

## Leber 遗传性视神经病变研究进展

张阳阳 综述 庞继景 审校

**【摘要】** Leber 遗传性视神经病变(LHON)是临床上常见的遗传性视神经病变,是一种以母系遗传为特征的线粒体疾病,主要由线粒体 DNA(mtDNA)3 个原发突变 G11778A、G3460A 和 G14484C 引起。LHON 多见于青壮年男性,主要临床表现为无痛性双侧视力下降或丧失和中心盲点。不完全外显和性别偏好是该病亟待解决的两大难题。虽然目前尚无有效的预防及治疗措施,但在美国进行的 LHON 基因治疗临床试验已取得初步成功。本文就 LHON 的临床表现、发病机制、分子遗传学特点、动物模型、基因治疗等进行介绍,进一步加强对本病的认识。

**【关键词】** Leber 遗传性视神经病; 线粒体 DNA; 动物模型; 基因治疗

**Research progress of Leber hereditary optic neuropathy** Zhang Yangyang, Pang Jijing. School of Ophthalmology & Optometry, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China  
Corresponding author: Pang Jijing, Email: jpangoph@hotmail.com

**【Abstract】** Leber hereditary optic neuropathy (LHON) is one of the most common maternally transmitted hereditary retinal diseases, which is mainly caused by one of the three point mutations in mitochondrial DNA (mtDNA) (G11778A, G3460A and G14484C). LHON is characterized by painless, acute or sub-acute bilateral visual loss in young men with central scotoma. Incomplete dominance and gender bias are two puzzles of this disease. Although currently there is no effective therapy to prevent or cure the LHON, the ongoing clinical trials of gene therapy have showed initial success in some LHON patients with G11778A mutation. Here we summarized recent research progress of LHON, focusing on the clinical features, molecular and pathogenic mechanisms, animal models, and gene therapy of it.

**【Key words】** Leber hereditary optic neuropathy; Mitochondrial DNA; Animal model; Gene therapy

Leber 遗传性视神经病变(Leber hereditary optic neuropathy, LHON)是一种罕见母系遗传的致盲眼病,主要累及视盘黄斑束纤维,导致视神经退行性病变的线粒体遗传性疾病。LHON 临床表现为双眼同时或先后急性或亚急性中心视力下降,常伴有色觉障碍,并且临床无有效治疗方法。LHON 好发于男性,任何年龄组均可发病,但以青春期多发<sup>[1]</sup>。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变是导致其发病的主要分子基础。目前为止,已发现有 50 多个 mtDNA 突变与 LHON 有关<sup>[2]</sup>。大多数 LHON 由 G11778A、G3460A 和 T14484C 3 个原发致病突变中的一个所致<sup>[3]</sup>。不完全显性和性别偏好是该病的两大显著特征<sup>[4]</sup>。

### 1 临床表现

LHON 发病初期一般表现为单眼无明显诱因的视力逐渐下降,视物模糊,少数患者伴有轻度色觉减退。眼底可见视盘

充血、发红、边界模糊;视网膜血管扩张、迂曲;有时还会伴有视盘附近视网膜神经纤维层的出血及神经纤维肿胀。多数患者呈典型的视神经炎样视野损害,如中心暗点或中心盲点;视野损害的发生率与视力下降程度有关。有报告显示,LHON 患者的最终视力依据不同突变类型而不同,可为无光感~0.4。以原发性基因位点突变为例,11778 位点突变患者无光感,3460 位点突变患者可保留部分光感,15257 和 14484 位点突变患者分别可降至手动/眼前和数指/眼前<sup>[5]</sup>。

24% 的 LHON 患者偶尔伴随与多发性硬化类似的症状,如头痛、眼部不适、Uhthoff 现象(在运动或热水浴后短暂性视力模糊)。9% 的患者表现有预激综合征,还有患者伴有痉挛性截瘫、痴呆、耳聋、共济失调等神经系统症状<sup>[6]</sup>。

LHON 的各种原发致病突变位点在不同种族中的分布情况不同,白种人中 90% 以上的 LHON 患者有 G11778A、G3460A、T14484C 位点中的一种突变,欧洲 LHON 人群中这 3 个位点的突变率分别为 50%~70%、15%~25% 和 15%;亚洲人群 LHON 家系中 G11778A 位点突变率很高,为 90%,其中 79% 是男性,而 G3460A、T14484C 突变所占比例却很少<sup>[7]</sup>。在日本患者中,G11778A 位点突变率约为 87%,而 G3460A 和 T14484C 突变率分别为 4% 和 9%<sup>[8]</sup>。在中国大陆地区 LHON

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.08.018

基金项目:国家自然科学基金项目(81371060)

作者单位:325027 温州医科大学眼视光学院

通信作者:庞继景,Email:jpangoph@hotmail.com

患者中, G11778A、G3460A 和 T14484C 位点的突变率分别为 92.9%、1.4% 和 5.7%, 与日本、中国台湾和韩国报道的结果大致相同。以上研究说明 LHON 患者 3 种 mtDNA 原发性突变的频谱存在种族差异<sup>[9]</sup>。

## 2 致病基因

自 1988 年 Wallace 等<sup>[10]</sup>发现第一个与 LHON 相关的 mtDNA 突变位点 G11778A 后, mtDNA 突变被普遍认为是导致其发病的主要分子基础, 并先后报道已有 50 多个 mtDNA 基因突变与 LHON 有关<sup>[2]</sup>, 其中 90% ~ 97% 的 LHON 由 G11778A、G3460A 和 T14484C 原发致病突变中的一个所致<sup>[11]</sup>。

基于遗传、临床表现、生物化学等研究, G11778A、G3460A 和 T14484C 位点突变被认为是原发性突变, 可以单独致病。这 3 个原发性突变的表达会大大增加患者致盲的可能性<sup>[12]</sup>, 而且在正常人群中未发现该突变。其他 mtDNA 基因突变被认为是继发性突变, 该类基因突变可在正常人群中存在, 但频率明显低于 LHON 患者<sup>[13]</sup>。

G11778A 位点突变是由于线粒体 *ND4* 基因编码区 11778 位点的 G>A 突变, 造成蛋白中 340 位精氨酸转换为组氨酸。G3460A 突变是线粒体 *ND1* 3460 位点上 G>A 突变, 使其编码的蛋白 52 位丙氨酸转换成苏氨酸。T14484C 突变可见于同卵双生但其母亲正常的 LHON 患者<sup>[12]</sup>。由线粒体 *ND6* 基因编码区 14484 位点 T>C 突变, 使得其编码的蛋白 64 位蛋氨酸转换成缬氨酸。这些突变使线粒体中电子呼吸链酶复合物 I 的活性降低, 细胞氧化和呼吸功能丧失, 对能量需求较大的视神经组织影响尤为严重, 最终造成前部视神经无髓纤维及神经节细胞的轴突退行性变性而使视力受损<sup>[13-14]</sup>。

除上述 3 个原发性突变位点外, 线粒体 *ND1* T3394C、*ND1* T3866C、*tRNA<sup>Met</sup>* A4435G、*ND4* G11696A、*ND5* T12338C、*ND6* T14502C、*tRNA<sup>Glu</sup>* A14693G、*tRNA<sup>Thr</sup>* A15951G 突变也可能与 LHON 的致病相关<sup>[15]</sup>。Zhou 等<sup>[16]</sup>研究证明 *ND4* G11696A 突变位点与 LHON 相关, G11696A 参与编码缬氨酸, 位于 *ND4* 亚基上的一个跨膜区, 其突变使 *ND4* 亚基 313 位非保守的缬氨酸变成异亮氨酸。*ND5* T12338C 突变类似于 *ND1* T3308C 突变<sup>[17]</sup>, 该突变使得 *ND5* 基因转录起始位点向后移动 2 个密码子, 即合成的多肽链比正常少 2 个氨基酸, 可能会影响 *ND5* 编码蛋白的功能。此突变还可能影响 *tRNA<sup>Leu(CUN)</sup>* 前体的合成和加工过程, 使 *tRNA<sup>Leu(CUN)</sup>* 的空间结构和功能稳定性发生改变, 进而造成 *tRNA* 代谢功能障碍。这两方面可能导致线粒体蛋白合成功能受损, 从而造成线粒体代谢功能障碍, 使 ATP 产生减少, 最终引起视网膜和视神经发生病变。线粒体单体型进化树分析表明, 线粒体 *ND5* T12338C 突变是 mtDNA 单体型 F2 的一个标志<sup>[18]</sup>, 说明携带有 T12338C 突变的线粒体单体型 F2 可能在 LHON 的表型表达中起作用。而其他突变位点属于多态性位点, 可能不影响 LHON 的表型表达。*ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 为同质性突变, 可同时存在于不同遗传背景的家系中, 携带这 2 个位点突变的家系中患者视力障碍、发病年龄、性别等与已报道的其他突变位点家系相似, 这表明

G11696A 和 T12338C 突变可能在 LHON 的发生中起协同作用, 与 LHON 相关。G11696A 和 T12338C 突变的外显率很低, 说明该突变本身不足以造成 LHON 的表型表达, 提示可能存在其他修饰因子, 如环境和核修饰基因等可对这 2 个 LHON 家系患者发病起作用。

## 3 发病机制

虽然所有人视网膜细胞中均存在 mtDNA 突变, 但在 LHON 患者中, mtDNA 突变主要发生在视盘黄斑束区的视网膜神经节细胞 (retinal ganglial cells, RGCs) 和视神经轴突中, 较少发生在光感受器细胞和视网膜色素上皮细胞中, 其发生可能与 RGCs 独特的能量需求、球后视神经具有较长的轴突和无髓神经纤维向有髓神经纤维过渡有关。文献报道能量损耗引起的线粒体功能障碍可以扰乱轴突运输, 而轴突运输由驱动蛋白和动力蛋白启动, 该启动过程需要大量的 ATP<sup>[19-20]</sup>。因此, 在 RGCs 的细胞质以及线粒体内驱动蛋白和动力蛋白质合成的异常可能导致视力丧失和退化。大多数 LHON 细胞凋亡由突变后 NADH 电子呼吸链酶复合物 I 的活性下降引起<sup>[21]</sup>。通过在以半乳糖为唯一碳来源的培养基上培养 LHON 细胞发现, 细胞的凋亡是通过  $Ca^{2+}$ -依赖<sup>[22]</sup> 和 Caspase 非依赖途径<sup>[23-24]</sup> 来实现, 同时伴随凋亡诱导因子、细胞色素 C 和核酸内切酶 G (Endo G) 从线粒体释放到细胞质中。在这种限制性基质培养基条件下, mtDNA 的 G3460A 和 T14484C 突变比 G11778A 突变更易导致细胞凋亡<sup>[24]</sup>, 而具有正常 mtDNA 的细胞不受该培养基的影响。携带 *ND4* G11778A 或 *ND1* G3460A 突变的骨肉瘤杂合细胞可导致 Fas 诱导的细胞凋亡。

病理生理学研究发现氧化应激机制参与 LHON 的发病。在对 *ND4* G11778A、*ND1* G3460A 和 *ND6* T14484C 突变 LHON 患者线粒体的骨肉瘤杂合细胞株进行研究发现, 谷氨酸转运障碍引起细胞兴奋性毒性。兴奋性氨基酸转运蛋白 1 活性缺失诱导细胞产生氧化应激并增加了 RGCs 线粒体中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的含量, 进而激活 RGCs 的细胞凋亡通路, 导致轴突的缺失以及视神经萎缩<sup>[25]</sup>。

## 4 异质性和不完全外显性

一般来说, 1 个细胞中含有 100 ~ 10 000 个线粒体, 每个线粒体有 2 ~ 10 个 mtDNA 分子, 部分 mtDNA 分子突变会造成突变的异质性。mtDNA 拷贝数很高, 由于不同组织对能量的需求不同, mtDNA 的分布也不均匀<sup>[26]</sup>。同质性是指所有细胞的线粒体含有相同的野生型 DNA 或突变 DNA。野生型和突变的线粒体 DNA 同时存在则被称为异质性。LHON 家族中, 大多数致病 mtDNA 突变具有同质性, 约有 14% 的成员表现为异质性突变。在临床上, 同质性和异质性突变患者的临床表现无差异<sup>[27]</sup>。

致病突变的异质性高低可影响线粒体疾病的发生<sup>[28]</sup>。有报道指出当原发突变的异质性低于 60% 时, 疾病的发生率较低<sup>[19]</sup>, 但也有报道显示, 即使原发突变的异质性程度较低, 并且不携带其他继发突变, 患者也会发病<sup>[29]</sup>, 因此, LHON 原发突

变的异质性高低和发病关系具有家族特异性和家系成员异质性。有研究表明,在中国 LHON 患者的原发突变异质性的发生率很低,在 479 个携带 G11778A 的患者中,仅 1 例(约占 0.2%)患者被检出为异质性突变,T14484C 突变患者的异质性程度为 5.8%<sup>[30]</sup>,G3460A 突变患者的异质性程度为 12.5%,先证者 G3460A 突变的异质性程度约为 40%,低于中国携带 G3460A 的 LHON 家系的总体外显率(25.6%)<sup>[31]</sup>,推测 G3460A 突变的异质性可能是导致该家系外显率较低的一个原因。

在一些异质性 LHON 家系中,突变型 mtDNA 的比例随着代数的增加而逐渐升高<sup>[32-33]</sup>。mtDNA 原发致病突变的异质性程度增加到 75%~80% 会增加 LHON 患者视觉缺失的风险。Howell 等<sup>[33]</sup>在一携带 ND4 G11778A 突变的女性患者标本中发现,突变型 mtDNA 在视神经中占 95%,在视网膜中占 100%,而在外周血白细胞中却只占 33%,说明 mtDNA 在不同组织中具有不同的突变易感性。然而,在一 LHON 家系中,一个有 98% mtDNA 突变患者失去视觉,而他的 1 个 100% mtDNA 突变的弟弟却无临床症状,即女性患者或者突变携带者的后代均遗传了致病性突变,但并非所有的后代都会发病,这在临床称为不完全显性,也是 LHON 的重要遗传特点。

临床收集到的绝大多数中国 LHON 患者存在 G11778A 突变,但该致病突变基本上都表现为同质性。LHON 在同质性突变家族中表达的风险男性为 30%~50%,女性为 5%~15%<sup>[27]</sup>。Chinnery 等<sup>[19]</sup>研究表明,携带白细胞源性 mtDNA 同质性 G11778A 的母亲较突变型低于 80% 的母亲更容易生出有临床表现的儿子。但也有研究对这一结论表示质疑,认为这是白细胞与神经细胞异质性水平存在差异的缘故<sup>[27]</sup>。

## 5 动物模型

LHON 是由 mtDNA 突变引起的疾病,因此成为研究线粒体疾病极好的模型。LHON 的遗传学研究已超过 20 年,然而有关 RGCs 和视神经变性导致视觉障碍的致病机制知之甚少。动物模型的缺乏也是线粒体疾病研究普遍存在的问题,因为在呼吸链上基因的完全敲除往往导致动物模型的死亡<sup>[34]</sup>。然而,近年通过一些方法建立了一些 LHON 动物模型。

Zhang 等<sup>[35]</sup>通过给小鼠注射不可逆的复合体 I 抑制剂鱼藤酮构建了首个 LHON 动物模型,组织学分析显示小鼠在注射鱼藤酮后 1 d,RGCs 层变薄 43%。Qi 等<sup>[36]</sup>将有 G11778A 突变的 MT-ND4 蛋白转入小鼠的视网膜神经母细胞中,结果发现一系列表型的变化,如细胞存活率降低、凋亡增加、氧化自由基水平增高、视神经萎缩等。Ellouze 等<sup>[37]</sup>利用电穿孔技术将突变的 MT-ND4 蛋白转入小鼠的眼球内,结果发现小鼠出现失明症状,随后又用野生型的 MT-ND4 蛋白对其进行拯救,发现失明的小鼠视力有所恢复,证明 LHON 的原发突变 G11778A 能单独发挥损伤细胞及影响视力。Tachibana 等<sup>[38]</sup>对替换了线粒体的猴卵母细胞进行培养,并将其成功培育成幼猴,遗传学鉴定证明 3 只培育成功的猴的细胞核基因均来自亲本,而 mtDNA 来自正常捐献者。这项研究使 mtDNA 突变引起的线粒体病患者

(包括 LHON 患者)看到了治愈的曙光,但是该技术存在伦理学方面的争论。另外,应用该技术培育出的幼猴未经过长期的观察,不能确定这项技术是否存在某些未知的负面影响。

## 6 基因治疗临床前试验

基因治疗的目的是通过在视网膜表达有功能的线粒体蛋白来直接治疗遗传性基因缺陷疾病。基因治疗在 LHON 的应用主要为 mtDNA 编码基因在细胞核的异位表达<sup>[39]</sup>。由于线粒体双层膜较难突破,一个可能的解决方案是依靠线粒体基因异位表达技术而完全绕过线粒体基因组<sup>[40]</sup>。相关线粒体基因重组后可以通过腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)载体有效地转染到细胞核内,其编码的蛋白质具有特定的靶向序列,以促进蛋白有效地导入线粒体内来补偿缺失或异常的线粒体蛋白,这种基因疗法首次 LHON 杂交细胞实验中被证实<sup>[39,41]</sup>。随后,在 LHON 啮齿类动物模型中,突变的 ND4 G11778A 复合物 I 亚基的异位表达能够恢复 RGCs 和改善视功能<sup>[42]</sup>。这些开创性的实验为更进一步研究灵长类动物和最终人类 LHON 患者铺平了道路。然而,值得注意的是转入线粒体的野生型 ND4 亚基是否能和线粒体内的复合体 I 融合以产生稳定的功能单元<sup>[43]</sup>。

目前存在 2 种基于细胞核异位表达的基因治疗方法:一种方法是将超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2) 基因加载到 AAV 载体并转染细胞核基因组,在 G11778A LHON 超表达细胞株中,SOD2 清除 ROS 并抑制细胞凋亡,增加细胞存活<sup>[36]</sup>,因此巩固细胞的抗氧化防御系统,可作为 LHON 基因替代疗法的补充方法;另一种方法是通过 Ndi1 (NADH dehydrogenase internal 1) 的异位表达来替换酵母线粒体中 NADH 氧化酶。Ndi1 是一种多功能酶,可以绕过异常的复合物 I 来恢复下游电子转移,同时抑制 ROS 的过量产生<sup>[44]</sup>。LHON 大鼠模型中,酵母 Ndi1 基因的异位表达可以部分恢复视网膜视神经变性造成的视功能损害<sup>[44]</sup>。

直接将遗传物质导入线粒体有技术上的困难,最近有研究表明可以通过 2 种完全不同的基因工程方法实现。在一项研究中,分离健康志愿者的全部 mtDNA 分子与人重组线粒体转录因子 A 络合,组成遗传重组体,能够直接进入细胞。在 LHON G11778A 的细胞株中,该技术通过线粒体生物发生学恢复细胞的呼吸作用和 ATP 合成<sup>[45]</sup>。在另一项研究中,将一线粒体靶向序列连接到有 ND4 亚基基因的 AAV 载体上,使得野生型线粒体 ND4 基因能进入线粒体,成功地治疗了 G11778A 的杂交细胞和视神经萎缩小鼠模型<sup>[41]</sup>。线粒体基因传递治疗有非常好的应用前景,但是这些研究需进一步验证其重复性和可行性。

## 7 基因治疗临床试验

既往研究表明,啮齿类动物中野生型 ND4 的异位表达没有造成视觉功能异常和玻璃体、视网膜、视神经的病理改变<sup>[46]</sup>。在灵长类模型中,人类正常 ND4 的异位表达也仅出现轻微短暂的炎症,OCT 和图形视网膜电图(electroretinogram,

ERG)均未显示视网膜出现结构和功能异常<sup>[47]</sup>,这些结果表明设计制备的转基因载体可用于 LHON G11778A 的 I 期临床安全性试验<sup>[39]</sup>。

最近在美国巴斯康帕默眼科研究所和阿密大学米勒医学院进行了为期 1 年的 LHON 基因治疗临床试验的治疗前研究,研究发现 25 例 G11778A LHON 患者和 21 例 G11778A 携带者在视力丧失 32 个月后,视网膜神经纤维层(retinal nerve fibre layer, RNFL)的平均厚度为 78.3  $\mu\text{m}$ ,其中 LHON 患者为 63.5  $\mu\text{m}$ ,携带者为 100.7  $\mu\text{m}$ ,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。LHON 患者的图形 ERG 振幅(大约为正常人的 40%)低于携带者(正常人的 94%),差异有统计学意义( $P < 0.01$ )<sup>[48]</sup>。该研究团队于 2008 年 9 月至 2012 年 3 月招募了 44 例具有 G11778A 突变的 LHON 患者,不考虑患者视力丧失发生的时间,患者每 6 个月检测 1 次,截至 2012 年 8 月,在 6~36 个月内对这些患者进行了至少 1 次的随访,在自然观察阶段的随访中,以每例患者任意一眼首次能提高 15 个或以上 ETDRS 字母(大约是美国视力表的 3 行)作为视力改善的标准,其中 6 例 7 眼(占 14%)视力变差,38 例 68 眼(占 86%)视力保持稳定,8 例 13 眼(占 18%)视力改善,但在发病后的 24 个月内,视力的改善未超过 20/100<sup>[49]</sup>。

该研究还发现,在 15 例有确切双眼发病时间的患者中,有 8 例(占 53%)在一眼视力丧失 2 个月内发生了对侧眼的视力丧失,4 例(占 27%)发生在 2~6 个月,2 例(占 13%)发生在 6~12 个月,1 例(占 7%)在一眼视力丧失后 30 个月对侧眼仍保持良好视力。在研究开始时发病时间已超过 36 个月的患者中,未发现患者有 15 个 ETDRS 字母以上的视力提高,但 3 例 4 眼在症状出现 20 个月视力提高了 15 个 ETDRS 字母。然而末次随访中,其中 3 眼的视力水平仍低于 30 个 ETDRS 字母(20/200),1 眼视力提高到 51 个 ETDRS 字母(20/100)<sup>[49]</sup>。该研究结果表明 LHON G11778A 患者自发性视力改善是不常见的、局限的和有时间限制的。

研究者对 LHON 患者分成 2 个组进行 I/II 期基因治疗临床试验来测试其安全性和有效性,并且仅对视力较差眼进行试验治疗。计划如下:第 1 组(慢性组):患者视力丧失 12 个月或以上,双眼视力下降到能看到 30 个 ETDRS 字母(20/200)及以下;第 2 组(急性组):患者双眼视力丧失 12 个月以内,双眼视力下降到能看到 70 个 ETDRS 字母(20/40)及以下;开始治疗视力情况较好的第 3 组(急性较好组):患者一眼发病 12 个月以内,视力下降到仅能看 70 个 ETDRS 字母(20/40)或更少,对侧眼视力大于 70 个 ETDRS 字母(20/40)。监测 2 个月以上,观察基因治疗在维持较好眼的视力方面是否有效<sup>[49]</sup>。

此研究通过比较注射眼视力的改善情况和自然观察阶段的视力自发改善情况来评价预后。在自然观察阶段,符合视力丧失时间和视力情况标准的患者人数第 1 组为 25 人,第 2 组为 9 人,第 3 组为 3 人。第 1 组(慢性组)和第 2 组治疗的有效标准为在治疗后 12 个月注射眼视力提高达到了 15 个 ETDRS 字母的有效标准且视力超过 70 个 ETDRS 字母(20/40);而在自然观察阶段,第 1 组中仅有 1 例 1 眼(占 4%)达到了视力改善标准,第 2 组中仅有 2 例 3 眼(占 22%)达到视力改善标准,

第 3 组(急性较好组)治疗有效标准为患者视力大于 70 个 ETDRS 字母的眼应该在注射后维持视力仍然大于 70 个 ETDRS 字母;而在自然观察阶段,仅有 1 例患者(占 33%)视力大于 70 个 ETDRS 字母(20/40)且在随访的 12 个月中维持良好的视力<sup>[49]</sup>。

虽然该试验自然观察阶段结果可能欠准确,尤其是第 2 组和第 3 组的数据因为样本量小、时间较短,发病眼视力自我改善的发生率可能不够准确,但是这些数据对设计临床 III 期试验是很有用的。第 1 组数据表明,在不进行治疗的情况下,长期保持较好视力是很罕见的。第 2 组和第 3 组自然观察阶段视力自我改善的发生率可以通过延长 1 年的随访期来评估。

2015 年 5 月在美国召开的 ARVO 大会上,该研究团队刚刚进行的临床试验取得了初步成功:发病 7~9 个月的患者经过基因治疗后视力有所恢复<sup>[51]</sup>。将来的大样本、长时间临床试验可以验证在一眼已经发病,对另一未发病眼的基因替代疗法能否长久阻止该眼的发病。

## 参考文献

- [1] 杜卫东,吕永梅,汤华阳,等. Leber 遗传性视神经病变线粒体 DNA 原发性突变位点的分析[J]. 疾病控制杂志, 2006, 10(6): 574-579.
- [2] Brandon MC, Lott MT, Nguyen KC, et al. MITOMAP: a human mitochondrial genome database-2004 update[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33: D611-613. doi:10.1093/nar/gki079.
- [3] Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, et al. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy[J]. Am J Hum Genet, 1996, 59(2): 481-485.
- [4] 张阿梅,姚永刚. Leber 遗传性视神经病变研究进展和挑战[J]. 遗传, 2013, 35(2): 123-135. doi:10.3724/SP.J.1005.2013.00123.
- [5] Chan JW. Optic nerve disorders: diagnosis and management[M]. New York: Springer Science, 2007: 171-201.
- [6] 韦企平,孙艳红. Leber 遗传性视神经病变的临床和基础研究现状[J]. 中国中医眼科杂志, 2010, 20(2): 63-66.
- [7] Yen MY, Wang AG, Chang WL, et al. Leber's hereditary optic neuropathy—the spectrum of mitochondrial DNA mutations in Chinese patients[J]. Jpn J Ophthalmol, 2002, 46(1): 45-51.
- [8] Leber T. Über hereditäre und congenital-angelegte Sehnervenleiden[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1871, 17(2): 249-291.
- [9] 郭向明,贾小云,肖学珊,等. 中国人 Leber 遗传性视神经病变线粒体 DNA 突变频谱[J]. 中华眼底病杂志, 2003, 19(5): 288-291.
- [10] Wallace DC, Singh G, Lott MT, et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy[J]. Science, 1988, 242(4884): 1427-1430.
- [11] Man PY, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy[J]. J Med Genet, 2002, 39(3): 162-169.
- [12] Biousse V, Brown M, Newman N, et al. De novo 14484 mitochondrial DNA mutation in monozygotic twins discordant for Leber's hereditary optic neuropathy[J]. Neurology, 1997, 49(4): 1136-1138.
- [13] Sadun AA, Carelli V, Salomao SR, et al. Extensive investigation of a large Brazilian pedigree of 11778/haplogroup J Leber hereditary optic neuropathy[J]. Am J Ophthalmol, 2003, 136(2): 231-238.
- [14] Man P, Griffiths P, Brown D, et al. The epidemiology of Leber hereditary optic neuropathy in the North East of England[J]. Am J Hum Genet, 2003, 72(2): 333-339.
- [15] 冀延春,刘晓玲,赵福新,等. 线粒体 T12338C 突变可能是与 Leber 遗传性视神经病变相关的突变位点[J]. 遗传, 2011, 33(4): 322-328. doi:10.3724/SP.J.1005.2011.00322.
- [16] Zhou X, Wei Q, Yang L, et al. Leber's hereditary optic neuropathy is

- associated with the mitochondrial ND4 G11696A mutation in five Chinese families [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340 (1) : 69-75.
- [17] Li X, Fischel GN, Schwartz F, et al. Biochemical characterization of the mitochondrial tRNA<sup>Ser</sup> (UCN) T7511C mutation associated with nonsyndromic deafness [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (3) : 867-877.
- [18] Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, et al. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15 (13) : 2076-2086.
- [19] Chinnery PF, Andrews RM, Turnbull DM, et al. Leber hereditary optic neuropathy: does heteroplasmy influence the inheritance and expression of the G11778A mitochondrial DNA mutation? [J]. *Am J Med Genet*, 2001, 98 (3) : 235-243.
- [20] Brady ST, Lasek RJ, Allen RD. Video microscopy of fast axonal transport in extruded axoplasm: a new model for study of molecular mechanisms [J]. *Cell Motil*, 1985, 5 (2) : 81-101.
- [21] Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Optic nerve degeneration and mitochondrial dysfunction: genetic and acquired optic neuropathies [J]. *Neurochem Int*, 2002, 40 (6) : 573-584.
- [22] Wong A, Cortopassi G. mtDNA mutations confer cellular sensitivity to oxidant stress that is partially rescued by calcium depletion and cyclosporin A [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 239 (1) : 139-145.
- [23] Zanna C, Ghelli A, Porcelli A, et al. Apoptotic cell death of cybrid cells bearing Leber's hereditary optic neuropathy mutations is caspase independent [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1010 (1) : 213-217. doi: 10.1196/annals.1299.037.
- [24] Zanna C, Ghelli A, Porcelli A, et al. Caspase-independent death of Leber's hereditary optic neuropathy cybrids is driven by energetic failure and mediated by AIF and Endonuclease G [J]. *Apoptosis*, 2005, 10 (5) : 997-1007. doi: 10.1007/s10495-005-0742-5.
- [25] Koilkonda RD, Guy J. Leber's hereditary optic neuropathy-gene therapy: from benchtop to bedside [J/OL]. *J Ophthalmol*, 2010, 2011 : 179412 [2015-01-06]. <http://www.hindawi.com/journals/joph/2011/179412>. doi: 10.1155/2011/179412.
- [26] Lemire B. Mitochondrial genetics [J]. *WormBook*, 2005, 14 : 1-10. doi: 10.1895/wormbook.1.25.1.
- [27] Huoponen K. Leber hereditary optic neuropathy: clinical and molecular genetic findings [J]. *Neurogenetics*, 2001, 3 (3) : 119-125.
- [28] Phasukkijwatana N, Chuenkongkaew WL, Suphavilai R, et al. Transmission of heteroplasmic G11778A in extensive pedigrees of Thai Leber hereditary optic neuropathy [J]. *J Hum Genet*, 2006, 51 (12) : 1110-1117. doi: 10.1007/s10038-006-0073-6.
- [29] Jacobi FK, Leo-Kotter B, Mittelviehhaus K, et al. Segregation patterns and heteroplasmy prevalence in Leber's hereditary optic neuropathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 (6) : 1208-1214.
- [30] Yu D, Jia X, Zhang AM, et al. Mitochondrial DNA sequence variation and haplogroup distribution in Chinese patients with LHON and m.14484T>C [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5 (10) : e13426 [2015-03-02]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013426>. doi: 10.1371/journal.pone.0013426.
- [31] Yu D, Jia X, Zhang AM, et al. Molecular characterization of six Chinese families with m.3460G>A and Leber hereditary optic neuropathy [J]. *Neurogenetics*, 2010, 11 (3) : 349-356. doi: 10.1007/s10048-010-0236-7.
- [32] Smith KH, Johns DR, Heher KL, et al. Heteroplasmy in Leber's hereditary optic neuropathy [J]. *Arch Ophthalmol*, 1993, 111 (11) : 1486-1490.
- [33] Howell N, Xu M, Halvorson S, et al. A heteroplasmic LHON family: tissue distribution and transmission of the 11778 mutation [J]. *Am J Hum Genet*, 1994, 55 (1) : 203-206.
- [34] Manfredi G, Beal MF. Poison and antidote: a novel model to study pathogenesis and therapy of LHON [J]. *Ann Neurol*, 2004, 56 (2) : 171-172. doi: 10.1002/ana.20243.
- [35] Zhang X, Jones D, Gonzalez-Lima F. Mouse model of optic neuropathy caused by mitochondrial complex I dysfunction [J]. *Neurosci Lett*, 2002, 326 (2) : 97-100. doi: 10.1016/S0304-3940(02)00327-0.
- [36] Qi X, Sun L, Hauswirth WW, et al. Use of mitochondrial antioxidant defenses for rescue of cells with a Leber hereditary optic neuropathy-causing mutation [J]. *Arch Ophthalmol*, 2007, 125 (2) : 268-272. doi: 10.1001/archophth.125.2.268.
- [37] Ellouze S, Augustin S, Bouaita A, et al. Optimized allotopic expression of the human mitochondrial ND4 prevents blindness in a rat model of mitochondrial dysfunction [J]. *Am J Hum Genet*, 2008, 83 (3) : 373-387. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.08.013.
- [38] Tachibana M, Sparman M, Sritanandomchai H, et al. Mitochondrial gene replacement in primate offspring and embryonic stem cells [J]. *Nature*, 2009, 461 (7262) : 367-372. doi: 10.1038/nature08368.
- [39] Koilkonda RD, Yu H, Chou TH, et al. Safety and effects of the vector for the Leber hereditary optic neuropathy gene therapy clinical trial [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2014, 132 (4) : 409-420. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.7630.
- [40] Guy J. New therapies for optic neuropathies: development in experimental models [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2000, 11 (6) : 421-429.
- [41] Yu H, Koilkonda RD, Chou TH, et al. Gene delivery to mitochondria by targeting modified adenoassociated virus suppresses Leber's hereditary optic neuropathy in a mouse model [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (20) : E1238-E1247. doi: 10.1073/pnas.1119577109.
- [42] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Hudson G, et al. Inherited mitochondrial optic neuropathies [J]. *J Med Genet*, 2009, 46 (3) : 145-158. doi: 10.1136/jmg.2007.054270.
- [43] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies-disease mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2011, 30 (2) : 81-114. doi: 10.1016/j.preteyeres.2010.11.002.
- [44] Seo BB, Nakamaru-Ogiso E, Flotte TR, et al. In vivo complementation of complex I by the yeast Ndi1 enzyme. Possible application for treatment of Parkinson disease [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (20) : 14250-14255. doi: 10.1074/jbc.M600922200.
- [45] Iyer S, Bergquist K, Young K, et al. Mitochondrial gene therapy improves respiration, biogenesis, and transcription in G11778A Leber's hereditary optic neuropathy and T8993G Leigh's syndrome cells [J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23 (6) : 647-657. doi: 10.1089/hum.2011.177.
- [46] Guy J, Qi X, Koilkonda RD, 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 Vis Sci*, 2009, 50 (9) : 4205-4214. doi: 10.1167/iovs.08-3214.
- [47] Maclachlan TK, Lukason M, Collins M, et al. Preclinical safety evaluation of AAV2-sFLT01-a gene therapy for age-related macular degeneration [J]. *Mol Ther*, 2011, 19 (2) : 326-334. doi: 10.1038/mt.2010.258.
- [48] Lam BL, Feuer WJ, Abukhalil F, et al. Leber hereditary optic neuropathy gene therapy clinical trial recruitment; year 1 [J]. *Arch Ophthalmol*, 2010, 128 (9) : 1129-1135. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.201.
- [49] Lam BL, Feuer WJ, Schiffman JC, et al. Trial end points and natural history in patients with G11778A Leber hereditary optic neuropathy: preparation for gene therapy clinical trial [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2014, 132 (4) : 428-436. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.7971.

(收稿日期: 2015-06-25)

(本文编辑: 刘艳 张宇)