

## 干细胞治疗视网膜退行性疾病

张珂凡 综述 曲秀霞 范国平 审校

214122 无锡,江南大学无锡医学院(张珂凡、曲秀霞);90095 美国洛杉矶,加州大学戴维格芬医学院人类遗传学系(范国平)

通信作者:范国平,Email:gfan@mednet.ucla.edu

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.11.011

**【摘要】** 眼是人类的重要器官,而视网膜退行性疾病可致盲,给患者带来极大的痛苦。在目前的条件下,细胞移植是治疗退行性眼病的重要方法之一。由于成体干细胞数量稀少,因此激活内源性成体干细胞来治疗退行性眼病还很难,利用多能干细胞,包括胚胎干细胞(ESCs)以及诱导性多能干细胞(iPSCs)分化得到的光感受器细胞和视网膜色素上皮(RPE)细胞便成为有效的移植细胞来源。本文介绍视网膜退行性疾病中危害较大的视网膜色素变性(RP)和年龄相关性视网膜黄斑变性(AMD)的病理过程以及干细胞移植治疗退行性眼病的发展现状,对退行性眼病中2种不同的易损细胞,即RPE细胞和光感受器细胞干细胞疗法研究现状进行综述,并对干细胞移植治疗退行性眼病现阶段存在的问题和未来的发展方向进行了探讨。

**【关键词】** 年龄相关性黄斑变性;视网膜色素变性;诱导性多能干细胞;视网膜色素上皮;光感受器;细胞移植治疗

**Research progress of stem cells in the treatment of retinal degenerative diseases** Zhang Kefan, Qu Xiuxia, Fan Guoping

Wuxi Medical School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China (Zhang KF, Qu XX); Department of Human Genetics, David Geffen School of Medicine, UCLA, Los Angeles 90095, USA (Fan GP)

Corresponding author: Fan Guoping, Email: gfan@mednet.ucla.edu

**【Abstract】** Eyes are important human organs, and retinal degenerative diseases can cause irreversible blindness. Up to date, cell transplantation is an important method for the treatment of degenerative eye diseases. Because the number of adult eye stem cells is rather limited, it is still very difficult to activate endogenous adult stem cells as a way to treat degenerative eye diseases. Therefore, photoreceptor cells (photoreceptor) and retinal pigment epithelium (RPE) cells generated from pluripotent stem cells include embryonic stem cells (ESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs) can be an effective source of cells for transplantation. This article described the major types of retinal degenerative diseases including retinitis pigmentosa (RP) and age-related macular degeneration (AMD) by focusing on their pathological process and development of stem cell transplantation. We reviewed the related stem cell therapies and research status of two different vulnerable cells, RPE and photoreceptor cell in degenerative ophthalmopathy. We also discussed the value and limitations of cell transplantation therapy and the prospect of future treatment.

**【Key words】** Age-related macular degeneration; Retinitis pigmentosa; Induced pluripotent stem cells; Retinal pigment epithelium; Photoreceptor; Cell transplantation therapy

视网膜退行性疾病主要包括视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)、黄斑变性以及遗传性Leber病等,这些疾病存在着不同的症状以及相关致病基因或易感基因(表1)。尽管这些疾病的病因和病理进程各不相同,但都存在视网膜细胞数量的进行性减少,主要包括视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)和光感受器细胞的不可逆损失,并最终导致视觉功能丧失。RP为遗传性疾病,目前已发现200多

个与RP相关的基因突变位点<sup>[1]</sup>。黄斑变性是由基因改变和环境因素共同引起,根据患病年龄分为少年黄斑变性和年龄相关性黄斑变性(age related-macular degeneration, AMD)<sup>[2]</sup>。临床上RP和AMD较为普遍,其中RP的发病率高达1/3 000;而AMD在大于60岁的人群中的发病率超过1/10<sup>[3-4]</sup>。目前,临床上用来治疗视网膜退行性疾病的药物和方法非常有限,多数为抗炎治疗及神经细胞营养保护性药物用以延缓病程,或者抑

制血管生长类药物以治疗湿性 AMD 等。但是药物治疗无法恢复已经受损的视神经细胞和功能 RPE 细胞,而利用细胞移植手段则可以有针对性地将有特定功能的细胞移植并整合到视网膜中以恢复其受损功能,应用前景更为广泛。因此本文着重介绍了 RP 以及 AMD 的病理过程以及细胞移植治疗现状。

## 1 视网膜退行性疾病的病理过程以及影响因素

### 1.1 RP 的病理过程以及影响因素

综合征性 RP 伴随其他神经系统疾病或者发育异常出现,而非综合征性 RP 则是单独出现<sup>[5]</sup>。RP 早期会出现夜视能力下降以及中周部视野的缺失,负责感受弱光的视杆细胞的死亡,是非综合征性 RP 产生的第一步。RP 患者外周视野和视力会迅速下降,双眼视力同时受损,最终会影响到中央视野、视敏度和彩色视觉。

遗传性的 RP 包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传和 X 染色体连锁遗传等,目前已知许多基因的突变会导致 RP。自从 1989 年首例视紫红质 (rhodopsin, *RHO*) 基因突变被首次发现以来,已经确定了超过 100 个 *RHO* 基因突变位点。这些位点的突变占所有 RP 类型的 15%,而占常染色体显性遗传 RP 的 25%<sup>[6-7]</sup>。*PRPF3*、*PRPF8*、*PRPF31* 和 *PAP1* 4 个 pre-mRNA 剪接相关因子的突变也会导致常染色体显性遗传 RP。这些因子的表达十分广泛,但是仅在视网膜中导致疾病,可能是因为视网膜的光感受器细胞需要更多的蛋白质代谢参与<sup>[8]</sup>。目前已知至少 45 个基因与常染色体隐性遗传 RP 相关<sup>[6]</sup>,例如 *USH2A* 基因突变被发现会导致 10%~15% 伴随遗传性耳聋-色素性视网膜炎综合征 (Usher Syndrome)<sup>[9-10]</sup>。目前发现 X 染色体连锁遗传 RP 与 *RPGR* 和 *RP2* 等 6 个基因相关<sup>[11-12]</sup>。

### 1.2 AMD 的病理过程以及影响因素

AMD 从病理上分为干性 AMD 和湿性 AMD。干性 AMD 是由脉络膜和 RPE 萎缩、脉络膜增厚和黄斑萎缩引起的;湿性 AMD 是 Bruch 膜受损,脉络膜的毛细血管在 Bruch 处形成新生血管,引起视网膜下黄斑区反复渗液和出血并形成瘢痕,继而造成中心视觉丧失。正常 RPE 会在光感受器细胞和脉络膜之间形成紧密连接的单层细胞片层<sup>[13]</sup>,而光感受器细胞会不断老化并产生废弃物堆积在黄斑形成脉络膜玻璃膜疣,并引发慢性炎症<sup>[14]</sup>。玻璃膜疣能够进一步破坏 RPE,致使光感受器细胞因得不到及时维护而受损,最终形成 AMD (图 1)。

年龄是 AMD 的危险因子之一,老龄化会通过表观遗传学修饰,如 DNA 的甲基化以及组蛋白乙酰化等促进基因的沉默,通常在大于 60 岁的人群中会出现细胞功能损伤并有致病风险<sup>[15]</sup>。线粒体是氧自由基反应的重要场所,线粒体基因的多态性,例如 *MT-ND2* 的多态性,与湿性 AMD 有关<sup>[16]</sup>。VEGF 与湿性 AMD 中的血管生成有关,因此其抑制剂被临床用于治疗湿性 AMD<sup>[17-18]</sup>。此外,受损的免疫系统调节尤其是补体系统可能对 AMD 的病程有影响<sup>[19]</sup>。一些补体的过度激活,会导致慢性炎症的发生<sup>[20]</sup>。由于免疫反应是导致 AMD 的重要因素,因此许多参与免疫反应的基因突变都是该疾病的重要风险因

子,例如抑制炎症反应的补体因子 H (complement factor H, *CFH*) 的 Tyr402His 突变会导致 AMD 的产生<sup>[21]</sup>。目前已有一些与补体有关的治疗 AMD 的药物正在研究中,但是还没有被批准用于临床<sup>[22]</sup>。

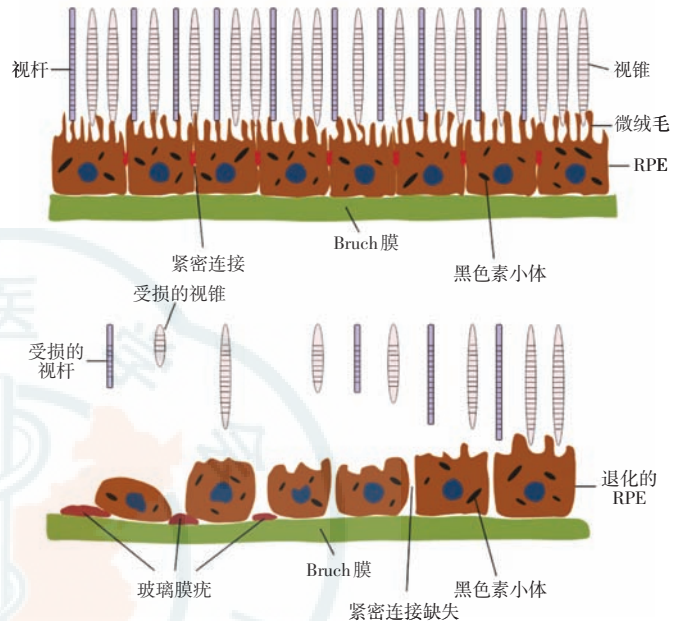


图 1 正常和退化的 RPE 细胞示意图 A: 正常 RPE 细胞整齐地排列于视神经节和 Bruch 膜之间 B: 退化的 RPE 细胞之间紧密连接缺失,视神经节退化并伴有玻璃膜疣的产生 RPE: 视网膜色素上皮

## 2 干细胞用于退行性眼病的治疗现状

近些年,随着干细胞技术的快速发展和细胞工程在临床上的应用,细胞治疗已经逐渐成为一项应用前景广、治疗特异性好且安全、高效的、新的治疗手段。眼科疾病的细胞治疗由于存在所需细胞数量较低、移植技术成熟、存在免疫隔离等诸多优势,临床前及临床研究的开展更加充分。目前有望用于治疗退行性眼病的干细胞类型多样<sup>[23]</sup>,例如间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs)、视网膜前体细胞 (retinal progenitor cells, RPCs)、神经前体细胞 (neural progenitor cells, NPCs)、嗅鞘细胞 (olfactory ensheathing cells, OECs)、胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 以及诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 等<sup>[24-28]</sup>。MSCs 有多种来源,包括骨髓来源、脂肪组织来源以及胎盘和脐带血来源,具有自我更新的能力并可以分化成为多种细胞类型,但缺点是 MSCs 来源的光感受器细胞存活率和迁移效率都很低。RPCs 来源于胎儿或新生儿视网膜,在移植过程中可以迁移进入视网膜中,发育为多种细胞类型的视网膜细胞并具有一定功能,但是存在细胞来源的局限,且具有潜在免疫排斥反应<sup>[29]</sup>。NPCs 来源于新生皮层,将其移植到光感受器细胞损伤的大鼠模型中能够长期维持视觉功能<sup>[30]</sup>,并且也已开展了临床试验。OECs 是一类可以持续生长的胶质细胞,移植后可以清除堆积在视网膜下腔中的碎片,为细胞生长提供营养因子并降低 Müller 细胞的损伤反应<sup>[31]</sup>,但是移植细胞较难获得

且难以直接应用。ESCs 是来源于囊胚的内细胞团的具有多分化潜能的细胞,可以在分化为 RPE 以及光感受器细胞后用于移植<sup>[32]</sup>;iPSCs 是由体外终末分化的体细胞重编程而来的,具有与 ESC 类似的分化潜能,将 RP 患者来源的 iPSCs 分化为视网膜前体细胞后移植可以得到具有功能的 RPE 和光感受器细胞<sup>[33-34]</sup>。美国 FDA 已批准多种细胞类型用于临床治疗退行性眼病的 I/II 期临床试验(表 2)<sup>[23]</sup>。

**表 1 退行性眼病的主要常见疾病类型、症状以及主要致病基因或易感基因**

疾病类型	症状	遗传类型及主要致病基因或易感基因
RP	逐步丧失视杆细胞以及 RPE 细胞,产生夜盲症,逐步丧失视野并最终致盲 [Hims, 2003 #34845]	常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 染色体遗传以及线粒体遗传 <i>RP2</i> 、 <i>RHO</i> 、 <i>RP1</i> 、 <i>RP9</i> 、 <i>RDS/PRPH2</i>
Usher 综合征	伴有 RP 以及先天性耳聋、前庭功能障碍	常染色体隐性遗传病 <i>USH2A</i>
先天性黑矇	在 1 岁前可以导致严重的视力损害,被认为是由于光感受器细胞发育异常或者未成熟的视网膜细胞变性引起的	罕见的遗传性退行性眼病 <i>CEP290</i> 、 <i>GUCY2D</i> 、 <i>RPE65</i> 、 <i>LCA5</i> 、 <i>CRX</i>
回旋状脉络膜视网膜萎缩	儿童时期即可发生,会导致脉络膜、RPE 以及感光视网膜的萎缩	常染色体隐性遗传病 <i>OAT</i>
青少年神经节细胞样质脂褐素沉积病	也叫 Batten 病,突变基因的有多种亚型,会导致视觉丧失	一种严重的神经退行性疾病 <i>CLN1</i> 、 <i>CLN2</i>
卵黄样黄斑变性	是儿童时期开始脂褐质在 RPE 堆积引起黄斑病变的,会导致中央视力缺失,视物变形	常染色体显性遗传病 <i>BEST1</i> 、 <i>VMD2</i>
黄斑变性	是一种复杂的疾病,包括 RPE/光感受器细胞的缺失,视网膜外层变薄,Bruch 膜增厚以及脉络膜血管层萎缩	风险因子包括 <i>CFH</i> 、 <i>C2</i> 、 <i>C3</i> 、 <i>CFI</i> 、 <i>MT-ND2</i> 、 <i>ARMS2</i> 、 <i>TIMP3</i> 、 <i>CLU1</i> (以上均为易感基因)

注:RP:视网膜色素变性;RPE:视网膜色素上皮

视网膜退行性疾病最终受累的是 RPE 和光感受器细胞。目前,RPE 已经批准用于临床治疗研究,大量获得可供移植的 RPE 和光感受器细胞不仅对于视觉改善有极大的作用,而且可以降低未分化的干/祖细胞的致瘤风险。通过 ESCs 以及 iPSCs 体外定向诱导分化可以获得大量可供移植的细胞来源,因此下文将着重介绍 RPE 和光感受器细胞的临床治疗研究现状。

**2.1 针对退行性眼病中 RPE 细胞的干细胞疗法及其研究现状**

由于 RPE 有保护和支撑光感受器细胞的作用,并且在退行性眼病中较早受累,因此 RPE 移植是目前治疗退行性眼病的重要临床方案之一,人 ESCs 以及 iPSCs 来源的 RPE 细胞移植治疗都已开展了临床试验<sup>[27-28]</sup>。细胞移植的方法主要有 2

种:一种是注射悬浮的细胞;另一种是移植带膜或不带膜支撑的 RPE 单层细胞。实验研究表明,在免疫缺陷小鼠中进行 RPE 细胞长期移植不会产生肿瘤<sup>[28]</sup>。在免疫缺陷的大鼠视网膜下腔移植的人 ESCs 来源 RPE 单层细胞存活时间超过 12 个月且无肿瘤形成<sup>[35]</sup>。首例 ESCs 来源的细胞治疗在人体的临床疗效试验中,也没有发现肿瘤的迹象<sup>[36]</sup>;对 18 例接受细胞治疗患者的跟踪研究也未发现严重的安全问题<sup>[28,37]</sup>。同样,iPSCs 来源的 RPE 细胞层的移植也未发现肿瘤形成免疫排斥<sup>[27]</sup>。此外,Choudhary 等<sup>[38]</sup>开发的基于 CD59 的流式分选方案能有效净化干细胞来源的 RPE 并去除残余干细胞,进一步增加了细胞替代疗法的安全性。美国 FDA 已经批准 ESCs 分化得到的 RPE 治疗黄斑变性的临床试验<sup>[23,36]</sup>。在此研究的基础上,韩国也开展了 ESCs 分化得到的 RPE 治疗 AMD 的临床试验<sup>[39]</sup>。

**表 2 目前 FDA 批准用于治疗退行性眼病的细胞移植类型及相关临床试验**

治疗疾病类型 (临床试验批号)	临床试验阶段	移植细胞类型	国家	资助机构
干性 AMD (NCT02016508)	I/II	骨髓干细胞	埃及	Al-Azhar University
干性 AMD (NCT02590692)	I/II a	干细胞来源 RPE (有支撑物) (CPCB-RPE1)	美国	Regenerative Patch Technologies
湿性 AMD (NCT01691261)	I	干细胞来源 RPE (有支撑物)	美国	Pfizer
干性 AMD (NCT01736059)	I	CD34 <sup>+</sup> 骨髓干细胞	美国	University of California, Davis
Stargardt 症 (NCT01345006)	I/II	干细胞来源 RPE (MA09-hRPE)	美国	Ocata Therapeutics
干性 AMD (NCT01344993)	I/II	干细胞来源 RPE (MA09-hRPE)	美国	Ocata Therapeutics
干性 AMD (NCT01632527)	I/II	神经干细胞	美国	StemCells
干性 AMD (NCT01674829)	I/II	干细胞来源 RPE (MA09-hRPE)	韩国	CHA Bio and Diostech
Stargardt 症 (NCT01625559)	I	干细胞来源 RPE (MA09-hRPE)	韩国	CHA Bio and Diostech
近视性黄斑变性 (NCT02122159)	I/II	干细胞来源 RPE (MA09-hRPE)	美国	Ocata Therapeutics
干性 AMD (NCT01226628)	I	脐带 MSCs (CNTO 2476)	美国	Janssen Research and Development
AMD (NCT01518127)	I/II	自体骨髓干细胞	巴西	University of Sao Paulo
视网膜色素变性 (NCT01068561)	I/II	自体骨髓干细胞	巴西	University of Sao Paulo
AMD	I/II	单层 hiPSC-RPE (无支撑物)	日本	RIKEN

注:AMD:年龄相关性黄斑变性;RPE:视网膜色素上皮;MSCs:间充质干细胞;iPSCs:诱导性多能干细胞

在细胞替代疗法中,安全、高效的细胞来源异常重要。McGill 等<sup>[40]</sup>报道了将异种级人胚胎干细胞 (OpRegen) 衍生的 RPE 移植到 RCS 大鼠视网膜下。OpRegen RPE 细胞不仅能存

活和改善视觉功能,还能长期保护视锥和视杆细胞。此外,患者自身来源的 iPS 细胞分化后移植可以降低免疫排斥和异体细胞导致的基因多样性的风险,有望最用于基因治疗。2013 年,1 例日本女性 AMD 患者接受了全球首例自体来源的 RPE 移植<sup>[41]</sup>。随着组织工程技术的发展,细胞和仿 Bruch 膜的共同移植以及三维人胚胎干细胞来源的 RPE(3D-RPE)也逐渐进入人们的视野,为细胞疗法治疗退行性眼病提供了新的治疗思路和细胞来源<sup>[42]</sup>。

综上所述,在针对退行性眼病中 RPE 细胞的干细胞疗法的临床治疗中,安全性问题仍是关注的第一热点。关于如何使移植的干细胞不形成肿瘤和发生免疫排斥,近年来取得了较大进展,细胞替代疗法的安全性日益提高。此外,细胞来源将成为未来干细胞疗法的关注焦点,目前人 ESCs、iPSCs 和自身来源的细胞都在干细胞治疗中表现出巨大的潜力。总之,针对退行性眼病中 RPE 细胞的干细胞疗法正在不断完善,其在临床上的应用也日益广泛和安全。

## 2.2 针对退行性眼病中光感受器细胞的干细胞疗法的治疗和研究现状

退行性眼病,如 RP 和 AMD 会导致光感受器细胞损失,继而造成视力障碍。因此,RPE 移植需要在光感受器细胞受损早期尚能可逆修复时进行,或者移植进入的 RPE 细胞含有可分化成为光感受器细胞的前体细胞时,才能更好地恢复视觉功能。有研究表明,基于 ESCs 或 iPSCs 的细胞替代疗法和 CRISPR/Cas 基因编辑技术可以作为研究和治疗 RP 的新手段<sup>[43-44]</sup>。更有团队提出了一种将人骨髓 MSCs 与人 RPCs 进行联合移植治疗 RP 的方案,在 RCS 大鼠模型中的实验表明联合移植的光感受器细胞的分化率高于单一移植<sup>[45]</sup>。与治疗 RP 的思路相同,基于 ESCs 或 iPSCs 的细胞疗法在治疗 AMD 上也具有巨大潜力<sup>[46-47]</sup>。在近几年中,不同团队分别研究了小鼠 ESCs 来源的可追踪和可移植的光感受器细胞的生成和人 ESCs 来源的视网膜组织在 2 种视网膜退化的灵长类模型中移植的可行性<sup>[48-49]</sup>。又有研究表明,将发育中的视杆细胞移植入 *Crx* 基因敲除小鼠的退化视网膜中时,其表现出的神经活动与原生的光感受器细胞类似<sup>[50]</sup>。因此,体外 iPSCs 来源的视杆细胞可以为细胞替代疗法提供一个新的细胞来源。此外,Barnea-Cramer 等<sup>[51]</sup>将人 iPSCs 来源的光感受器细胞前体移植入视网膜变性晚期的小鼠中,并成功分化为光感受器细胞且与宿主细胞的视神经相连,通过视觉行为实验发现被治疗的动物的视觉功能得到了部分恢复,且功能改善程度与移植细胞的数量呈正相关。由此可见利用 ESCs 或者 iPSCs 分化成的光感受器细胞进行移植可以更为直接地达到恢复视力的目的。

为了使移植后的干细胞能有效分化为具有功能的光感受器细胞,干细胞的来源十分重要。Kruczek 等<sup>[52]</sup>发现小鼠胚胎干细胞来源的视锥细胞在终末期视网膜变性小鼠模型中表现出了很好的生产和成熟能力。Royall 等<sup>[53]</sup>也提出了一种新的培养方案可以将猪虹膜组织中一独特的神经干/祖细胞分化为神经元和视杆样细胞。鉴于人类与家猪在进化上的相似性,这

一方法在人类疾病建模和人眼干细胞的研究中具有重要价值。研究表明,RPE 细胞是一个能生成新光感受器细胞的便捷来源<sup>[55-55]</sup>。此外,来源于患者自体细胞的 iPSCs 在干细胞治疗中也有很大的潜力。Wiley 等<sup>[56]</sup>在 cGMP (current good manufacture practices) 条件下发展出了一种用来源于患者皮肤细胞的 iPSCs 制造光感受器细胞前体的临床适用性方法,并且没有发现异常增生和肿瘤的形成。但是患者来源的 iPSCs 仍然携带有致病基因,因此有团队对此展开研究,发现可以利用 CRISPR/Cas 基因编辑技术来纠正来自患者 iPSCs 的致病突变<sup>[57]</sup>。这极大地提高了来源于患者自体细胞的干细胞疗法的临床适用性。

总体来说,退行性眼病中光感受器细胞的干细胞疗法关键在于在患者体内移植干细胞能成功分化为具有功能的光感受器细胞。在这一方面,虽然在动物实验中取得了较多成果,但是在未来仍需要更多的临床验证结果;同时我们仍需要探寻能更有效地分为具有功能的光感受器细胞的干细胞来源,并增强其临床适用性。

## 3 问题与展望

众多动物实验及部分临床试验证明干细胞移植对退行性眼病治疗具有巨大潜力,但由于不同干细胞本身存在基因组或者表观遗传学改变,例如基因突变、基因拷贝数改变以及重编程过程中 DNA 甲基化水平的异常改变等<sup>[58]</sup>,均可能导致对干细胞的分化及分化后细胞功能和行为产生背景性影响,导致不同细胞系来源的视网膜细胞本身就可能存在差异性,因此干细胞来源的视网膜细胞移植的远期有效性和安全性依然有待进一步深入评估<sup>[59]</sup>。除了本文提到的干细胞来源的视网膜细胞移植,神经干细胞移植、MSCs 移植等其他类型的细胞移植临床试验也在开展中,而异体细胞移植的首要问题,即移植免疫排斥反应仍是细胞治疗的巨大挑战。为了解决上述问题,Nakatsuji 等<sup>[60]</sup>尝试建立多能性细胞库用以匹配人白细胞抗原,以此减少免疫反应。另外,异体移植带来的基因组改变仍然是一个潜在的问题,因为其中的自体细胞重编程技术中仍无法精细控制,需要进一步研究。2016 年,来自中国中山大学、四川大学、广州市康瑞生物科技有限公司和美国加州大学圣地亚哥分校、德州大学西南医学中心、哈佛大学医学院的研究人员开发出一种新的再生医学方法,通过改良的白内障手术技术,在移除先天性白内障婴儿晶状体的同时,保留并刺激自身晶状体干细胞成功再生出功能性的晶状体。该方法通过激活患者自身的内源性干细胞进行组织再生修复,相较于通过 ESCs/iPSCs 体外分化出功能细胞或组织再移植到患者体内,再生组织的结构和功能更完善,且有效避免了免疫排斥和体外多重诱导带来的潜在变异问题<sup>[61]</sup>。虽然有局限性,视网膜细胞的移植治疗依然给退行性眼病的治疗带来了希望,并且随着实验技术的不断优化,利用 ESCs 更高效地分化为各种类型的视网膜功能细胞也将会为退行性眼病的治疗提供更多的细胞来源。此外,现今发展的 CRISPR 技术可以高效特异地修复突变基因,对于退行性眼病的个性化治疗也

将产生十分积极的作用<sup>[62-65]</sup>。随着科学技术的发展,越来越多的技术可以用于退行性眼病的治疗,并且也会更为安全、有效。

## 参考文献

- [1] Rivolta C, Sharon D, DeAngelis MM, et al. Retinitis pigmentosa and allied diseases; numerous diseases, genes, and inheritance patterns [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11 (10) : 1219-1227.
- [2] Pennesi ME, Neuringer M, Courtney RJ. Animal models of age related macular degeneration [J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33 (4) : 487-509. DOI: 10. 1016/j. mam. 2012. 06. 003.
- [3] Parmeggiani F. Clinics, epidemiology and genetics of retinitis pigmentosa [J]. *Curr Genomics*, 2011, 12 (4) : 236-237. DOI: 10. 2174/138920211795860080.
- [4] Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis [J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2014, 2 (2) : e106-116 [2017-10-08]. [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(13\)70145-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(13)70145-1/fulltext). DOI: 10. 1016/S2214-109X(13)70145-1.
- [5] Daiger SP, Sullivan LS, Bowne SJ. Genes and mutations causing retinitis pigmentosa [J]. *Clin Genet*, 2013, 84 (2) : 132-141. DOI: 10. 1111/cge. 12203.
- [6] Rivolta C, Sharon D, DeAngelis MM, et al. Retinitis pigmentosa and allied diseases; numerous diseases, genes, and inheritance patterns [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11 (10) : 1219-1227.
- [7] Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, et al. Ocular findings in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa and a rhodopsin gene defect (Pro-23-His) [J]. *Arch Ophthalmol*, 1991, 109 (1) : 92-101.
- [8] Bujakowska K, Maubaret C, Chakarova CF, et al. Study of gene-targeted mouse models of splicing factor gene Prpf31 implicated in human autosomal dominant retinitis pigmentosa (RP) [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50 (12) : 5927-5933. DOI: 10. 1167/iovs. 08-3275.
- [9] Rivolta C, Sweklo EA, Berson EL, et al. Missense mutation in the *USH2A* gene; association with recessive retinitis pigmentosa without hearing loss [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 66 (6) : 1975-1978. DOI: 10. 1086/302926.
- [10] Sandberg MA, Rosner B, Weigel-DiFranco C, et al. Disease course in patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa due to the *USH2A* gene [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (12) : 5532-5539. DOI: 10. 1167/iovs. 08-2009.
- [11] Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS, et al. Gene augmentation for X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in *RPGR* [J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 5 (2) : a017392 [2017-10-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4315918/>. DOI: 10. 1101/cshperspect. a017392.
- [12] Churchill JD, Bowne SJ, Sullivan LS, et al. Mutations in the X-linked retinitis pigmentosa genes *RPGR* and *RP2* found in 8. 5% of families with a provisional diagnosis of autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54 (2) : 1411-1416. DOI: 10. 1167/iovs. 12-11541.
- [13] Marmor MF. Structure and function of the retinal pigment epithelium [J]. *Int Ophthalmol Clin*, 1975, 15 (1) : 115-130.
- [14] Johnson LV, Leitner WP, Staples MK, et al. Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration [J]. *Exp Eye Res*, 2001, 73 (6) : 887-896. DOI: 10. 1006/exer. 2001. 1094.
- [15] Hunter A, Spechler PA, Cwanger A, et al. DNA methylation is associated with altered gene expression in AMD [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53 (4) : 2089-2105. DOI: 10. 1167/iovs. 11-8449.
- [16] Blasiak J, Glowacki S, Kauppinen A, et al. Mitochondrial and nuclear DNA damage and repair in age-related macular degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (2) : 2996-3010. DOI: 10. 3390/ijms14022996.
- [17] Votvonen P, Kaarniranta K, Pääkkönen A, et al. Changes in neurophysiologic markers of visual processing following beneficial anti-VEGF treatment in macular degeneration [J]. *Clin Ophthalmol*, 2013, 7 : 437-442. DOI: 10. 2147/OPTH. S40427.
- [18] Durkin SR, Farmer LD, Kulasekara S, et al. Change in vision after retinal pigment epithelium tear following the use of anti-VEGF therapy for age-related macular degeneration [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2016, 254 (1) : 1-6. DOI: 10. 1007/s00417-015-2978-2.
- [19] Anderson DH, Radeke MJ, Gallo NB, et al. The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2010, 29 (2) : 95-112. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2009. 11. 003.
- [20] Kawa MP, Machalinska A, Roginska D, et al. Complement system in pathogenesis of AMD: dual player in degeneration and protection of retinal tissue [J/OL]. *J Immunol Res*, 2014, 2014 : 483960 [2017-09-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4168147/>. DOI: 10. 1155/2014/483960.
- [21] Despret DD, Klaver CC, Wittman JC, et al. Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration [J]. *JAMA*, 2006, 296 (3) : 301-309. DOI: 10. 1001/jama. 296. 3. 301.
- [22] Ambati J, Atkinson JP, Gelfand BD. Immunology of age-related macular degeneration [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13 (6) : 438-451. DOI: 10. 1038/nri3459.
- [23] Zarbin M. Cell-based therapy for degenerative retinal disease [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22 (2) : 115-134. DOI: 10. 1016/j. molmed. 2015. 12. 007.
- [24] Takahashi M, Palmer TD, Takahashi J, et al. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina [J]. *Mol Cell Neurosci*, 1998, 12 (6) : 340-348. DOI: 10. 1006/mcne. 1998. 0721.
- [25] Lund RD, Wang S, Lu B, et al. Cells isolated from umbilical cord tissue rescue photoreceptors and visual functions in a rodent model of retinal disease [J]. *Stem Cells*, 2007, 25 (3) : 602-611. DOI: 10. 1634/stemcells. 2006-0308.
- [26] Otani A, Dorrell MI, Kinder K, et al. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114 (6) : 765-774. DOI: 10. 1172/JCI21686.
- [27] Cramer AO, MacLaren RE. Translating induced pluripotent stem cells from bench to bedside: application to retinal diseases [J]. *Curr Gene Ther*, 2013, 13 (2) : 139-151.
- [28] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies [J]. *Lancet*, 2015, 385 (9967) : 509-516. DOI: 10. 1016/S0140-6736(14)61376-3.
- [29] West EL, Pearson RA, Barker SE, et al. Long-term survival of photoreceptors transplanted into the adult murine neural retina requires immune modulation [J]. *Stem Cells*, 2010, 28 (11) : 1997-2007. DOI: 10. 1002/stem. 520.
- [30] Wang S, Girman S, Lu B, et al. Long-term vision rescue by human neural progenitors in a rat model of photoreceptor degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (7) : 3201-3206. DOI: 10. 1167/iovs. 08-1831.
- [31] Huo SJ, Li YC, Xie J, et al. Transplanted olfactory ensheathing cells reduce retinal degeneration in Royal College of Surgeons rats [J]. *Curr Eye Res*, 2012, 37 (8) : 749-758. DOI: 10. 3109/02713683. 2012. 697972.
- [32] Yanai A, Laver C, Joe AW, et al. Efficient production of photoreceptor precursor cells from human embryonic stem cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1307 : 357-369. DOI: 10. 1007/7651\_2013\_57.
- [33] Jin ZB, Okamoto S, Xiang P, et al. Integration-free induced pluripotent stem cells derived from retinitis pigmentosa patient for disease modeling [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1 (6) : 503-509. DOI: 10. 5966/

- scem. 2012-0005.
- [34] Tucker BA, Mullins RF, Streb LM, et al. Patient-specific iPSC-derived photoreceptor precursor cells as a means to investigate retinitis pigmentosa [J/OL]. *Elife*, 2013, 2 : e00824 [ 2017 - 09 - 23 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3755341/>. DOI: 10. 7554/eLife. 00824.
- [35] Diniz B, Thomas P, Thomas B, et al. Subretinal implantation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells: improved survival when implanted as a monolayer [ J ]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54 ( 7 ) : 5087 - 5096. DOI: 10. 1167/iov. 12-11239.
- [36] Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration; a preliminary report [ J ]. *Lancet*, 2012, 379 ( 9817 ) : 713 - 720. DOI: 10. 1016/S0140-6736 ( 12 ) 60028-2.
- [37] Schwartz SD, Tan G, Hosseini H, et al. Subretinal transplantation of embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium for the treatment of macular degeneration: an assessment at 4 years [ J/OL ]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57 ( 5 ) : ORSFe1 - 9 [ 2017 - 09 - 13 ]. <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2518369>. DOI: 10. 1167/iov. 15-18681.
- [38] Choudhary P, Whiting PJ. A strategy to ensure safety of stem cell-derived retinal pigment epithelium cells [ J/OL ]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7 ( 1 ) : 127 [ 2017 - 09 - 25 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5010679/>. DOI: 10. 1186/s13287-016-0380-6.
- [39] Song WK, Park KM, Kim HJ, et al. Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients [ J ]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4 ( 5 ) : 860 - 872. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2015. 04. 005.
- [40] McGill TJ, Bohana-Kashtan O, Stoddard JW, et al. Long-term efficacy of GMP grade xeno-free hESC-derived RPE cells following transplantation [ J/OL ]. *Transl Vis Sci Technol*, 2017, 6 ( 3 ) : 17 [ 2017 - 10 - 11 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5472365/>. DOI: 10. 1167/tvst. 6. 3. 17.
- [41] Cyranoski D. Japanese woman is the first recipient of next-generation stem cells [ J/OL ]. *Nature*, 2014 [ 2017 - 10 - 09 ]. <http://www.nature.com/news/japanese-woman-is-first-recipient-of-next-generation-stem-cells-1.15915>.
- [42] 张敬学, 马建民, 王宁利. 组织工程在视网膜进行性疾病中的应用进展 [ J ]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29 ( 7 ) : 665 - 668. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 07. 022.
- Zhang JX, Ma JM, Wang NL. Research advance in application of tissue engineering in degenerative retinal diseases [ J ]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2011, 29 ( 7 ) : 665 - 668. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 07. 022.
- [43] Zheng A, Li Y, Tsang SH. Personalized therapeutic strategies for patients with retinitis pigmentosa [ J ]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15 ( 3 ) : 391 - 402. DOI: 10. 1517/14712598. 2015. 1006192.
- [44] Tucker BA, Mullins RF, Streb LM, et al. Patient-specific iPSC-derived photoreceptor precursor cells as a means to investigate retinitis pigmentosa [ J/OL ]. *Elife*, 2013, 2 : e00824 [ 2018 - 03 - 09 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3755341/>. DOI: 10. 7554/eLife. 00824.
- [45] Qu L, Gao L, Xu H, et al. Combined transplantation of human mesenchymal stem cells and human retinal progenitor cells into the subretinal space of RCS rats [ J/OL ]. *Sci Rep*, 2017, 7 ( 1 ) : 199 [ 2018 - 03 - 26 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5428026/>. DOI: 10. 1038/s41598-017-00241-5.
- [46] Forest DL, Johnson LV, Clegg DO. Cellular models and therapies for age-related macular degeneration [ J ]. *Dis Model Mech*, 2015, 8 ( 5 ) : 421 - 427. DOI: 10. 1242/dmm. 017236.
- [47] John S, Natarajan S, Parikumar P, et al. Choice of cell source in cell-based therapies for retinal damage due to age-related macular degeneration; a review [ J/OL ]. *J Ophthalmol*, 2013, 2013 : 465169 [ 2017 - 09 - 20 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3654320/>. DOI: 10. 1155/2013/465169.
- [48] Decembrini S, Koch U, Radtke F, et al. Derivation of traceable and transplantable photoreceptors from mouse embryonic stem cells [ J ]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2 ( 6 ) : 853 - 865. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2014. 04. 010.
- [49] Shirai H, Mandai M, Matsushita K, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal tissue in two primate models of retinal degeneration [ J/OL ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113 ( 1 ) : E81 - 90 [ 2017 - 10 - 01 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4711854/>. DOI: 10. 1073/pnas. 1512590113.
- [50] Homma K, Okamoto S, Mandai M, et al. Developing rods transplanted into the degenerating retina of Crx-knockout mice exhibit neural activity similar to native photoreceptors [ J ]. *Stem Cells*, 2013, 31 ( 6 ) : 1149 - 1159. DOI: 10. 1002/stem. 1372.
- [51] Barnea-Cramer AO, Wang W, Lu SJ, et al. Function of human pluripotent stem cell-derived photoreceptor progenitors in blind mice [ J/OL ]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 29784 [ 2017 - 10 - 03 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4942817/>. DOI: 10. 1038/srep29784.
- [52] Kruczek K, Gonzalez-Cordero A, Goh D, et al. Differentiation and transplantation of embryonic stem cell-derived cone photoreceptors into a mouse model of end-stage retinal degeneration [ J ]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8 ( 6 ) : 1659 - 1674. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2017. 04. 030.
- [53] Royall LN, Lea D, Matsushita T, et al. A novel culture method reveals unique neural stem/progenitors in mature porcine iris tissues that differentiate into neuronal and rod photoreceptor-like cells [ J ]. *Brain Res*, 2017, 1675 : 51 - 60. DOI: 10. 1016/j. brainres. 2017. 08. 027.
- [54] Hiler D, Chen X, Hazen J, et al. Quantification of retinogenesis in 3D cultures reveals epigenetic memory and higher efficiency in iPSCs derived from rod photoreceptors [ J ]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17 ( 1 ) : 101 - 115. DOI: 10. 1016/j. stem. 2015. 05. 015.
- [55] Wang SZ, Yan RT. The retinal pigment epithelium: a convenient source of new photoreceptor cells? [ J ]. *J Ophthalmic Vis Res*, 2014, 9 ( 1 ) : 83 - 93.
- [56] Wiley LA, Burnight ER, DeLuca AP, et al. cGMP production of patient-specific iPSCs and photoreceptor precursor cells to treat retinal degenerative blindness [ J/OL ]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 30742 [ 2017 - 10 - 08 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4965859/>. DOI: 10. 1038/srep30742.
- [57] Bassuk AG, Zheng A, Li Y, et al. Precision medicine: genetic repair of retinitis pigmentosa in patient-derived stem cells [ J/OL ]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 19969 [ 2017 - 09 - 03 ]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4728485/>. DOI: 10. 1038/srep19969.
- [58] Pera MF. Stem cells: The dark side of induced pluripotency [ J ]. *Nature*, 2011, 471 ( 7336 ) : 46 - 47. DOI: 10. 1038/471046a.
- [59] Kvant A, Grudzinska MK. Stem cell-based treatment in geographic atrophy: promises and pitfalls [ J ]. *Acta Ophthalmol*, 2014, 92 ( 1 ) : 21 - 26. DOI: 10. 1111/aos. 12185.
- [60] Nakatsuji N, Nakajima F, Tokunaga K. HLA-haplotype banking and iPSC cells [ J ]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26 ( 7 ) : 739 - 740. DOI: 10. 1038/nbt0708-739.
- [61] Lin H, Ouyang H, Zhu J, et al. Corrigendum: Lens regeneration using endogenous stem cells with gain of visual function [ J/OL ]. *Nature*, 2017, 541 ( 7638 ) : 558 [ 2017 - 08 - 23 ]. <https://www.nature.com/articles/nature19831>. DOI: 10. 1038/nature19831.
- [62] Wang H, Yang H, Shivalila CS, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering [ J ]. *Cell*, 2013, 153 ( 4 ) : 910 - 918. DOI: 10. 1016/j. cell. 2013. 04. 025.
- [63] Fu Y, Foden JA, Khayter C, et al. High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells [ J ]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31 ( 9 ) : 822 - 826. DOI: 10. 1038/nbt. 2623.
- [64] Maeder ML, Linder SJ, Cascio VM, et al. CRISPR RNA-guided activation of endogenous human genes [ J ]. *Nat Methods*, 2013, 10 ( 10 ) : 977 - 979. DOI: 10. 1038/nmeth. 2598.
- [65] Wu Y, Liang D, Wang Y, et al. Correction of a genetic disease in mouse via use of CRISPR-Cas9 [ J ]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13 ( 6 ) : 659 - 662.

DOI:10.1016/j.stem.2013.10.016.

(收稿日期:2018-04-01 修回日期:2018-09-20)

(本文编辑:刘艳)

## · 调查报告 ·

## 滨州地区早产儿眼病筛查及随访分析

纪鹏 郑华宾

256603 滨州医学院附属医院眼科

通信作者:郑华宾,Email:zhenghuabin1987@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.11.012

随着中国围产医学和新生儿学的发展和新生儿重症监护病房的普遍建立,早产儿、低体质量儿的存活率明显提高,但同时早产儿眼病,尤其是早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)在中国的发病率依然有上升趋势<sup>[1]</sup>。滨州医学院附属医院作为黄河三角洲区域医疗中心之一,参照《中国早产儿视网膜病变筛查指南(2014年)》<sup>[2]</sup>,采用第3代新生儿眼底广域成像系统(Retcam3)对区域内早产儿进行眼病筛查,并对这些患儿进行治疗及长期追踪随访,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 纳入2014年7月至2017年6月在滨州医学院附属医院就诊的符合本次筛查标准的患儿1957例3914眼,其中男1026例,女931例;出生体质量为890~2580g,平均(1674.58±376.27)g;出生孕周27~36周,平均(32.1±2.2)周。记录其性别、出生体质量、出生孕周、矫正胎龄、有无吸氧史、有无其他疾病及母亲孕期情况等临床资料。《中国早产儿视网膜病变筛查指南(2014年)》的ROP筛查标准为:(1)出生体质量<2000g,或出生孕周<32周的早产儿和低体质量儿;(2)对患有严重疾病或有明确较长时间吸氧史,儿科医师认为比较高危的患儿可适当扩大筛查范围;(3)首次筛查应在生后4~6周或矫正胎龄31~32周开始。由于中国地域广阔,不同环境和地区ROP的发病率也会存在差异,因此,参考山东省济南地区的筛查标准<sup>[3]</sup>,本次筛查中将筛查标准适当放宽至出生体质量<2500g,或出生孕周<34周的早产儿和低体质量儿,以尽量减少遗漏。参照《中国早产儿视网膜病变筛查指南(2014年)》,本着尽量减少遗漏又不筛查全部早产儿的原则,本次筛查ROP的入选标准:(1)出生体质量<2500g,或出生孕周<34周的早产儿和低体质量儿;(2)对患有严重疾病或有明确较长时间吸氧史,儿科医师认为比较高危的患儿可适当扩大筛查范围;(3)首次筛查应在生后4~6周或矫正胎龄31~32周开始。除了ROP,本研究中还纳入视网膜出血、先天性白内障、视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)和原始永存玻璃体增生症(persistent hyperplastic primary vitreous, PHPV)等患儿。以符合《中国早产儿视网膜病变筛查指南(2014年)》标准的患儿为指南组,本次筛查的患儿为筛查组。

**1.2 筛查方法** 筛查前详细记录所筛查新生儿的胎龄、体质量、分娩方式、有无窒息史、吸氧史等资料,并充分告知患儿监护人筛查风险、注意事项,并签署知情同意书。筛查前1h禁食,复

方托吡卡胺滴眼液点双眼扩瞳,每次1滴,间隔10min,共3次,注意按压泪囊区以减少药物在鼻腔黏膜中的吸收。扩瞳后用盐酸奥布卡因滴眼液表面麻醉,小儿开睑器开睑,涂左氧氟沙星眼用凝胶,采用Retcam3系统(美国Clarity公司)进行眼底拍摄,记录视网膜发育情况及其他眼底病变,发现眼前节病变时加用手持裂隙灯显微镜仔细观察并记录,检查完毕后常规应用妥布霉素滴眼液预防感染。所有检查均由同一经验丰富的眼科医师完成,由新生儿医师辅助完成,检查过程中所有患儿均未出现角膜擦伤、玻璃体积血、眼心反射及呼吸心跳骤停等不良反应。

**1.3 随访及干预方法** 对于ROP患儿按照《中国早产儿视网膜病变筛查指南(2014年)》进行随访,并根据病情采取激光或玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物进行治疗;对于视网膜出血患儿每2周复查至出血基本吸收;先天性白内障患儿择期手术;RB及PHPV患儿转诊治疗;虹膜残膜、角结膜皮样瘤等患儿长期随访。

**1.4 统计学方法** 采用SPSS 19.0统计学软件(SPSS inc, Chicago, IL, USA)进行统计分析,2个组患儿不同疾病发病率的比较采用 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

## 2.1 2个组患儿各病种例数及发病率比较

本次纳入患儿总例数为1957例,其中指南组1468例,筛查组1957例。本次筛查中早产儿眼病以ROP和视网膜出血为主,发病率较高,先天性白内障、RB、PHPV、虹膜残膜及角结膜皮样瘤患儿例数较少。指南组和筛查组ROP和视网膜出血的发病率比较,差异均无统计学意义( $\chi^2=2.600, P=0.107; \chi^2=0.064, P=0.800$ ) (表1)。

表1 2个组患儿各病种例数及发病率比较(n/%)

组别	总例数	ROP	视网膜出血	先天性白内障	RB	PHPV	虹膜残膜	角结膜皮样瘤
指南组	1468	186/12.67	119/8.11	8/0.54	0/0.00	0/0.00	12/0.82	3/0.20
筛查组	1957	213/10.88	154/7.87	11/0.56	1/0.05	1/0.05	17/0.87	5/0.26
$\chi^2$ 值		2.600	0.064	-	-	-	-	-
P值		0.107	0.800	-	-	-	-	-

注:ROP:早产儿视网膜病变;RB:视网膜母细胞瘤;PHPV:原始永存玻璃体增生症;-:未进行统计学分析( $\chi^2$ 检验)