 2018, 24: 700–711
- 23 Prokisch H, Hartig M, Hellinger R, et al. A population-based epidemiological and genetic study of X-linked retinitis pigmentosa. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2007, 48: 4012–4018
- 24 Maguire A M, High K A, Auricchio A, et al. Age-dependent effects of *RPE65* gene therapy for Leber’s congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. [Lancet](#), 2009, 374: 1597–1605
- 25 Russell S, Bennett J, Wellman J A, 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: 849–860
- 26 Choi V W, Bigelow C E, McGee T L, et al. AAV-mediated *RLBP1* gene therapy improves the rate of dark adaptation in *Rlbpl* knockout mice. [Mol Ther Methods Clin Dev](#), 2015, 2: 15022
- 27 Conlon T J, Deng W T, Erger K, et al. Preclinical potency and safety studies of an AAV2-mediated gene therapy vector for the treatment of *MERTK* associated retinitis pigmentosa. [Hum Gene Ther Clin Dev](#), 2013, 24: 23–28
- 28 Petersen-Jones S M, Occelli L M, Winkler P A, et al. Patients and animal models of CNGβ1-deficient retinitis pigmentosa support gene augmentation approach. [J Clin Invest](#), 2018, 128: 190–206
- 29 Pierrache L H M, Hartel B P, van Wijk E, et al. Visual prognosis in *USH2A*-associated retinitis pigmentosa is worse for patients with usher syndrome type IIa than for those with nonsyndromic retinitis pigmentosa. [Ophthalmology](#), 2016, 123: 1151–1160
- 30 Vaché C, Besnard T, le Berre P, et al. Usher syndrome type 2 caused by activation of an *USH2A* pseudoexon: implications for diagnosis and therapy. [Hum Mutat](#), 2012, 33: 104–108
- 31 Cideciyan A V, Jacobson S G, Drack A V, et al. Effect of an intravitreal antisense oligonucleotide on vision in Leber congenital amaurosis due to a photoreceptor cilium defect. [Nat Med](#), 2019, 25: 225–228
- 32 Bird A C. X-linked retinitis pigmentosa. [Br J Ophthalmol](#), 1975, 59: 177–199
- 33 Vervoort R, Lennon A, Bird A C, et al. Mutational hot spot within a new *RPGR* exon in X-linked retinitis pigmentosa. [Nat Genet](#), 2000, 25: 462–

466

- 34 Khanna H, Hurd T W, Lillo C, et al. RPGR-ORF15, which is mutated in retinitis pigmentosa, associates with SMC1, SMC3, and microtubule transport proteins. *J Biol Chem*, 2005, 280: 33580–33587
- 35 Megaw R D, Soares D C, Wright A F. RPGR: Its role in photoreceptor physiology, human disease, and future therapies. *Exp Eye Res*, 2015, 138: 32–41
- 36 Fischer M D, McClements M E, Martinez-Fernandez de la Camara C, 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: 1854–1865
- 37 Beltran W A, Cideciyan A V, Lewin A S, et al. Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 2132–2137
- 38 Martinez-Fernandez De La Camara C, Nanda A, Salvetti A P, et al. Gene therapy for the treatment of X-linked retinitis pigmentosa. *Expert Opin Orphan Drugs*, 2018, 6: 167–177
- 39 Dalkara D, Sahel J A. Gene therapy for inherited retinal degenerations. *C R Biol*, 2014, 337: 185–192
- 40 Petrs-Silva H, Linden R. Advances in gene therapy technologies to treat retinitis pigmentosa. *Clin Ophthalmol*, 2013, 8: 127–136
- 41 Rossmiller B, Mao H, Lewin A S. Gene therapy in animal models of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Vis*, 2012, 18: 2479–2496
- 42 Chadderton N, Millington-Ward S, Palfi A, et al. Improved retinal function in a mouse model of dominant retinitis pigmentosa following AAV-delivered gene therapy. *Mol Ther*, 2009, 17: 593–599
- 43 O'Reilly M, Palfi A, Chadderton N, et al. RNA interference-mediated suppression and replacement of human rhodopsin *in vivo*. *Am J Hum Genet*, 2007, 81: 127–135
- 44 Millington-Ward S, Chadderton N, O'Reilly M, et al. Suppression and replacement gene therapy for autosomal dominant disease in a murine model of dominant retinitis pigmentosa. *Mol Ther*, 2011, 19: 642–649
- 45 Cong L, Ran F A, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 2013, 339: 819–823
- 46 Mali P, Yang L, Esvelt K M, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*, 2013, 339: 823–826
- 47 Benati D, Patrizi C, Recchia A. Gene editing prospects for treating inherited retinal diseases. *J Med Genet*, 2020, 57: 437–444
- 48 Zhang X H, Wang L R, Liu M Y, et al. CRISPR/Cas9 system: a powerful technology for *in vivo* and *ex vivo* gene therapy. *Sci Sin Vitae*, 2017, 47: 1151–1158 [张晓辉, 王立人, 刘明耀, 等. CRISPR/Cas9系统: 一种强大的在体基因治疗工具. 中国科学: 生命科学. 2017, 47: 1151–1158]
- 49 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. *Nat Med*, 2019, 25: 229–233
- 50 Anzalone A V, Randolph P B, Davis J R, et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*, 2019, 576: 149–157
- 51 Tsai S Q, Zheng Z, Nguyen N T, et al. GUIDE-seq enables genome-wide profiling of off-target cleavage by CRISPR-Cas nucleases. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 187–197
- 52 Wagner D L, Amini L, Wendering D J, et al. High prevalence of Streptococcus pyogenes Cas9-reactive T cells within the adult human population. *Nat Med*, 2019, 25: 242–248
- 53 Ferdosi S R, Ewaisha R, Moghadam F, et al. Multifunctional CRISPR-Cas9 with engineered immunosilenced human T cell epitopes. *Nat Commun*, 2019, 10: 1842
- 54 Haapaniemi E, Botla S, Persson J, et al. CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. *Nat Med*, 2018, 24: 927–930

Opportunities and challenges of gene therapy for retinitis pigmentosa

LUO XueTing^{1,2,3}, LIU Yang¹, WANG FengHua^{1,3,4,5} & SUN XiaoDong^{1,2,3,4,5}

1 Shanghai General Hospital, Shanghai 200080, China;

2 Shanghai Key Laboratory of Ocular Fundus Diseases, Shanghai 200080, China;

3 Shanghai Engineering Center for Visual Science and Photomedicine, Shanghai 200080, China;

4 National Clinical Research Center for Eye Diseases, Shanghai 200080, China;

5 Shanghai Engineering Center for Precise Diagnosis and Treatment of Eye Diseases, Shanghai 200080, China

Retinitis pigmentosa (RP) is a degenerative retinal disease and the pathogenesis has not been fully defined. The main clinical features include night blindness, progressive visual field narrowing, and vision loss. At present, it is believed that single gene defects are the main cause of RP. There are more than 90 genes known to be related to the pathogenesis of RP, but there is currently no effective intervention in clinical practice. In recent years, the development of gene therapy has achieved breakthroughs, bringing dawn to RP treatment. However, there are still many unresolved scientific problems and technical bottlenecks that need to be broken through. It is necessary to take the research of natural disease course into consideration and carry out gene therapy for RP of different genetic types scientifically and accurately.

retinitis pigmentosa, gene therapy, research progress

doi: [10.1360/SSV-2020-0012](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0012)