

# 视网膜色素变性研究新进展

王悦, 徐国兴

引用:王悦,徐国兴. 视网膜色素变性研究新进展. 国际眼科杂志 2020;20(4):628-630

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81770948);福建省科技创新领军人才基金资助项目(No.2016B011)

作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所

作者简介:王悦,女,硕士,住院医师,研究方向:晶状体、视网膜疾病。

通讯作者:徐国兴,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:晶状体、视网膜病. fjmuxgx@163.com

收稿日期:2019-05-16 修回日期:2020-02-27

## 摘要

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)也称为色素性视网膜炎。RP是由于视网膜色素上皮细胞功能逐渐丧失及光感受器进行性凋亡从而导致不可逆的视力损伤的一组遗传性眼病。因其表型和遗传均具有异质性,发病机制复杂,目前尚无单一有效的治疗方法。本文报告近年来RP在诊疗方面的进展。

关键词:视网膜色素变性;发病机制;诊疗进展

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.4.10

## New progress in the study of retinitis pigmentosa

Yue Wang, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81770948); Fujian Provincial Science and Technology Innovation Leadership Talent Foundation (No.2016B011)

Fujian Institute of Ophthalmology; Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo - Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology; Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. fjmuxgx@163.com

Received:2019-05-16 Accepted:2020-02-27

## Abstract

• Retinitis pigmentosa (RP) was known as pigmentation retinitis even. RP is a group of hereditary eye diseases that cause irreversible visual impairment due to progressive loss of function of retinal pigment epithelial cells and progressive apoptosis of photoreceptors. Because of its heterogeneity in phenotype and heredity and complex pathogenesis, there is currently no single effective treatment. This article mainly elaborates on the progress in the treatment of retinitis pigmentosa in recent years.

• KEYWORDS: retinitis pigmentosa; pathogenesis; diagnosis and treatment progress

Citation: Wang Y, Xu GX. New progress in the study of retinitis pigmentosa. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(4):628-630

## 0 引言

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一组遗传性、致盲性视网膜疾病。RP的遗传方式具有多样性,主要有常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传以及X连锁遗传,还有少部分为线粒体及双基因遗传<sup>[1]</sup>,临床工作中也有发现较多的散发型病例。日本一项大规模的研究测序<sup>[2]</sup>表明EYS, USH2A, RP1L1, RHO, RP1和RPGR的突变是65.4% RP患者患病的原因。虽然RP具有遗传异质性,但视锥及视杆细胞的凋亡而导致功能的丧失为共同的最终结果。该病的主要临床症状为夜盲、进行性视野缺损,眼底检查可见视盘蜡黄、视网膜血管变细、视网膜骨细胞样色素沉着。Sujirakul等<sup>[3]</sup>2a期间对71例RP患者进行随访观察,发现超过75%的患者病情呈显著的进展,且靠近黄斑中心凹时进展速度显著减慢,支持RP以指数方式进展的理论,另发现有19%的患者左眼与右眼的病情进展有差异。

## 1 RP的分类

因RP的临床表型和基因突变的相关性部分尚未明确,故其在诊断上及分类上还缺乏统一的标准,分类方式多样<sup>[4]</sup>。(1)按有无明确病因分类:原发性RP和继发性RP;(2)按有无家族遗传史分类:家族遗传型RP,包括常染色体显性遗传RP、常染色体隐性遗传RP、X染色体连锁遗传型RP、双基因遗传、线粒体遗传单纯型RP;(3)按有无合并全身其他症状分类:单纯型RP和综合征型RP,综合征型RP除具有单纯型RP表现外,还可伴随听力丧失、前庭功能障碍、躯干性肥胖、多趾畸形、认知功能障碍等表现,以Usher综合征和Bardet-Biedl综合征(BBS)较为常见。

## 2 新一代测序技术(NGS)在RP中的应用

RP主要是因基因突变引起,若想获得良好的治疗效果,必需要从病因入手。目前发现大于50个突变的基因与非综合征型RP相关,12个突变的基因可导致Usher综合征及17个突变的基因与Bardet-Biedl综合征有关<sup>[5]</sup>。基因测序技术的发展为RP的分子生物学研究提供了极大的帮助,近年来RP基因的发现主要依靠新一代测序技术(NGS)<sup>[6]</sup>,虽然目前已经发展至第四代技术,但第二代测序技术仍是使用最多的技术,其又称为高通量测序技术,主要原理<sup>[7]</sup>:第一步为构建DNA模板文库,把DNA固定在芯片表面或微球表面;第二步通过扩增形成DNA簇或扩增微球;最后利用聚合酶或者连接酶进行一系列循环的反应操作,通过CCD相机采集每个循环反应中产生的光学事件信息,从而获得DNA片段的序列。应用范围主要

包括以下 3 个方面:(1)基因组学;(2)转录组学;(3)表观组学。第三代测序是在单细胞和单分子水平上进行基因组测序的新技术<sup>[8]</sup>。较二代测序技术相比,三代测序技术的优势主要表现在:(1)测序通量高;(2)测序成本低;(3)读取长度长;(4)测序时间短;(5)所需起始用量更少且精确性高<sup>[8]</sup>。第四代测序技术主要是纳米孔测序,是利用不同碱基的电学性质差异,通过纳米孔等直接对碱基穿过电极时的电流变化进行测序<sup>[9]</sup>。对于三种新一代测序技术,它们有各自的优点以及缺点,要使测序技术更好地应用于 RP 的分子诊断,关键在于合理评估以选择合适的测序平台。结合常规的 Sanger 测序和 NGS 的结果,使用粗略估计,可以检测到 20%~30%的隐性遗传方式,60%~70%的常染色体显性遗传形式,80%~85%的 X 性连锁遗传形式<sup>[10]</sup>。因 RP 具有遗传异质的特点,部分基因型-临床表型的一致性尚不明确,国外文献有报道利用系统化的 NGS 数据分析、Sanger 测序验证和分离分析来鉴定致病性突变,72 例确诊的致病性突变的患者中有 58 例携带已知 LCA 或少年 RP 基因的突变,并表现出相应的表型,而另外 14 例与他们最初的临床诊断不符,在分子诊断的指导下,重新分类了 2 例患者的临床诊断<sup>[11]</sup>。Zhao 等<sup>[12]</sup>来自北爱尔兰的大量 RP 先证者应用于新一代基于测序的全面分子诊断的研究,研究表明分子信息可以帮助临床诊断,可能帮助改变治疗方案,并可用于家庭咨询和管理。

### 3 光感受器凋亡的途径

视网膜中光感受器细胞有视锥细胞和视杆细胞 2 种,它们的凋亡是不同致病基因导致 RP 最终的共同机制。不同的基因缺陷可能通过以下途径导致细胞凋亡<sup>[13]</sup>:(1)遗传缺陷导致光感受器外节的正常结构不能形成或脱落,打破之间的平衡,影响正常的 RPE 与感光细胞间代谢物质的传递;(2)基因缺陷导致光电转导异常,现在更多观点认为该途径紊乱,引起高浓度 cGMP,作为信号分子介导了细胞凋亡;(3)基因缺陷影响 RPE 与光感受器的相互作用,如视黄醛再生和 RPE 对外节的内化、分解;(4)相邻细胞之间诱导细胞凋亡,一些 RP 致病基因是在视杆细胞而不在视锥细胞中,但最终表现为视锥、视杆细胞的凋亡,其机制目前尚不明确,可能与凋亡细胞释放细胞因子,或营养因子消失有关。Ma 等<sup>[13]</sup>发现变性的光感受器可通过旁观者效应扩散至周围健康的细胞,锥体细胞对锥体细胞也具有杀伤作用。

## 4 RP 的治疗

**4.1 基因治疗** 基因治疗是把目的基因经载体转至有基因缺陷的细胞内来替代致病基因的治疗手段。基因治疗的方法主要有以下 4 种。

**4.1.1 基因替代治疗** MFRP 编码未知功能的视网膜色素上皮(RPE)特异性膜受体。rd6 小鼠是由 Mfrp(膜型卷曲相关蛋白)基因突变引起的常染色体隐性遗传的 RP 的天然模型,Dinculescu 等<sup>[14]</sup>应用酪氨酸-衣壳突变体 scAAV8(Y733F)作为载体将目的基因导入 rd6 小鼠的视网膜下,发现对维持视网膜结构和功能均有效,且对于减缓光感受器变性以及防止异常吞噬细胞在视网膜下的特征性积聚也是有效的。Li 等<sup>[15]</sup>为了防止 Mfrprd6 小鼠中的光感受器细胞死亡,在出生后第 5d 通过视网膜下注射 AAV-Mfrp 载体将目的基因转导至右眼,左眼作为对照组,通过 EGR 检测,右眼的视锥和视杆细胞的功能较左眼显著增加,且右眼视网膜外核层厚度较左眼增加。以上 2 个实验均说

明基因治疗是有效的,但目前多数研究都还只基于动物模型中。

**4.1.2 RNA 干扰技术** RNA 干扰(RNAi)是由双链 RNA 介导的,在转录后 mRNA 水平封锁相应基因表达的新基因阻断技术,在基因功能研究、基因治疗方面已显示出巨大的前景<sup>[16]</sup>,可用于抑制体外和体内特定基因的表达。对于其他组织及器官来说,眼球是相对密闭的,因此,目前认为眼睛是 RNAi 治疗的一个好靶点,可通过局部眼药水点眼或注射递送干扰 RNA。Hernan 等<sup>[17]</sup>研究发现 siRNA 可能干扰顺式作用剪接 RHO 转录物,在常染色体显性遗传的治疗方法中应该考虑突变序列和不完全突变转录物消除的限制。

**4.1.3 核酶治疗 RP** 核酶是一类具有催化活性的 RNA 分子,通过催化靶位点 RNA 链中磷酸二酯键的断裂,特异性地剪切底物 RNA 分子,从而阻断靶基因的表达。Dir 等发现核酶可区分与常染色体显性 RP 相关的 mRNA 的突变型和野生型序列,同时描述了根据核酶切割的动力学和特异性它们会减少视杆细胞中异常视紫红质的量并且可能具有作为抗遗传疾病的治疗剂的潜力<sup>[18]</sup>。

**4.1.4 抑制凋亡** RP 最终的表现是 RPE 细胞功能丧失和光感受器的凋亡,因此通过抑制细胞的凋亡可能会延缓或阻止病情的进展。Bcl-2 基因即 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因,是一种癌基因,它具有抑制凋亡的作用,并且近年来的一些研究已开始揭示这一作用的机制。Nir 等<sup>[18]</sup>将 Bcl-2 基因转导至 RP 小鼠模型及 rds 小鼠中,观察到实验组与对照组相比,前者光感受器的数量是后者的 2 倍,表明 Bcl-2 表达可能是人类视网膜色素变成有效的治疗策略。

**4.2 细胞移植** 目前细胞移植治疗视网膜变性是眼科研究的热点,国内外许多文献报道将感光前体细胞或视网膜色素上皮细胞移植到视网膜下腔或玻璃体内,具有延缓光感受器的凋亡或替代凋亡的感光细胞的作用以挽救残存的视觉功能及视网膜结构。主要的移植细胞来源是视网膜祖/干细胞、胚胎干细胞(ESC)和诱导多能干细胞(IPS)<sup>[19]</sup>,其中胚胎干细胞和诱导多能干细胞是多能的,可变为任何一种细胞。ESC 来源于胚胎,而 IPS 细胞可来自各种组织,如皮肤、骨髓、牙齿。Li 等<sup>[20]</sup>成功培养了来自成年小鼠的视网膜多能干细胞(RSC),当把培养的视网膜多能干细胞移植到缓慢退化的 rd7 突变小鼠眼睛的视网膜下间隙后,他们发现 RSC 衍生的感光细胞可整合到视网膜中,且形态学上类似于内源性光感受器并与视网膜神经元形成突触,当移植到光感受器缺陷型 rd1 突变小鼠(RP 模型)的眼中时,RSC 衍生的光感受器可部分恢复光响应,表明 RSC 衍生的光感受器是功能性的,因此这项研究已经证明,从成年小鼠视网膜分离的 RSC 具有产生功能性感光细胞的潜力,这些功能性感光细胞可以恢复 RP 和 ARMD 中光感受器细胞凋亡导致的视力丧失。国内文献报道视网膜下移植骨髓间充质干细胞,具有抑制视网膜光感受器细胞凋亡的作用,原因可能是通过其分泌的 bFGF 细胞因子发挥多向分化潜能及营养支持的作用,从而对光感受器细胞起到一定的保护作用<sup>[21]</sup>。

**4.3 视网膜假体** 视网膜假体根据视网膜电极放置的位置又可以分为:视网膜上假体、视网膜下假体和脉络膜上腔假体。美国 Second Sight 公司研发的 Argus 系列视觉假体是目前最有代表性的一类视网膜上假体<sup>[22-23]</sup>。Argus II

假体在2011年、2013年和2014年分别获得欧盟、美国和加拿大FDA的批准用于治疗晚期RP患者,它是全球使用最广泛的视网膜假体,具有迄今为止估计有250多例患者接受了植入。有文献报道残余视力为光感的患者可通过Argus II系统识别字母和单词,表明可再现的空间分辨率,但仍有许多复杂的工程和生物物理障碍需要克服,人工视觉和自然视觉之间仍然存在的很大的差距<sup>[22]</sup>。

**4.4 药物治疗** 在视网膜中维生素A通过衍生物——视黄醛与视蛋白结合形成视紫红质,参与光电转化反应,产生视觉冲动。国内外许多文献均报道过维生素A可减慢RP的病情进展。Berson等<sup>[24]</sup>对维生素A治疗儿童RP进行回顾性研究,结果显示维生素A棕榈酸酯可减缓视网膜色素变性儿童视锥细胞功能丧失。二十二碳六烯酸(DHA)、牛磺酸、中药治疗RP均有报道过,但治疗效果尚不明确。

**4.5 手术联合药物治疗** 董玉萍等<sup>[25]</sup>对450例900眼RP患者应用双眼自体血管取材侧支循环建立术同时联合给予抗菌素、曲克芦丁、三磷酸腺苷,口服卵磷脂络合碘片、乐丁、递法明等药物治疗,取得了一定的治疗效果。

**4.6 RP合并黄斑水肿的治疗** RP偶尔会伴有脉络膜新生血管(CNV)和黄斑囊样水肿(CME),可使RP复杂化,发生在10%~50%的患者中<sup>[26]</sup>。主要机制为:(1)视网膜屏障的破坏;(2)RPE中泵功能缺失;(3)Müller细胞功能水肿和障碍;(4)抗视网膜抗体;(5)玻璃体牵拉。近年来随着抗VEGF药物的出现,有研究者发现其治疗RP继发的CME可有效减轻水肿,Manabu<sup>[27]</sup>对1例56岁的患者进行了连续8a的抗VEGF药物治疗,期间未观察到视野进行性丧失。国内一项研究<sup>[28]</sup>报道对6例10眼RP合并CME患者进行雷珠单抗注射,9眼黄斑区多焦电生理的峰值术后恢复至正常水平,1眼改变不明显。随访期间2眼有一过性眼压升高,余未见其他并发症发生。也有研究者提出RPE细胞可分泌VEGF,RP合并CME的患者应慎用抗VEGF药物,因此关于抗VEGF对RP继发的CME治疗的安全性仍需要进一步评估。因自身免疫反应也可参与RP继发CME,故糖皮质激素对该病可能也会起到一定的作用。Alhassan等<sup>[29]</sup>对1例应用碳酸酐酶抑制剂治疗无效的患者,实施双眼玻璃体腔内注入地塞米松后,患者BCVA及黄斑中心凹厚度均得到改善,但在治疗后的2mo患者病情复发。

## 5 小结

RP是眼科中常见的遗传性眼病,目前发病机制及治疗方法仍处于探索的过程中,虽然各种治疗方法均有报道,但许多都只是在动物模型上研究得到的结论,要想用于临床治疗人类RP,可能还要经过一段很长并坎坷的路。要想攻克RP这一遗传性眼病,不仅需要眼科医生的不懈努力,也需要遗传学家、流行病学家等的付出,更关键的是他们之间的合作与交流。

## 参考文献

- 1 高凤娟,张圣海,胡方圆,等.视网膜色素变性的致病基因研究进展.中华眼底病杂志 2018;34(6):605-608
- 2 Koyanagi Y, Akiyama M, et al. Genetic characteristics of retinitis pigmentosa in 1204 Japanese patients. *J Med Genetics* 2019; 56(10): 662-670
- 3 Sujirakul T, Lin MK, Duong J, et al. Multimodal Imaging of Central Retinal Disease Progression in a 2-Year Mean Follow-up of Retinitis Pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 2015;160(4): 786-798

- 4 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
- 5 Daiger SP, Sullivan LS, Bowne SJ. Genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Clin Genet* 2013;84(2): 132-141
- 6 Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. *Am J Hum Genet* 2009; 85(2): 142-154
- 7 徐晓丽,林娟,鄢仁祥.基因芯片与高通量测序技术的原理与应用的比较.中国生物化学与分子生物学报 2018; 34(11): 1166-1174
- 8 李玉梅.第三代测序技术在转录组学研究中的应用.生命科学仪器 2018;16(1):114-121,113
- 9 付春鹏.DNA测序技术概述.生物学教学 2017;42(11): 3-5
- 10 Glöckle N, Kohl S, Mohr J, et al. Panel-based next generation sequencing as a reliable and efficient technique to detect mutations in unselected patients with retinal dystrophies. *Eur J Hum Genet* 2014;22(1): 99-104
- 11 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(10): 674-688
- 12 Zhao L, Wang F, Wang H, et al. Next-generation sequencing-based molecular diagnosis of 82 retinitis pigmentosa probands from Northern Ireland. *Hum Genet* 2015;134(2): 217-230
- 13 Ma Y, Han X, de Castro RB, et al. Analysis of the bystander effect in cone photoreceptors via a guided neural network platform. *Sci Adv* 2018;4(5): 9274
- 14 Dinulescu A, Min SH, Deng WT, et al. Gene therapy in the rd6 mouse model of retinal degeneration. *Adv Exp Med Biol* 2014;801(3): 711-718
- 15 Li Y, Wu WH, Hsu CW, et al. Gene therapy in patient-specific stem cell lines and a preclinical model of retinitis pigmentosa with membrane frizzled-related protein defects. *Mol Ther* 2014;22(9): 1688-1697
- 16 张鑫,郝玉琴.RNA干扰技术的研究进展.中国麻风皮肤病杂志 2016;32(2):119-122
- 17 Hernan I, Gamundi MJ, Planas E, et al. Cellular expression and siRNA-mediated interference of rhodopsin cis-acting splicing mutants associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6): 3723-3729
- 18 Nir I, Kedzierski W, Chen J, et al. Expression of Bcl-2 protects against photoreceptor degeneration in retinal degeneration slow (rds) mice. *J Neurosci* 2000;20(6): 2150-2154
- 19 邵敬芝,彭广华.干细胞移植治疗视网膜变性疾病的研究进展.眼科新进展 2016;36(2): 181-185
- 20 Li T, Lewallen M, Chen S, et al. Multipotent stem cells isolated from the adult mouse retina are capable of producing functional photoreceptor cells. *Cell Res* 2013;23(6): 788-802
- 21 赵雯,侯炜.骨髓间充质干细胞在大鼠视网膜光感受器细胞损伤中的应用研究.临床和实验医学杂志 2018; 17(8): 803-806
- 22 Stronks HC, Dagnelie G. The functional performance of the Argus II retinal prosthesis. *Expert Rev Med Devices* 2014; 11(1): 23-30
- 23 Bloch E, Luo Y, da Cruz L. Advances in retinal prosthesis systems. *Ther Adv Ophthalmol* 2019;11: 2515-2518
- 24 Berson EL, Weigel -Difranco C, Rosner B, et al. Association of Vitamin A Supplementation With Disease Course in Children With Retinitis Pigmentosa. *JAMA* 2018;136(5):490-495
- 25 董玉萍,杨春华,王磊峰,等.手术联合药物治疗视网膜色素变性450例疗效观察.山东医药 2011;51(28): 103
- 26 Hajali M, Fishman GA, Anderson RJ. The prevalence of cystoid macular oedema in retinitis pigmentosa patients determined by optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2008;92(8): 1065-1068
- 27 Manabu M. Long-term efficacy and safety of anti-VEGF therapy in retinitis pigmentosa: a case report. *BMC Ophthalmol* 2018;18(1):248
- 28 鹿晓燕,史小玲,万文萃,等.玻璃体内注射雷珠单抗在视网膜色素变性并发黄斑囊样水肿治疗中的应用.眼科新进展 2017;37(1):69-71
- 29 Alhassan M, Quintyn JC. Unilateral intravitreal dexamethazone implant for bilateral retinitis pigmentosa-related macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251(12): 2827-2828