

## 视网膜色素变性的治疗进展

赵成 游志鹏

**【摘要】** 视网膜色素变性 (RP) 是一种以视杆细胞和视锥细胞营养不良为特征的遗传性致盲性眼病。临床特点为夜盲, 视野缩小, 视网膜上出现骨细胞样色素沉着。发病率较高, 预后差。RP 是单基因遗传病, 病因主要与基因突变、视网膜色素上皮吞噬功能及免疫功能异常有关。到目前为止 RP 缺乏有效的治疗手段, 仍被 WHO 划归为不可治疗盲, 治疗仅限于延缓变性过程, 但国内外就该病的基因治疗、视网膜移植、人工恢复视觉、神经保护、抗凋亡治疗、药物治疗、营养治疗等方面已取得了一定的进展, 本文综述如下。

**【关键词】** 视网膜色素变性; 治疗; 进展

视网膜色素变性 (RP) 是感光细胞损失导致的遗传性视网膜营养障碍疾病, 起初症状是夜盲, 接着是白天周边视野的渐进性损失, 中心视力长期保持, 最终几十年后会导致失明。眼底检查可见视盘蜡样改变, 视网膜血管狭窄, 骨细胞样色素沉着, 伴不同程度的视网膜萎缩。本病为严重遗传病, 其类型包括: 常染色体显性 RP (ADRP)、常染色体隐性 RP (ARRP) 及性连锁隐性遗传 RP (XLRP)。目前对于限制疾病的进展和恢复视觉尚无特效疗法, 因此视力预后较差。治疗方式被限制于减慢变性过程。近些年, 国内外专家就 RP 的治疗已取得了一定的进展, 现综述如下。

### 基因治疗

适用于单基因疾病, RP 已获准人类基因转移试验。目的是把一段特定的 DNA 序列导入到病人特定的细胞中, 代替缺陷基因。外源基因必须有效地导入感光细胞而且在细胞中长期稳定表达。治疗途径有体内及体外两种。体内基因治疗最常用的“载体—基因”介入途径是视网膜下腔注射, 所用的载体分为病毒载体、非病毒载体两大类。前者包括: 腺病毒、腺相关病毒 (AAV)、单纯疱疹病毒、人类免疫缺陷病毒; 后者包括脂质体载体、阳离子聚合物型载体和生物高聚物—DNA 微球体<sup>[1]</sup>。体外基因治疗则是把经过转基因后的靶细胞移植到眼内, 使外源性基因的表达与视网膜移植手术联合应用。

1. 视紫红质 (RHO) 基因是最早发现的 RP 致病基因, 编码一个由 348 个氨基酸组成的视蛋白。该蛋白仅在视杆细胞中专一表达, 是感光细胞外段的主要结构蛋白, 可激发光级联反应, 使刺激信号放大并引起光感受器细胞超极化和突触释放神经递质。RHO 基因突变是某些 ADRP 的发病原因。核酶或 siRNA 可抑制突变基因的表达。Gorbatyuk 等使用 AAV 为载体介导的核酶, 以 RNA 替代方式, 达到对野生型大鼠 RHO 基因的抑制。锤头状核酶可被开发用于 RHO 基因突变导致的 ADRP 的“消化及替代”基因治疗<sup>[1]</sup>。

2. RP1 基因在光感受器的细胞连接、纤毛及微管内表达, 受视网膜内含氧量的调节。RP1 基因突变主要引起编码蛋白的密码提前终止, 或使得转录的 mRNA 分子不稳定, 最终导致蛋白翻译障碍, 使感受器变性。Liu 等发现在 RP1 突变导致的 ADRP 中, c-Jun 氨基端激酶 (JNK) 的信号级联放大关键成员的磷酸化有所降低, JNK 的信号级联放大对光感受器的发生和维持起重要作用。与 JNK 相关的治疗措施将对 RP1 突变引起的 ADRP 具有治疗价值<sup>[2]</sup>。

3. 视网膜色素变性 GTP 酶调节因子基因 (RPGR) 对于光感受器生存能力的维持是必须的, 是 XLRP 中最主要的致病基因。由于选择剪接, RPGR 被表达为 ORF15 变异体, RPGR-ORF15 在光感受器是有显著功能的变异体<sup>[3]</sup>。在保留其功能的基础上, 它的重复区域的长度可被减短, 以适合 AAV 携带的 RPGR 替换基因。单个缩短的 RPGR-ORF15 变异体能在体内重建 RPGR 的功能。这将使 RPGR 无效突变的基因替代疗法变得便利<sup>[4]</sup>。

4. RPE65基因特别表达于视网膜色素上皮,并且对11-顺-视黄醛,视杆细胞和视锥细胞视蛋白色基的再循环是必要的。在人类,RPE65基因的突变会导致利伯先天性黑朦,或早发的视网膜营养障碍。Bemelmans等对Rpe65(-/-)小鼠在视网膜下注射慢病毒属介导的RPE65基因,导致RPE65基因在视网膜色素上皮持续的表达。视网膜电流图的记录显示其能将视网膜的功能恢复恢复到几乎正常的图像。RPE65基因转移至少在4个月内完全防止视锥细胞的退化,同期内几乎所有未经治疗的Rpe65(-/-)小鼠的视锥细胞都发生了退化<sup>[5]</sup>。

5. 编码视紫红质的超过100多种不同的基因突变与RP有关。Cashman等使用RNA干扰技术及shRNAs,后者表达于DNA模板,囊括正常和突变的人类RHO等位基因,能抵抗与RP有关的独立突变的沉默基因。这对于独立突变形式的RP治疗具有很大的意义<sup>[6]</sup>。

### 视网膜移植

包括移植来自于胎儿或成人的视网膜细胞,视网膜色素上皮,甚至整个视网膜<sup>[7]</sup>。移植方法包括:外路移植法和内路移植法。外路法系指经巩膜,脉络膜将移植物植入视网膜下腔。内路法经角膜或睫状体平坦部切口入路,再直视下确定移植部位并将微细吸管刺入视网膜神经上皮下,植入移植物<sup>[8]</sup>。

1. 细胞移植:(1) Sauve等对RP大鼠的视网膜下注射人类衍生视网膜色素上皮细胞株ARPE-19,可防止进展性光感受器损失,部分地保存视杆和视锥细胞的视网膜电流图的功能。尽管实际的保护与营养障碍的大鼠相比,不会超过a波振幅的10%和b波振幅的20%,并且在其90天时迅速恶化,但视杆和视锥细胞相关的视网膜电流图参数一直到120天仍有记录价值<sup>[9]</sup>。(2) Tamai等RP鼠经周边虹膜切除术获得虹膜色素上皮,利用AAV作为带菌体,用自体血清及转染脑源性神经营养因子的cDNA来培养,在视网膜下移植这些细胞。结果表明:这对于防护其感光细胞的死亡是安全和有效的<sup>[10]</sup>。

2. 干细胞移植:(1) 自体骨髓干细胞移植 Smith等将自体同源骨髓衍生的家族阴性的造血干细胞,注入RP大鼠的退行性血脉中,可防止视锥细胞的损失,保护中心锥体视觉,并能避免排异反应<sup>[11]</sup>。(2) 胚胎干细胞移植 Zhao等将胚胎干细胞分化为神经组细胞,再分化至光感受器,尤其是视杆细胞,并将分化后的细胞进行移植,可代替退化

了的视网膜细胞并起到保护神经的作用<sup>[12]</sup>。

3. 视网膜色素上皮移植: Radtke等给RP患者在视网膜下间隙,移植胎儿的视网膜色素上皮层及神经上皮层,达到视觉的改善。临床上没有观察到排异反应,也没有视网膜水肿及瘢痕形成。在6个月后移植片失去它的色素沉着。这种移植了的视网膜色素上皮只能存活1年<sup>[13]</sup>。

4. 完整的视网膜片移植: Arai等对RP大鼠移植完整的视网膜片,能记录到横过上丘的对闪光的视反应。对宿主视锥细胞的援救可能是这类移植模型视觉恢复的机制<sup>[14]</sup>。

### 人工恢复视觉

包括光感受器的替代,电针刺激,视网膜修复术,使用人工装置。

1. 人工视网膜硅芯片(ASR): 人工视觉主要通过植入视网膜表面或视网膜下芯片即微光感器,替代RP中退化的光感受器,捕捉到光线和刺激视网膜、视神经或视皮质。Chow等给6位患者的右眼植入ASR,并用左眼作对照,在接下来的6~18个月里,ASR靠电力发挥功能,无移植排斥等副反应。所有病人的视觉功能都得到了改善,意想不到的是远离移植处的视网膜区域也得到了改善,说明ASR还具有全身神经营养的缓救效应<sup>[15]</sup>。

2. 电针疗法: Pagani等对处于RP危险发育阶段的大鼠给予持续11日的每日低频率的电针疗法,会导致视网膜神经生长因子及其高亲和性受体的表达,外核层厚度的增加,血管化作用增强。机制可能是电针疗法对神经生长因子和脑源性神经营养因子及它们在视网膜细胞上的受体发挥作用<sup>[16]</sup>。

3. 眶内种植刺激电极: 用于视神经的视觉修复术<sup>[17]</sup>。普通的经结膜的手术方式现在用于在眼眶内视神经区域植入刺激电极。这种新的技术在除去一条直肌以及进行侧面的外眦切开术后,即可充分地暴露神经<sup>[18]</sup>。通过对视神经可控性的刺激可为盲人建造有意义的视知觉<sup>[19]</sup>。

4. 其他: 使用电子助听器能帮助RP低视力患者<sup>[20]</sup>。使用夜视镜能改善RP夜盲症患者的可动性和独立性<sup>[21]</sup>。

### 神经保护

神经营养因子是一类对神经系统的分化、发育,神经元的存活,轴突再生均有重要作用的细胞因子。它们可能通过调控视网膜感光细胞的凋亡过程起到

神经保护作用,有望成为治疗 RP 的有效药物。

1. 睫状神经生长因子 (CNTF): 保护作用较强,能促进细胞功能恢复和抑制外核层细胞凋亡; AAV 介导的 CNTF 能减缓 RP 鼠的视网膜感光细胞的死亡,与相关的基因替代疗法结合后可增强视网膜的功能,但其有害作用是剂量依赖性的<sup>[22]</sup>。

2. 胶质细胞源性营养因子 (GDNF): AAV 介导的 GDNF 表达能增强在啮齿动物 RP 模型中的基因替代治疗,并且不会引起类似于 CNTF 剂量依赖性的有害作用<sup>[23]</sup>。

3. 非促分裂人酸性成纤维细胞生长因子 (nm-haFGF): 通过上调 Bcl-2 的蛋白水平和下调 Bax 的蛋白水平,抑制感光细胞凋亡<sup>[24]</sup>。

4. 其他: 脑源性神经生长因子 (BDNF)、神经生长因子 (NGF)、成纤维细胞生长因子等,均可抑制光感受器的凋亡,对于治疗 RP 有所帮助。

### 抗凋亡因子

RP 是感光细胞中特定表达的基因发生突变所致,变性过程中细胞死亡的最终方式是凋亡。

1. bcl-2 基因转移,半胱天冬酶-3 抑制剂: 由甲基亚硝基脒 (MNU) 诱导的 RP 是高度可再生的,并且涉及感光细胞的凋亡,机制主要与 Bcl-2 蛋白的减少、Bax 蛋白的增加、以及半胱天冬酶家族的激活有关。bcl-2 的基因转移,半胱天冬酶-3 的抑制剂能抑制感光细胞的凋亡,对于人类 RP 的控制能提供治疗信息<sup>[25]</sup>。

2. 除去半胱天冬酶-1: 在 ADRP 鼠模型中,半胱天冬酶-1 酶原的水平伴随着细胞的死亡而增加,半胱天冬酶-1 在视网膜可能起凋亡前作用,它的除去能保护光感受器<sup>[26]</sup>。

3. 钙蛋白酶 2 (calpain2) 抑制剂: 在对遗传性 RP 的转基因小鼠模型的研究中发现,calpain2 同视网膜各层细胞的细胞周期密切相关,揭示 calpain2 可能是视网膜细胞变性、凋亡的因素之一。Calpain 抑制剂可能延缓 RP 的进程<sup>[27]</sup>。

4. 重组人促红细胞生成素 (rhEPO): RP 发生过程中感光细胞处于低氧状态<sup>[28]</sup>, rhEPO 对中枢神经系统缺氧神经元有保护作用,能抑制感光细胞早期的凋亡<sup>[29]</sup>。

5. 视杆细胞源性的视锥细胞生存因子: 光感受器环境下的凋亡前信号的释放,或者活细胞正常产生的存活因子的缺乏,可能会导致细胞死亡。后者被证实于视杆细胞生成因子对于视锥细胞的生存

是必要的。在典型的 RP 中,视杆细胞死亡是由于它们发生基因突变,而视锥细胞仅次于它发生退化是由于缺乏视杆细胞生成因子。因此在视网膜内给予视杆细胞生成因子可以保护视锥细胞不接着退化<sup>[30]</sup>。

### 药物治疗

1. 米诺环素: 属半合成的四环素类抗生素, Hughes 等发现其在不依赖小胶质细胞机制的作用下可延迟 RP 大鼠的光感受器的凋亡,但最终不能阻止凋亡<sup>[31]</sup>。

2. 钙通道阻滞剂: 如尼伐地平、尼卡地平,能保护 rd 大鼠的感光细胞,并能潜在地治疗某些 RP 患者,但成就有限<sup>[32]</sup>。

3. 视觉周期抑制剂: 在 Rpe65 (-/-) 鼠模型中,给予 9-cis 能减缓视网膜色素上皮中脂褐素的毒性积累,恢复视杆细胞的活性<sup>[30]</sup>。

### 营养治疗

1. 维生素: VitA, VitB 和 VitE 等可通过营养和抗氧化效应来保护光感受器。某些特定的遗传性视网膜营养障碍,生化途径异常导致的退化,可补充维生素<sup>[33]</sup>。

2. n-3 脂肪酸类: 为不饱和脂肪酸,如二十二碳六烯酸<sup>[34]</sup>能有效地减少患者视杆细胞视网膜电流图的功能性损失,但是对视锥细胞的功能性损失,眼底的形态,视力及视野无明显改变<sup>[35]</sup>。

3. 叶黄素: 补充叶黄素可以改善视野并轻微地改善视力,早期的研究表明叶黄素对于黄斑色素密度的潜在性治疗具有积极作用<sup>[36]</sup>。

4. 其他: 牛磺酸,鸟氨酸等,均对 RP 具有防治作用<sup>[33]</sup>。

### 减缓退化进程

即光保护,临床证据和来自于动物研究的数据显示,某些类型的遗传性 RP 是部分光依赖性的。因此,患者被推荐外出时戴墨镜,戴橙黄色的眼镜可减轻畏光<sup>[30]</sup>。

### 治疗并发症<sup>[30]</sup>

1. 白内障: 多见后中心囊下白内障,采用晶状体乳化法及人工晶体的植入。

2. 黄斑水肿: 急性期可口服碳酸酐酶抑制药,如乙酰唑胺钠,但一般 RP 患者发病缓慢,这种治疗方法很难改善。

### 3. 其它：炎症反应等。

总之，目前对于 RP 的各种治疗方式大多用于动物模型实验，尚未真正用于人类 RP 的临床治疗。许多研究仍处于探索阶段，相信在不久的将来，基于动物模型的研究能为人类 RP 的治疗提供有价值的帮助。

### 参考文献

- Gorbatyuk MS, Pang JJ, Thomas J Jr, et al. Knockdown of wild-type mouse rhodopsin using an AAV vectored ribozyme as part of an RNA replacement approach. *Mol Vis*, 2005, 11: 648-656.
- Liu J, Huang Q, Higdon J, et al. Distinct gene expression profiles and reduced JNK signaling in retinitis pigmentosa caused by RP1 mutations. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(19): 2945-2958.
- Khanna H, Hurd TW, 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(39): 33580-33587.
- Hong DH, Pawlyk BS, Adamian M, et al. A single, abbreviated RPGR-ORF15 variant reconstitutes RPGR function in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 435-441.
- Bemelmans AP, Kostic C, Crippa SV, et al. Lentiviral gene transfer of rpe65 rescues survival and function of cones in a mouse model of leber congenital amaurosis. *PLoS Med*, 2006, 3(10).
- Cashman SM, Binkley EA, Kumar-Singh R. Towards mutation-independent silencing of genes involved in retinal degeneration by RNA interference. *Gene Ther*, 2005, 12(15): 1223-1228.
- Gekeler F, Zrenner E. Status of the subretinal implant project. *Ophthalmologe*, 2005, 102(10): 941-949.
- Gussek H. Retinal implants. Patients' expectations. *Ophthalmologe*, 2005, 102(10): 950-956.
- Sauve Y, Pinilla I, Lund RD. Partial preservation of rod and cone ERG function following subretinal injection of ARPE-19 cells in RCS rats. *Vision Res*, 2006, 46(8-9): 1459-1472.
- Tamai M. Progress in pathogenesis and therapeutic research in retinitis pigmentosa and age-related macular degeneration. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2004, 108(12): 750-768.
- Smith LE. Bone marrow-derived stem cells preserve cone vision in retinitis pigmentosa. *J Clin Invest*, 2004, 114(6): 765-774.
- Zhao X, Liu J, Ahmad I. Differentiation of embryonic stem cells to retinal cells in vitro. *Methods Mol Biol*, 2006, 330: 401-416.
- Radtke ND, Aramant RB, Seiler MJ, et al. Vision change after sheet transplant of fetal retina with retinal pigment epithelium to a patient with retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122(8): 1159-1165.
- Arai S, Thomas BB, Seiler MJ, et al. Restoration of visual responses following transplantation of intact retinal sheets in rd mice. *Exp Eye Res*, 2004, 79(3): 331-341.
- Chow AY, Chow VY, Packo KH, et al. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122(4): 460-469.
- Pagani L, Manni L, Aloe L. Effects of electroacupuncture on retinal nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor expression in a rat model of retinitis pigmentosa. *Brain Res*, 2006, 1092(1): 198-206.
- Brelen ME, De Potter P, Gersdorff M, et al. Intraorbital implantation of a stimulating electrode for an optic nerve visual prosthesis. *Case report. J Neurosurg*, 2006, 104(4): 593-597.
- Oozeer M, Veraart C, Legat V, et al. Simulation of intra-orbital optic nerve electrical stimulation. *Med Biol Eng Comput*, 2005, 43(5): 608-617.
- Brelen ME, Duret F, Gerard B, et al. Creating a meaningful visual perception in blind volunteers by optic nerve stimulation. *J Neural Eng*, 2005, 43(5): 608-617.
- Jones T, Troscianko T. Mobility performance of low-vision adults using an electronic mobility aid. *Clin Exp Optom*, 2006, 89(1): 10-17.
- Hartong DT, Jorritsma FF, Neve JJ, et al. Improved mobility and independence of night-blind people using night-vision goggles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(6): 1725-1731.
- Emerich DF, Thanos CG. Intracompartmental delivery of CNTF as therapy for Huntington's disease and retinitis pigmentosa. *Curr Gene Ther*, 2006, 6(1): 147-159.
- Buch PK, Maclaren RE, Duran Y, et al. In contrast to AAV-mediated cntf expression, AAV-mediated Gdnf expression enhances gene replacement therapy in rodent models of retinal degeneration. *Mol Ther*, 2006, 14(5): 700-709.
- Nir I, Kedzierski W, Chen J. Expression of Bcl-2 protects against photoreceptor degeneration in retinal degeneration slow (rds) mice. *J Neurosci*, 2000, 20(6): 2150-2154.
- Yoshizawa K, Tsubura A. Characteristics of N-methyl-N-nitrosourea-induced retinal degeneration in animals and application for the therapy of human retinitis pigmentosa. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2005, 109(6): 327-337.
- Samardzija M, Wenzel A, Thiersch M, et al. Caspase-1 ablation protects photoreceptors in a model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(12): 5181-5190.
- Papermaster DS, Windle J. Apoptosis in inherited retinal degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995, 36(6): 977-983.
- Yu DY, Cringle SJ. Retinal degeneration and local oxygen metabolism. *Exp Eye Res*, 2005, 80(6): 745-751.
- Vairano M, Dello Russo C, Pozzoli G. Erythropoietin exerts anti-apoptotic effects on rat microglial cells in vitro. *Eur J Neurosci*, 2002, 16: 584-592.
- Christian Hamel. Retinitis pigmentosa. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2006, 1(40): 1-12.
- Hughes EH, Schlichtenbrede FC, Murphy CC, et al. Minocycline delays photoreceptor death in the rds mouse through a microglia-independent mechanism. *Exp Eye Res*, 2004, 78(6): 1077-1084.
- Takano Y, Ohguro H, Dezawa M, et al. Study of drug effects of calcium channel blockers on retinal degeneration of rd mouse. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(4): 1015-1022.
- Miggiano GA, Falsini B. Diet and management of degenerative diseases of the retina (retinitis pigmentosa). *Clin Ter*, 2004, 155(7-8): 347-351.
- Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, et al. Clinical trial of docosahexaenoic acid in patients with retinitis pigmentosa receiving vitamin A treatment. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122(9): 1297-1305.
- Hodge WG, Barnes D, Schachter HM, et al. The evidence for efficacy of omega-3 fatty acids in preventing or slowing the progression of retinitis pigmentosa: a systematic review. *Can J Ophthalmol*, 2006, 41(4): 481-490.
- Bahrami H, Melia M, Dagnelie G. Lutein supplementation in retinitis pigmentosa: PC-based vision assessment in a randomized double-masked placebo-controlled clinical trial. *BMC Ophthalmol*, 2006, 6: 23.

(收稿时间：2007-04)