

靶向 VEGF 的基因治疗在眼底血管性疾病中的应用进展

包延波 解正高

南京医科大学鼓楼临床医学院, 南京 210009

通信作者: 解正高, Email: zgxie87@163.com

【摘要】 眼底血管性疾病的发病机制主要是血管内皮生长因子(VEGF)过量表达导致视网膜新生血管异常增生和/或血管通透性增加,常见疾病包括新生血管性年龄相关性黄斑变性和糖尿病视网膜病变等,严重威胁患者视力。抗 VEGF 药物的应用彻底改变了眼底血管性疾病的治疗模式,然而,目前临床面临的频繁注射负担、费用高昂和治疗耐药性等难题仍未得到有效解决。近年来,随着基因治疗技术的飞速发展,其为眼底血管性疾病的临床治疗开辟了新路径并展现出显著优势。本文介绍了靶向 VEGF 的基因治疗在眼底血管性疾病中的研究应用进展,阐述了 VEGF 在眼底血管性疾病中促进眼底异常血管生成和增加血管通透性等作用机制,详细介绍了目前基于 VEGF 的基因治疗策略,如利用基因沉默技术靶向降低 VEGF 表达,以及采用基因编辑,如成簇规则间隔短回文重复序列相关蛋白技术对 VEGF 相关基因进行修饰等。同时总结了这些治疗方法在临床前研究和临床试验中的应用现状、面临的挑战,如载体的安全性和有效性、免疫反应等问题,对靶向 VEGF 的基因治疗在眼底血管性疾病中的未来发展前景进行了展望,旨在为该领域的深入研究和临床应用提供参考依据。

【关键词】 血管内皮生长因子; 眼底血管性疾病; 基因治疗; 应用进展

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK20251719)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250709-00226

Application progress of gene therapy targeting vascular endothelial growth factor in ocular fundus vascular diseases

Bao Yanbo, Xie Zhenggao

Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210009, China

Corresponding author: Xie Zhenggao, Email: zgxie87@163.com

【Abstract】 The pathogenesis of ocular vascular diseases mainly involves the excessive expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), leading to abnormal proliferation of retinal neovascularization and/or increased vascular permeability, such as neovascular age-related macular degeneration and diabetic retinopathy, which seriously threaten patients' vision. The application of anti-VEGF drugs has revolutionized the treatment methods for ocular vascular diseases. However, significant challenges remain unresolved in clinical practice, including the burden of frequent injections, high costs, and treatment resistance. With the rapid development of gene therapy technology, new paths for the clinical treatment of ocular vascular diseases have been opened up and have shown significant advantages. This article introduces the research and application progress of gene therapy targeting VEGF in ocular vascular diseases. It elaborates on the mechanism of VEGF in promoting abnormal vascular growth and increasing vascular permeability in ocular vascular diseases, and details the current VEGF-based gene therapy strategies, such as using gene silencing technology to target and reduce VEGF expression, and using gene editing techniques, such as clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein to modify VEGF-related genes. At the same time, it discusses the application status and challenges of these treatment methods in preclinical and clinical trials, such as the safety and effectiveness of vectors and immune responses. It also looks forward to the future development prospects of VEGF-based gene therapy in ocular vascular diseases, aiming to provide a reference for in-depth research and clinical application in this field.

【Key words】 Vascular endothelial growth factor; Fundus vascular diseases; Gene therapy; Research progress

Fund program: Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20251719)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250709-00226



血管生成起源于预先存在的脉管系统,该过程受内源性促血管生成因子和抗血管生成因子之间的动态平衡调节。在血管新生的调控机制中,外源性刺激因素可通过复杂的病理生理途径干扰血管稳态调节系统,如缺氧、缺血、应激、免疫或炎症反应以及遗传变异等。血管内皮细胞被激活后,会启动整合素-细胞外基质信号传导系统,进而发生异常增殖、迁移,最终相互吻合形成血管环和血管网^[1]。眼底新生血管形成是新生血管性年龄相关性黄斑变性(neovascular age-related macular degeneration, nAMD)和糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)等致盲性眼病的关键特征。疾病早期,患者可表现为视网膜出血、纤维化及牵拉性视网膜脱离;疾病晚期,随着血管渗漏异常增多,伴随黄斑部脂质沉积和水肿,这些级联反应最终导致患者发生严重且不可逆的视力损伤^[2-3]。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,在血管形成、通透性维持中发挥重要作用。抗 VEGF 药物的应用实现了眼底血管性疾病治疗的根本性转变。然而目前抗 VEGF 药物疗法面临诸多需要克服的挑战,如作用持续时间短、需要频繁注射、对部分患者疗效应答不佳、术后存在感染风险和多次治疗导致的高成本等。研究人员针对上述问题开发出更为优化的治疗方案,如新型药物、新型药物载体、基因治疗等。基因治疗是当前快速发展的领域,已展现出显著临床效果。新型药物载体介导的基因递送技术可实现抗 VEGF 的持续表达,从而避免重复注射抗 VEGF 药物。针对眼部血管生成的 RNA 干扰基因沉默技术已进入临床试验阶段。采用成簇规则间隔短回文重复序列相关蛋白(clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein, CRISPR-Cas)等基因编辑工具的概念验证研究已在动物模型中证实可有效抑制新生血管形成,凸显了该基因治疗在眼内病理性新生血管干预中的应用潜力。本文汇总了抗 VEGF 药物研发的最新临床前研究进展,同时整理了已进入临床试验阶段的最新基因治疗策略,以期为该领域的深入研究和临床应用提供参考依据。

1 眼底血管性疾病概述

1.1 nAMD

据估计,到 2040 年全球 AMD 患者数量将达到 2.88 亿^[4]。随着人口老龄化加剧,AMD 发病率呈逐年上升趋势,已成为全球性的重大公共卫生问题。AMD 的临床表现主要包括视力下降、中央暗点、视物变形等。AMD 可分为萎缩型/干性 AMD 和渗出型/湿性 AMD(nAMD),但目前临床上仅有针对 nAMD 的治疗方法。nAMD 的病理特征是缺乏正常结构和功能的新生血管通过破裂的 Bruch 膜进入视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)亚间隙,脉络膜毛细血管向内生长,从而导致液体渗漏并最终发展为出血性或渗出性视网膜脱离。新生血管通常伴随纤维化,这会对视网膜细胞特别是光感受器细胞造成进一步损害。近一半的 nAMD 患者会在 2 年内进一步发展为 RPE 萎缩或黄斑瘢痕^[5]。抗 VEGF 药物已成为治疗 nAMD

的一线药物,该类治疗能显著抑制脉络膜新生血管形成、减少视网膜渗漏,并提高患者视力。

1.2 DR

DR 是糖尿病严重并发症之一,是工作年龄人群首要的致盲原因。随着糖尿病患者数量持续攀升,预计到 2045 年全球糖尿病总患病人数将增至 7 亿。非增殖性 DR 是 DR 的早期阶段,其临床特征包括眼底出现微血管瘤、硬性渗出以及棉絮斑等改变。增殖性 DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR)的标志性特征是视网膜出现新生血管,可伴或不伴有视网膜前病变或玻璃体积血。伴随纤维增殖的视网膜新生血管可引发牵拉性视网膜脱离,这是 PDR 的严重并发症,常需手术干预。此外,虹膜表面及房角也可能出现新生血管,增加新生血管性青光眼的风险^[6]。因此进展至 PDR 阶段的患者面临极高的视力丧失风险。糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)是 DR 患者视力丧失的常见原因,源于血-视网膜屏障破坏,导致盐分、蛋白质及水分在视网膜内异常积聚^[7],可发生于 DR 的任何病程阶段。目前,DR 的一线治疗方案为玻璃体腔注射抗 VEGF 药物联合视网膜激光光凝术。

1.3 其他眼底血管性疾病

抗 VEGF 药物同样广泛应用于视网膜静脉阻塞继发黄斑水肿(retinal vein occlusion-macular edema, RVO-ME)、脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)以及早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)等眼底血管性疾病的治疗。RVO 是仅次于 DR 的常见视网膜血管疾病,可导致视网膜缺血缺氧,进而引起 ME,影响患者视力。针对 RVO-ME 的抗 VEGF 疗法,同样面临着与 nAMD、DME 及 PDR 相似的挑战。ROP 是威胁早产儿视力的视网膜血管增生性疾病,在其新生血管增生期,可采用 VEGF 抑制剂进行干预。但需考虑患儿尚在发育期,应用抗 VEGF 药物时需谨慎控制干预时机、用药剂量及频次^[8]。

2 抗 VEGF 治疗

2.1 VEGF 的生理及病理功能

VEGF 是一种在人体多种组织器官中均可分泌的糖蛋白,其分子量为 34 000~45 000。在眼部,如 RPE 细胞、内皮细胞、周细胞、神经节细胞及神经胶质细胞中均可表达 VEGF。其基因定位于染色体 6p21.3,长约 14 kb,由 8 个外显子和 7 个内含子构成。VEGF 家族包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)。通常 VEGF 即指 VEGF-A,其在促进新生血管形成和增加血管通透性方面发挥着重要作用^[9]。越来越多的研究表明,VEGF-E 也是一种潜在的新生血管形成因子,通过特异性结合 VEGF 受体(VEGF receptor, VEGFR)2 激酶插入域受体/胎儿肝激酶 1(kinase insert domain receptor/fetal liver kinase-1, KDR/Flk-1)激活下游信号通路(如 PI3K/Akt 和 MAPK),直接促进血管内皮细胞增殖和血管生成;PLGF 也可促进新生血管形成,增加血管通透性,Rakic 等^[10]证实 PLGF 在 CNV 模型中高表达,且抗 PLGF 抗体可抑制 CNV 进展。



正常生理状态下, VEGF 通过调控内皮细胞增殖、迁移及分化, 维持血管稳态与功能完整性, 对血管生成具有关键调节作用^[11]。当受到缺血、缺氧、应激、免疫或炎症反应等病理因素的刺激时, 可引起 VEGF 异常高表达, 其与 VEGFR1/VEGFR2 结合后通过以下机制介导病理性改变(图 1): (1) 激活 Raf-MEK-MAPK 通路, 促进内皮细胞增殖; (2) 触发 PI3K/AKT 通路, 增强血管通透性; (3) 激活 p38-MAPK 信号通路, 触发肌动蛋白重组并促进内皮细胞迁移。多通路协同作用, 导致血管结构紊乱、渗漏及异常新生血管形成^[12]。此类代偿性血管增生虽旨在改善局部缺血, 但在眼底血管性疾病中, 视网膜新生血管往往存在异常, 反而会加重视网膜缺血缺氧, 对眼部组织造成进一步损害。新生血管管壁之间缺乏紧密连接, 血管管壁脆弱, 极易发生渗漏与出血, 进而引发黄斑区水肿、出血; 若未及时治疗最终可形成视网膜组织瘢痕, 给患者的视功能造成不可逆性损害^[13]。综上所述, VEGF 在眼底血管性疾病中发挥着复杂作用, 它既是维持血管正常功能的重要因子, 也是导致病理变化的关键致病因子。因此, 在治疗眼底血管性疾病时, 需要综合考虑 VEGF 的作用机制, 采取针对性治疗措施。

2.2 临床抗 VEGF 治疗现状

在药物疗法应用于临床前, 视网膜异常血管增生的主要控制手段为激光光凝术, 其原理是使用不同波长与功率的激光, 通过热效应对病变组织进行照射、切割与烧灼等处理^[14]。同时激光能有效改善视网膜缺氧情况, 长期观察发现, 患者术后 VEGF 水平较未接受激光治疗时下降。但激光治疗本身具有一定的破坏性, 可损伤邻近正常视网膜组织中的视杆细胞, 患者术后可能会出现疼痛、周边视野缺损、对比敏感度下降、暗适应减退、反复激光致视网膜脱离等不良反应^[15]。

抗 VEGF 药物的作用机制是通过与 VEGF 特异性结合, 竞争性阻断 VEGF/VEGFR 信号转导通路, 抑制血管内皮细胞增殖和新生血管生成, 减少炎症因子等活性物质释放^[16]。目前, 临床用于眼底新生血管性疾病的生物靶向抑制剂主要包括大分子单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂, 不同药物通过各自作用机制抑制新生血管生成。除了 VEGF-A 治疗靶点外,

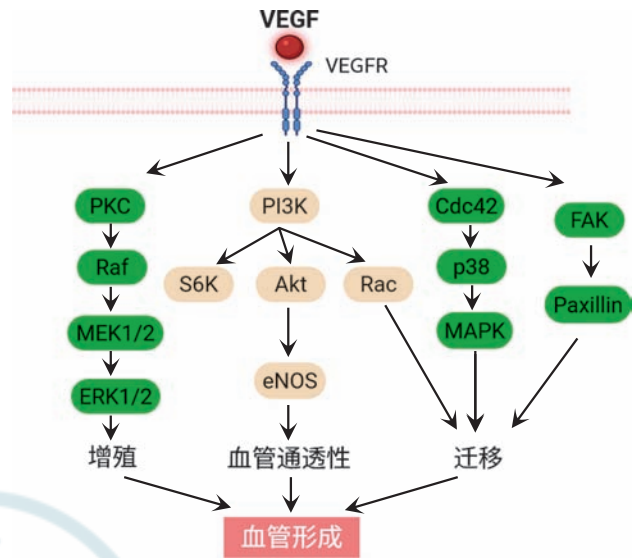


图 1 与血管生成相关的内皮细胞中 VEGF/VEGFR 信号通路 VEGF: 血管内皮生长因子; VEGFR: 血管内皮细胞生长因子受体; PKC: 蛋白激酶 C; MEK: 丝裂原活化蛋白激酶激酶; ERK: 细胞外信号调节激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; S6K: 核糖体蛋白 S6 激酶; Akt: 蛋白激酶 B; Rac: Ras 相关的 C3 肉毒素底物; eNOS: 内皮型一氧化氮合酶; Cdc42: 细胞分裂周期蛋白 42; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; FAK: 粘着斑激酶; Paxillin: 桩蛋白

VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 也成为新的研究方向。目前临床常用抗 VEGF 药物及特点见表 1。

尽管目前抗 VEGF 疗法已在临床广泛应用, 但其作用持久性有限及对部分患者的治疗抵抗性, 仍未满足临床需求。抗 VEGF 药物半衰期相对较短, 患者通常需要每 1~2 个月接受 1 次注射以维持治疗效果。而频繁注射会增加眼内炎、玻璃体出血、眼压升高和视网膜脱离等的发生风险。因此, 进一步探索和开发提高疗效和持久性的新技术具有重要意义。

3 靶向 VEGF 的基因治疗具体策略

3.1 基因治疗概述

基于现有抗 VEGF 药物存在的治疗缺陷, 近年来国内外研

表 1 临床常用抗 VEGF 药物

药物名称	药物类型	适应证	用法用量(眼部注射)
康柏西普	VEGF 受体-抗体重组融合蛋白	nAMD、继发于病理性近视的脉络新生血管引起的视力损伤、DME 引起的视力损害	0.5 mg/眼/次, 初始 3 个月每月 1 次, 之后每 3 个月 1 次或按需给药
阿柏西普	VEGF Trap(重组融合蛋白)	nAMD、DME	初始 3 个月每月 1 次, 之后每 2 个月 1 次(需联合其他治疗)
雷珠单抗	重组人源化抗 VEGF 单克隆抗体片段	nAMD、DME、继发于病理性近视的脉络新生血管、RVO-ME	0.5 mg/次, 初始 3 个月每月 1 次, 后续按需或每 3 个月 1 次
布洛赛珠单抗	单链抗体片段(抗 VEGF-A)	nAMD、DME	每月 1 次连续 3 剂, 之后每 2~3 个月 1 次(可根据病情调整)
法瑞西单抗	双特异性抗体(VEGF-A/Ang-2)	nAMD、DME、RVO-ME	初始每 2 个月 1 次, 部分患者可延长至每 4 个月 1 次
生物仿制药	生物类似药	与原研药相同适应证(如 nAMD、DME 等)	用法与原研药一致(需通过可比性研究验证)

注: VEGF: 血管内皮生长因子; nAMD: 新生血管性年龄相关性黄斑变性; DME: 糖尿病性黄斑水肿; RVO-ME: 视网膜静脉阻塞继发黄斑水肿

究者把目光转向了基因治疗领域。基因治疗最先在遗传性视网膜疾病治疗中取得重大进展。基因治疗指将外源性针对性的核酸聚合物导入靶细胞,通过校正基因序列异常、修补遗传缺陷或产生治疗因子等方式,阻碍或促进特定蛋白质的表达,最终从基因水平根本性地治疗某些疾病^[13]。主要基因治疗策略包括基因沉默、基因补充和基因编辑^[17]。

基因沉默指通过干扰 mRNA 的翻译或直接降解靶基因的转录产物,抑制功能获得性突变或异常表达的致病基因,常用手段包括 RNA 干扰、反义寡核苷酸以及小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 等。基因补充主要将正确的基因拷贝引入宿主基因组以补偿有缺陷的基因。基因编辑是对内源性基因组进行精确修饰,以纠正突变的等位基因。用于基因编辑的核酸内切酶包括大范围核酸酶、锌指核酸酶、转录激活因子样效应核酸酶以及近年出现的 CRISPR-Cas 系统^[18]。

眼作为基因治疗的靶器官具有独特优势,包括高可及性、相对免疫特权以及与其他器官的相对隔离性。其易于接近和光学透明的特性,有助于在显微外科手术中直接进行可视化操作,从而将遗传物质精准递送至视网膜,也便于使用成像工具量化治疗的安全性与有效性。同时血-视网膜屏障赋予视网膜相对免疫特权,可限制免疫细胞从体循环向眼内的迁移,从而抑制基因治疗后的免疫排斥反应。该屏障还能防止递送的遗传物质渗漏至体循环,将治疗基因的表达定位在眼内^[19]。鉴于遗传物质可被有效局限于眼内,所需治疗剂量得以降低^[20]。此外,视网膜中的靶细胞(如光感受器细胞和 RPE 细胞)属于有丝分裂后细胞,因此基因治疗后能产生持久的治疗效果^[21]。综上,基因治疗能够实现治疗性基因遗传物质向眼内特定靶点的靶向、局部且持续递送。

3.2 基因治疗的载体

3.2.1 病毒载体

在生物医学领域,病毒载体已成为基因治疗中遗传物质的主要递送方式。常见的病毒递送载体包括慢病毒、腺病毒和腺相关病毒,每种病毒载体均有其独特的优缺点,在负载容量、靶向特异性及基因表达持久性等方面存在差异。

3.2.1.1 腺相关病毒

腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 载体是一类微小、结构简单、无被膜的单链 DNA 病毒。AAV 的基因组包装大小上限约 4.7 kb,但凭借其免疫原性低、能有效递送目的基因、细胞靶向性好、转导性高、可维持治疗基因长期表达和对视网膜细胞具有特异亲和性等优势,已成为目前临床前和临床研究中视网膜疾病基因治疗首选的载体^[22-23]。迄今已发现的 AAV 种类超过 200 种,其中 13 种主要血清型 (AAV1~AAV13) 在临床前和临床研究中应用广泛。不同血清型的表面抗原不同,可识别不同细胞类型的表面受体,从而呈现出不同的嗜性,这一特点极大地促进了 AAV 在基因治疗中的应用。除天然血清型外,通过衣壳工程化改造衍生出新型载体(如 ShH10、AAVYC5),进一步优化靶向性。

研究表明,AAV2、AAV5、AAV8 血清型可通过视网膜下注射靶向 RPE 和光感受器细胞。AAV8、AAV9 血清型均能有效地转导神经节细胞层。此外,AAV2、AAV7 和 AAV2 及 AAV8

杂交血清型在小鼠光感受器中实现了高转导率,显示出治疗遗传性光感受器疾病的良好潜力。AAV2、AAV6 血清型通过视网膜下注射可在小鼠视锥光感受器细胞中呈现高效转导。而 AAV6.2 和 ShH10 可通过玻璃体腔注射靶向视网膜内层神经节细胞和 Müller 细胞。因此,AAV 载体血清型与给药途径的选择是基因治疗成功的关键。

2017 年获批的首款用于治疗 Leber 先天性黑蒙的药物 Luxturna^[24],以重组腺相关病毒 2 型 (recombinant adeno-associated virus serotype 2, rAAV2) 作为载体,将正常 RPE65 基因经视网膜下给药导入患者视网膜细胞。在 1~3 年的随访期间,该疗法在系统和局部均显示出良好的耐受性,未发生不良反应,患者视觉功能有不同程度改善,包括视力和色觉提升。

3.2.1.2 慢病毒载体

慢病毒载体通常是单链 RNA 病毒,可将长约 8 kb 的转基因递送至细胞(包括分裂及非分裂细胞)内并整合到宿主基因组中,以实现持续和持久的转基因表达。转基因整合后造成某些染色体基因的失活、致癌基因的激活,则可能存在诱变风险。新开发出的在 3'-长末端重复序列处失活的自失活特性的慢病毒载体,其缺少强启动子-增强子长末端重复序列,并优先整合到内含子中,远离活跃转录基因的转录起始位点,能很好地克服这个问题^[25]。

3.2.1.3 腺病毒

腺病毒属于双链 DNA 病毒,无包膜且无基因组整合特性,其具备大容量基因片段(最大达 9 kb)装载能力,但仅限于感染有丝分裂后的宿主细胞。腺病毒虽然可以有效感染各种视网膜细胞类型,但宿主免疫反应强烈,基因表达和基因治疗的效果受到影响,因此其应用逐渐减少。

3.2.2 非病毒载体

3.2.2.1 聚合物

近年来,天然高分子材料在眼用制剂研发中的创新应用备受关注。阳离子聚合物聚乙炔亚胺由带正电荷的磷脂作为膜材料制备而成,与带负电荷的基因通过静电作用结合形成聚电解质的纳米复合物,经内吞途径进入细胞后释放携带基因。其优点是能够抵御酶降解,促进细胞摄取,从而提高转染效率。由于聚合物表面化学结构的可设计性,天然聚合物在眼部药物递送领域的应用持续深化,研究人员报道了大量针对阳离子聚合物基因递送系统的功能性改造策略,以增强其克服体内外递送障碍的能力,从而实现高效的基因递送。Liu 等^[24]构建了一种具有“核-壳”结构的多级递送纳米颗粒,其内核由 CRISPR/dCas9 质粒 DNA 与苯基硼酸修饰的低分子量聚乙炔亚胺构成阳离子复合物;外壳采用 2,3-二甲基马来酸酐修饰的聚乙二醇-b-聚赖氨酸 (mPEG₁₁₃-b-PLys₁₀₀/DMMA),赋予该体系在递送过程中调控表面特性的能力。

3.2.2.2 脂质纳米粒

脂质纳米粒 (lipid nanoparticles, LNPs) 最初开发为递送小分子药物,后来因应用于基因药物载体而受到广泛关注。LNPs 的组装机制基于核酸分子磷酸骨架的负电荷与阳离子脂质极性头基之间的静电相互作用形成稳定复合物,其双层膜结构不仅可荷载不同形态的基因编辑元件(如质粒 DNA、mRNA 及核糖核蛋白复合物 RNP),还能形成物理屏障抵御核酸酶的降解作用。基于可电离脂质的递送系统目前

已成功应用于 CRISPR-Cas9 基因编辑工具的多模态递送,尤其通过优化脂质相变温度及 pH 响应性成分,可精确调控核酸在胞内溶酶体逃逸后的释放动力学^[25]。因此,LNPs 有望成为 CRISPR-Cas9 系统治疗眼底血管性疾病的有效病毒替代载体。

3.2.2.3 外泌体 外泌体是一种可以由体内绝大多数细胞释放的细胞外囊泡,由细胞内多泡体与细胞质膜融合后形成,直径通常为 30~160 nm^[26]。外泌体可以运输丰富的蛋白质、脂质、DNA 和 RNA 等物质,分泌至细胞外后,在细胞间信息传递中发挥重要作用^[27-28]。相较于人工合成的纳米载体,外泌体本身属于作为细胞分泌的囊泡组分,具有易获取与储存、生物相容性好、安全性高以及能够穿透细胞膜生物屏障等优点^[29]。工程化外泌体可通过遗传或化学方法进行表面修饰,展示肽段等多种表面分子,实现对特定细胞和组织的靶向递送。外泌体作为 CRISPR-Cas9 系统的递送载体,目前仍处于探索阶段,有望靶向抑制由 nAMD 等疾病诱发的 CNV。此外,外泌体-脂质体混合纳米颗粒是一种新型 CRISPR-Cas9 递送平台,可通过特异性靶向谷氨酰胺合成酶基因下调谷氨酰胺合成酶表达水平并持续抑制 CNV,展现出多种新生血管性眼病的治疗潜力^[30]。

3.3 眼底血管性疾病具体基因治疗策略

3.3.1 基因补充

3.3.1.1 ADVM-022 ADVM-022(美国 Adverum Biotechnologies 公司)采用玻璃体腔注射方式,通过 AAV2-7m8 工程化载体运载编码阿柏西普蛋白 cDNA,避免了传统视网膜下注射药物的技术难题。阿柏西普蛋白是一种阻断 VEGF 信号通路的可溶性诱饵蛋白。一项针对非人灵长类动物激光诱发的 CNV 临床前研究显示,单次注射 ADVM-022 可有效维持玻璃体内高浓度阿柏西普达 30 个月,且无严重不良反应^[29]。使用 ADVM-022,可以减少每 4~8 周重复玻璃体内注射的需求,减轻患者治疗负担^[29]。在一项 OPTIC I 期开放标签、剂量递增的临床研究中,30 例 nAMD 受试者接受单剂量 ADVM-022 玻璃体腔注射后,其功能性及解剖学指标均呈现持续性改善。数据显示,最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)基线值在给药后 22~46 周观察期内保持稳定(波动范围 ± 5 个字母),同时中央视敏度较干预前显著提升(平均增加+8.2 个字母)。光学相干断层扫描结果显示患者 CNV 病灶面积较基线缩小达 67%,且中心凹处视网膜厚度(central retinal thickness, CRT)从初始的(412 \pm 38) μ m 下降至(326 \pm 29) μ m,表明治疗有效促进了视网膜外层结构重塑及水肿消退。92 周随访数据显示,经 ADVM-022 治疗后,超过 80% 的患者后续无需补充注射抗 VEGF 药物。不同剂量组间疗效有明显差异,高剂量组(6 $\times 10^{11}$ vg/每眼)年化注射次数降低 96%,低剂量组(2 $\times 10^{11}$ vg/每眼)降低 85%。目前尚无与 ADVM-022 相关的非眼部不良事件报道。炎症是该研究的主要眼部不良反应,ADVM-022 治疗期间仅出现轻度眼部前段炎症(特别是高剂量组),而该症状对局部皮质类固醇治疗敏感^[30]。

2020 年一项使用 ADVM-022 治疗 DME 的临床试验显示,

16~36 周后高剂量队列试验组(6 $\times 10^{11}$ vg/眼)中 1 例 DME 患者出现了严重眼内炎症,合并持续低眼压及视力丧失,考虑出现了可疑且非预期严重不良反应,该试验遂揭盲,患者经密切监测和积极治疗后病情未得到改善。在低剂量队列中未观察到类似的药物临床试验严重不良事件。目前,ADVM-022 用于糖尿病视网膜病变的相关研究已终止。

3.3.1.2 AAV-sFlt-1 在血管生成调控中,VEGF 通过特异性结合 sFlt-1(可溶性 FMS 样酪氨酸激酶,即 VEGFR-1)和 Flk-1/Kdr(VEGFR-2)发挥作用,2 类受体均表现出较强的配体亲和性。sFlt-1 是 VEGFR-1 基因经选择性剪接形成的可溶性剪接变体,保留了完整的配体结合域但缺失跨膜区和胞内激酶结构域,以分泌蛋白形式发挥功能。研究表明,sFlt-1 对 VEGF-A 的结合亲和力显著高于 Flk-1/KDR,补充 sFlt-1 可以竞争结合游离的 VEGF-A,阻止其与内皮细胞表面 VEGFR-2 的结合及后续信号传导,从而抑制 VEGF-A 介导的新生血管生成。

Lai 等^[31]和 Rakoczy 等^[32]证实在非人灵长类动物和啮齿动物模型中经视网膜下腔注射 rAAV-sFlt-1 后,其分泌的 sFlt-1 可在视网膜组织内广泛分布,并持续阻断激光诱导的 CNV 形成,同时该干预方式未引发视网膜结构损伤或炎症反应。AAV-sFlt-1 用于非人灵长类动物视网膜下注射时,未诱发严重不良事件、视力障碍、眼外载体传播及对机体有害的免疫反应^[31],为后续的临床转化实验奠定了理论基础。

在一项 I/IIa 期临床试验(NCT01494805)中,所有患者经视网膜下腔注射 rAAV-sFlt-1 后,经 52 周观察随访验证,高剂量组(1 $\times 10^{11}$ vg)和低剂量组(1 $\times 10^{10}$ vg)患者安全性和耐受性良好,未发生任何与治疗载体相关的局部或全身性不良反应。基因治疗组 BCVA 中位改善+1.0 个字母(对照组恶化-5.0 个字母),57% 的患者(12/21)视力稳定或提升,高于对照组的 36%(4/11)^[33]。值得关注的是,长达 36 个月的长期监测随访结果显示,基因治疗受试者不仅维持优异的耐受表现,且 BCVA 与 CRT 等关键解剖功能参数均维持稳定改善,展现出替代传统抗 VEGF 治疗的潜力^[34]。

3.3.2 基因沉默

3.3.2.1 RGX-314 RGX-314 以 rAAV8 为载体,通过视网膜下或脉络膜上腔注射,递送编码抑制 VEGF 的单克隆抗体片段,通过中和 VEGF 活性阻断其信号通路。单次给药也能实现眼内抗 VEGF 的长效表达,减轻了多次玻璃体腔注射的负担。一项 I/IIa 期研究(NCT03066258)显示,42 例患者在接受 RGX-314 治疗后,分为不同病毒剂量组(3 $\times 10^9$ 、1 $\times 10^{10}$ 、6 $\times 10^{10}$ 、1.6 $\times 10^{11}$ 、2.5 $\times 10^{11}$ 基因组拷贝数),3 年随访结果表明,所有队列患者均对 RGX-314 具有良好的耐受性,患者房水中的 RGX-314 蛋白水平呈剂量依赖性升高,无异常免疫反应、药物相关眼部炎症或术后炎症等不良事件的报告。在 18 个月的随访期间,患者维持稳定的 BCVA 与 CRT,其中 BCVA 较基线提高 9.0 个字母,CRT 平均降低 40 μ m。年均注射次数为 2.4 次,相较于接受 RGX-314 治疗前 12 个月的年均注射次数减少了 66.7%,展现了长期降低抗 VEGF 治疗负担的效果。

与 nAMD 的应用研究类似,RGX-314 在 DR 患者中的应用也

在进一步研发中。正在进行的Ⅱ期 ALTITUDE 试验中,50 例患者接受脉络膜上腔注射 RGX-314,2 个剂量水平(低剂量 2.5×10^{11} 基因组拷贝数/眼和高剂量 5×10^{11} 基因组拷贝数/眼)均显示了良好的安全性,均未报告任何与药物相关的严重不良事件。治疗 1 年后,高剂量队列组患者中有 70.8% (17/24) 在 DR 严重性评分上改善了至少 1 级,对照组仅为 25% (6/24);未接受治疗的患者评分恶化 ≥ 2 级,而对照组有 37.5% (9/24) 出现 ≥ 2 级恶化。此外,该疗法将威胁患者视力事件的发生风险降低了 89%,对照组降低比例仅为 37.5%。

3.3.2.2 RNA 干扰技术 siRNA 在眼底血管性疾病中通过 RNA 干扰机制靶向促血管生成因子(如 VEGF、VEGFR1)或缺氧诱导基因(如 *RTP801*)的 mRNA,从而抑制异常血管生成和渗漏。Bevasiranib (Cand5) 作为首个抗 VEGF siRNA,在 I 期临床试验(NCT00722384)中安全性良好,但在Ⅱ期临床试验中,其单药治疗 nAMD(NCT00259753)疗效不佳,联合雷珠单抗注射液的临床试验(NCT00499590)因未达到主要研究终点终止,但在 DME 治疗(NCT00306904)中可短期稳定视力。AGN211745 (Sirna-027)通过靶向 *Flt1* (VEGFR1) mRNA 发挥作用,Ⅰ期临床试验(NCT00363714)安全性良好,但Ⅱ期临床试验(NCT00395057)因疗效未达预期终止。因此单纯的 siRNA 疗法存在局限性,原因如下:(1) siRNA 易被核酸酶降解,需频繁玻璃体腔注射(每 3~7 d 进行 1 次),影响患者依从性;(2) 裸 siRNA 穿透性差,需依赖病毒载体(如 AAV)或化学修饰(如 2'-O-甲基化)以增强稳定性和特异性。未来需探究包括利用病毒载体持续表达 shRNA 延长疗效,开发多靶点载体(如联合抗 VEGF siRNA 与抗血管生成蛋白 PEDF),以及优化化学修饰减少免疫激活反应。综上,siRNA 疗法虽在眼底血管性疾病治疗中具有潜在应用价值,但受限于免疫原性、疗效持续时间短及递送系统不完善等问题,目前其临床效果未超越传统抗 VEGF 药物,需进一步优化递送系统和联合策略。

3.3.3 基因编辑 CRISPR-Cas9 基因编辑系统是利用向导 RNA (guide RNA, gRNA) 特异性识别靶向位点并指导 Cas 核酸内切酶产生双链断裂,在基因同源性修复过程中导致移码突变或提前插入终止密码子,从而实现目标基因的敲除,这种精准的基因编辑策略为基因突变相关疾病的靶向治疗开辟了革命性范式。与其他基因组定位编辑技术相比,CRISPR-Cas9 具有目标设计简单、易于构建大规模文库、基因编辑效率高,兼具较高的安全性、较低的细胞毒性和脱靶效应等优势^[34]。近年来,CRISPR-Cas9 系统介导的视网膜细胞靶向敲除 VEGF 家族相关蛋白策略已在多种体外及动物模型中展现出显著效果。Kim 等^[34]将 CRISPR 核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)、Cas9 内切酶和 gRNA 注射到小鼠眼内以敲除 *VEGF* 基因,可在注射区域的 RPE 细胞中诱导突变。注射后 3 d, *VEGFA*-RNP 组 CNV 区域中的 *VEGFA* 蛋白浓度为 (300 ± 20) pg/ml,明显低于对照组的 (440 ± 30) pg/ml;治疗 7 d 后小鼠 CNV 面积下降 $(58 \pm 4)\%$ 。基于 Digenome-seq 的全基因组评估显示,未检测到显著脱靶位点。该研究证实 Cas9 RNP 对视网膜 *VEGFA* 的特异性敲除可精准阻断 CNV 病理进程。另一种抑制 *VEGFA* 的方法是通过

阻断或耗尽 VEGFR。Wu 等^[35]首先采用双 AAV 系统(AAV1 血清型),分别携带 SpCas9(由内皮特异性启动子 pICAM2 驱动)和单链 gRNA,通过电穿孔转染小鼠血管内皮细胞,证实 CRISPR-Cas9 系统成功敲除 VEGFR2,且 VEGFR2 蛋白表达显著降低;接着通过玻璃体腔注射将双 AAV 递送至氧诱导视网膜病变小鼠模型视网膜,结果显示病理性新生血管区域较前减少,并且基因测序未检测到显著脱靶效应。

此外,CRISPR-Cas9 基因组编辑能通过多个 gRNA 的参与实现多重编辑^[36]。除基因敲除或转录调控之外,CRISPR-Cas 系统还可在特定位置对 DNA 或 RNA 进行碱基编辑或使用胞苷脱氨酶工程化的 Cas 变体^[37]。先导编辑基于 CRISPR-Cas 的升级技术,能够插入或缺失小片段,并实现所有 12 个单碱基的自由转换且不引起双链断裂^[37]。

基于病毒载体编码抗血管生成蛋白的眼底新生血管性疾病基因治疗临床试验和基于应用 CRISPR-Cas 基因编辑技术治疗眼底新生血管性疾病的临床前试验见表 2、3。

4 讨论与展望

VEGF 在眼部血管生成中发挥着重要作用,抗 VEGF 药物已经彻底改变了眼底新生血管性疾病的治疗规范,使许多患者的视力恢复成为可能,但目前仍存在需频繁眼内注射、治疗应答不佳等挑战。基于基因补充、沉默与编辑等基因治疗策略,干预血管生成通路关键靶点(如 VEGF/VEGFR),已被基础和临床研究共同验证为兼具安全性及有效性的眼底血管病变治疗手段。基因治疗经证实能为 nAMD 或 DR 患者提供持久的治疗益处,这将减少对反复眼内注射的需求。ADVM-022、RGX-314、AAV-sFLT-1 等基因疗法未来可能会彻底改变眼底血管性疾病的诊疗方案,基于 CRISPR-Cas 的基因编辑技术更是处于研究领域的前沿。

尽管靶向 VEGF 因子的基因靶向疗法在视网膜血管病变领域展现出巨大的临床应用潜力,但仍面临许多挑战和需解决的问题。当前多项临床试验正着力突破技术瓶颈,争取在药物剂量、载体设计、递送策略、注射后的管理和长期效益等方面进一步优化,同时还需要可靠的工具来评估体内遗传毒性风险,如插入性突变或脱靶活性,以监测眼部基因治疗的生物安全性。此外,治疗结局的衡量也应该是评估和监测临床试验中基因治疗有效性和安全性的关键考虑因素。

虽然抗 VEGF 治疗是目前眼部新生血管的主流治疗方法,但单一 VEGF 靶向在复杂眼底血管性疾病中存在固有局限,其应用并非没有弊端。尽管进行了积极的抗 VEGF 治疗,部分患者仍出现新生血管病变进展。未来,基因治疗需从“单一 VEGF 阻断”转向“多通路协同调控”,并结合疾病特异性机制设计递送策略。目前,针对血管生成素和血小板衍生生长因子的新型基因疗法正在多项 nAMD 和 DME 的临床试验中进行研究。

随着基因治疗技术的持续突破,这一领域的发展将从根本上改善这类疾病的临床管理范式,解决当前未被满足的需求,为众多致盲性眼底血管性疾病治疗带来新希望。

表 2 基于病毒载体编码抗血管生成蛋白的眼底新生血管性疾病基因治疗临床试验 (截至 2025 年 7 月)

适应症	试验编号 (ClinicalTrials.gov)	药物	载体	作用机制	给药途径	分期	注册公司	研究开始时间	结果
nAMD	NCT00999801	RGX-314	AAV8	编码 VEGF 单克隆抗体片段	SR	前瞻性观察性研究	REGENXBIO	2019.5	未公布
	NCT03066258	RGX-314	AAV8	编码抗 VEGF 单抗片段 (类雷珠单抗)	SR	I / II a 期	REGENXBIO	2017.3	患者视力与视网膜结构改善;多数患者无需补救注射 ^[38]
	NCT03855556	HMR59 (AAVCAGsCD59)	AAV2	编码可溶性 CD59	IVT	I 期	Hemera Biosciences	2018.7	未公布
	NCT03748784	ADVM-022	AAV2.7m8	编码 aflibercept 蛋白	IVT	I 期	Adverum Biotechnologies	2018.11	32 周数据显示患者视力稳定,视网膜结构改善;无需补救注射控制 AMD 活动 ^[39]
	NCT01024998	sFlt-1	AAV2	编码 VEGF 中和蛋白 sFLT01 (sFlt-1 域 2 与 IgG Fc 融合)	IVT	I 期	Genzyme (Sanofi)	2010.1	安全耐受;蛋白表达水平良好,但未观察到显著的解剖功能改善,需进一步研究表达变异性 ^[40]
	NCT01494805	sFlt-1	rAAV	编码 VEGF 中和蛋白 sFlt-1	SR	I / II 期	Avalanche Biotechnologies	2011.12	安全耐受;BCVA 中位改善 + 1.0 个字母;抗 VEGF 再注射次数、BCVA、CPT 无统计学差异 ^[41]
DME	NCT04418427	ADVM-022	AAV.7m8	编码 aflibercept 蛋白	IVT	I 期	Adverum-Biotechnologies	2020.6	因 1 例接受高剂量 advm-022 治疗的患者出现严重不良反应,该试验被暂停 ^[42]
DR	NCT04567550	RGX-314	AAV8	编码 VEGF 单克隆抗体片段	SC	II 期	REGENXBIO	2020.9	迄今为止耐受性良好,治疗组疾病严重程度明显改善 ^[43]

注:nAMD:新生血管性年龄相关性黄斑变性;AAV:腺相关病毒;VEGF:血管内皮生长因子;SR:视网膜下;IVT:玻璃体内;sFlt-1:可溶性 FMS 酪氨酸激酶-1;BCVA:最佳矫正视力;CPT:黄斑中心凹点厚度;DME:糖尿病性黄斑水肿;DR:糖尿病视网膜病变;SC:脉络膜上腔 以上信息获取自 ClinicalTrials.gov

表 3 基于应用 CRISPR-Cas 基因编辑技术治疗眼底新生血管性疾病临床前试验 (截至 2025 年 7 月)

靶基因	实验模型	核酸酶	递送方法	实验结果	参考文献
VEGF-A	ARPE-19 细胞系	SpCas9	慢病毒(单载体)	CRISPR-Cas9 降低人 RPE 细胞的 VEGF-A 分泌水平,抑制血管新生	[44]
VEGFR2	HREC	SpCas9	rAAV5(双载体)	CRISPR-Cas9 介导的 VEGFR2 敲除阻断 VEGF 诱导的 Akt 活化,抑制 HREC 增殖、迁移和管腔形成	[45]
VEGFR2	HREC	SpCas9	慢病毒(单载体)	CRISPR-Cas9 降低 VEGF 诱导的 Akt 活化、增殖、管腔形成和迁移,效果优于雷珠单抗和阿柏西普	[46]
VEGFR2	OIR 和激光诱导 CNV 小鼠模型	SpCas9	rAAV1(双载体)	体外:CRISPR-Cas9 编辑的 MVEC 显著降低 VEGFR2 表达;体内:玻璃体注射靶向 VEGFR2 的 CRISPR-Cas9 减少 2 种动物模型的 CNV 面积	[47]
VEGF-A	正常小鼠模型	SpCas9	慢病毒(单载体)	视网膜下注射 CRISPR-Cas9 特异性破坏小鼠 RPE 层的 VEGF-A 基因	[48]
VEGF-A 和 HIF-1 α	激光诱导 CNV 小鼠模型	CjCas9	AAV9(单载体)	玻璃体注射靶向 VEGF-A 或 HIF-1 α 的 CRISPR-Cas9 抑制 CNV (尤其在 RPE 层);VEGF-A 编辑组出现视锥功能障碍, HIF-1 α 组未观察到;注射 6 周后未检测到脱靶效应	[49]
VEGF-A	激光诱导 CNV 小鼠模型	SpCas9	Cas9 RNP	体外:Cas9 RNP 降低 ARPE-19 细胞的 VEGFA mRNA 和蛋白水平;体内:视网膜下注射 Cas9 RNP 特异性编辑 RPE 细胞,降低 VEGF-A 蛋白和 CNV;Cas9 蛋白 3 d 后完全降解, 7 d 后未观察到视锥功能障碍	[46]

注:VEGF:血管内皮生长因子;ARPE:人视网膜色素上皮细胞;CRISPR-Cas:成簇规则间隔短回文重复序列相关蛋白;RPE:视网膜色素上皮;VEGFR2:血管内皮生长因子受体 2;HREC:人视网膜微血管内皮细胞;OIR:氧诱导视网膜病变;CNV:脉络膜新生血管;rAAV:重组腺相关病毒;MVEC:微血管内皮细胞;HIF:缺氧诱导因子;RNP:核糖核蛋白

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lee HJ, Hong YJ, Kim M. Angiogenesis in chronic inflammatory skin disorders[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 12035. DOI: 10.3390/ijms222112035.
- [2] Usui Y, Westenskow PD, Murinello S, et al. Angiogenesis and eye disease[J]. *Annu Rev Vis Sci*, 2015, 1: 155–184. DOI: 10.1146/annurev-vision-082114-035439.
- [3] Campochiaro PA. Ocular neovascularization[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(3): 311–321. DOI: 10.1007/s00109-013-0993-5.
- [4] GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators, Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study[J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2021, 9(2): e144–e160 [2025-10-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33275949/>. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30489-7.
- [5] Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group, Martin DF, Maguire MG, et al. Ranibizumab and bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: two-year results[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(7): 1388–1398. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.03.053.
- [6] Rodríguez ML, Pérez S, Mena-Mollá S, et al. Oxidative stress and microvascular alterations in diabetic retinopathy: future therapies[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4940825. DOI: 10.1155/2019/4940825.
- [7] Sacconi R, Giuffrè C, Corbelli E, et al. Emerging therapies in the management of macular edema: a review[J]. *F1000Res*, 2019, 8. DOI: 10.12688/f1000research.19198.1.
- [8] Stahl A, Lepore D, Fielder A, et al. Ranibizumab versus laser therapy for the treatment of very low birthweight infants with retinopathy of prematurity (RAINBOW): an open-label randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2019, 394(10208): 1551–1559. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31344-3.
- [9] Uemura A, Fruttiger M, D'Amore PA, et al. VEGFR1 signaling in retinal angiogenesis and microinflammation[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2021, 84: 100954. DOI: 10.1016/j.preteyres.2021.100954.
- [10] Rakic JM, Lambert V, Devy L, et al. Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(7): 3186–3193. DOI: 10.1167/iovs.02-1092.
- [11] Wang W, Lo A. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): 1816. DOI: 10.3390/ijms19061816.
- [12] Patel SA, Nilsson MB, Le X, et al. Molecular mechanisms and future implications of VEGF/VEGFR in cancer therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(1): 30–39. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-1366.
- [13] 侯慧敏, 常雪柯, 张乐颖, 等. 新型抗 VEGF 疗法在新生血管性年龄相关性黄斑变性中的研究进展[J]. *药学前沿*, 2024, 28(10): 268–277. DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202404064. Hou HM, Chang XK, Zhang LY, et al. Research progress of novel anti-VEGF therapy in the treatment of neovascular age-related macular degeneration with novel drugs[J]. *Frontiers in Pharmaceutical Science*, 2024, 28(10): 268–277. DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202404064.
- [14] 李雪晨. 眼底新生血管生物靶向抑制剂的相关研究进展[J]. *中国医药指南*, 2024, 22(10): 59–62. DOI: 10.15912/j.issn.1671-8194.2024.10.017. Li XC. Research progress of fundus neovascularization biotargeted inhibitors[J]. *Guide of China Medicine*, 2024, 22(10): 59–62. DOI: 10.15912/j.issn.1671-8194.2024.10.017.
- [15] Barbosa GC, Silva AG, Susanna BN, et al. Pain perception of patients undergoing laser panretinal photocoagulation: comparison of single-spot versus multispot techniques[J]. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*, 2022, 53(1): 40–45. DOI: 10.3928/23258160-20211223-01.
- [16] 殷英霞, 吴香丽, 陈冬军, 等. 玻璃体腔内注射康柏西普治疗糖尿病视网膜病变合并视网膜静脉阻塞性黄斑水肿的效果观察[J]. *河北医药*, 2019, 41(11): 1655–1658. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2019.11.012. Yin YX, Wu XL, Chen DJ, et al. Therapeutic effects of intravitreal injection of conbercept on diabetic retinopathy complicated by retinal vein occlusion and cystoid macular edema[J]. *Hebei Med J*, 2019, 41(11): 1655–1658. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2019.11.012.
- [17] 张朝阳, 张敬香, 张敬法. 基因治疗在眼底血管性疾病中的应用和展望[J]. *国际眼科杂志*, 2023, 23(3): 400–406. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.20233.10. Zhang CY, Zhang JX, Zhang JF. Application and prospect of gene therapy for fundus vascular diseases[J]. *Int Eye Sci*, 2023, 23(3): 400–406. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.20233.10.
- [18] Jolly JK, Bridge H, MacLaren RE. Outcome measures used in ocular gene therapy trials: a scoping review of current practice[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1076. DOI: 10.3389/fphar.2019.01076.
- [19] Alves CH, Wijnholds J. AAV gene augmentation therapy for *CRB1*-associated retinitis pigmentosa[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1715: 135–151. DOI: 10.1007/978-1-4939-7522-810.
- [20] Kumaran N, Michaelides M, Smith AJ, et al. Retinal gene therapy[J]. *Br Med Bull*, 2018, 126(1): 13–25. DOI: 10.1093/bmb/ldy005.
- [21] Moore NA, Morral N, Ciulla TA, et al. Gene therapy for inherited retinal and optic nerve degenerations[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18(1): 37–49. DOI: 10.1080/14712598.2018.1389886.
- [22] Smalley E. First AAV gene therapy poised for landmark approval[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(11): 998–999. DOI: 10.1038/nbt1117-998.
- [23] Yáñez-Muñoz RJ, Balagán KS, MacNeil A, et al. Effective gene therapy with nonintegrating lentiviral vectors[J]. *Nat Med*, 2006, 12(3): 348–353. DOI: 10.1038/nm1365.
- [24] Liu Q, Zhao K, Wang C, et al. Multistage delivery nanoparticle facilitates efficient CRISPR/dCas9 activation and tumor growth suppression *in vivo*[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6(1): 1801423. DOI: 10.1002/advs.201801423.
- [25] Sun Q, Zhang H, Ding F, et al. Development of ionizable lipid nanoparticles and a lyophilized formulation for potent CRISPR-Cas9 delivery and genome editing[J]. *Int J Pharm*, 2024, 652: 123845. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.123845.
- [26] Dara M, Dianatpour M, Azarpira N, et al. Integrating CRISPR technology with exosomes: revolutionizing gene delivery systems[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 740: 151002. DOI: 10.1016/j.bbrc.2024.151002.
- [27] Brezgin S, Parodi A, Kostyusheva A, et al. Technological aspects of manufacturing and analytical control of biological nanoparticles[J]. *Biotechnol Adv*, 2023, 64: 108122. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2023.108122.
- [28] Zhang M, Lu X, Luo L, et al. Targeting glutamine synthetase with AS1411-modified exosome-liposome hybrid nanoparticles for inhibition of choroidal neovascularization[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 703. DOI: 10.1186/s12951-024-02943-1.
- [29] Kiss S, Oresic Bender K, Grishanin RN, et al. Long-term safety evaluation of continuous intraocular delivery of aflibercept by the intravitreal gene therapy candidate ADV2-022 in nonhuman primates[J]. *Transl Vis Sci Technol*, 2021, 10(1): 34. DOI: 10.1167/tvst.10.1.34.
- [30] Grishanin R, Vuilleminot B, Sharma P, et al. Preclinical evaluation of ADV2-022, a novel gene therapy approach to treating wet age-related macular degeneration[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(1): 118–129. DOI: 10.1016/j.yth.2018.11.003.
- [31] Lai CM, Estcourt MJ, Himbeck RP, et al. Preclinical safety evaluation of subretinal AAV2. sFlt-1 in non-human primates[J]. *Gene Ther*, 2012, 19(10): 999–1009. DOI: 10.1038/gt.2011.169.
- [32] Rakoczy EP, Lai CM, Magno AL, et al. Gene therapy with



- recombinant adeno-associated vectors for neovascular age-related macular degeneration: 1 year follow-up of a phase 1 randomised clinical trial[J]. *Lancet*, 2015, 386(10011): 2395-2403. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00345-1.
- [33] Constable IJ, Pierce CM, Lai CM, et al. Phase 2a randomized clinical trial: safety and post hoc analysis of subretinal rAAV. sFLT-1 for wet age-related macular degeneration [J]. *EBioMedicine*, 2016, 14: 168-175. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.11.016.
- [34] Kim K, Park SW, Kim JH, et al. Genome surgery using Cas9 ribonucleoproteins for the treatment of age-related macular degeneration [J]. *Genome Res*, 2017, 27(3): 419-426. DOI: 10.1101/gr.219089.116.
- [35] Wu W, Lei H. Genome editing inhibits retinal angiogenesis in a mouse model of oxygen-induced retinopathy [J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2678: 207-217. DOI: 10.1007/978-1-0716-3255-0_17.
- [36] Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. *Science*, 2013, 339(6121): 819-823. DOI: 10.1126/science.1231143.
- [37] Rees HA, Liu DR. Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells [J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(12): 770-788. DOI: 10.1038/s41576-018-0059-1.
- [38] Campochiaro PA, Avery R, Brown DM, et al. Gene therapy for neovascular age-related macular degeneration by subretinal delivery of RGX-314: a phase 1/2a dose-escalation study [J]. *Lancet*, 2024, 403(10436): 1563-1573. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)00310-6.
- [39] Khanani AM, Boyer DS, Wykoff CC, et al. Safety and efficacy of ixoberogene soroparvec in neovascular age-related macular degeneration in the United States (OPTIC): a prospective, two-year, multicentre phase 1 study [J]. *EclinicalMedicine*, 2024, 67: 102394. DOI: 10.1016/j.eclinm.2023.102394.
- [40] Heier JS, Kherani S, Desai S, et al. Intravitreal injection of AAV2-sFLT01 in patients with advanced neovascular age-related macular degeneration: a phase 1, open-label trial [J]. *Lancet*, 2017, 390(10089): 50-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30979-0.
- [41] Constable IJ, Pierce CM, Lai CM, et al. Phase 2a randomized clinical trial: safety and post hoc analysis of subretinal rAAV. sFLT-1 for wet age-related macular degeneration [J]. *EBioMedicine*, 2016, 14: 168-175. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.11.016.
- [42] Adverum Biotechnologies. Adverum provides update on ADVM-022 and the INFINITY trial in patients with diabetic macular edema [EB/OL]. (2021-06-22) [2025-09-19]. <https://adverum.com/press-archive/adverum-provides-update-on-advm-022-and-the-infinity-trial-in-patients-with-diabetic-macular-edema/>.
- [43] Dhoot DS. Suprachoroidal delivery of investigational ABBV-RGX-314 for diabetic retinopathy: the phase II ALTITUDE study [C/OL]. 2022 ARVO Annual Meeting, Denver, May 1-4, 2022. <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2779832>.
- [44] Huang X, Zhou G, Wu W, et al. Editing *VEGFR2* blocks VEGF-induced activation of Akt and tube formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(2): 1228-1236. DOI: 10.1167/iovs.16-20537.
- [45] Huang X, Zhou G, Wu W, et al. Genome editing abrogates angiogenesis *in vivo* [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 112. DOI: 10.1038/s41467-017-00140-3.
- [46] Holmgaard A, Askou AL, Benckendorff J, et al. *In vivo* knockout of the *Vegfa* gene by lentiviral delivery of CRISPR/Cas9 in mouse retinal pigment epithelium cells [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 9: 89-99. DOI: 10.1016/j.omtn.2017.08.016.
- [47] Kim E, Koo T, Park SW, et al. *In vivo* genome editing with a small Cas9 orthologue derived from *Campylobacter jejuni* [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14500. DOI: 10.1038/ncomms14500.
- [48] Yang S, Zhao J, Sun X. Resistance to anti-VEGF therapy in neovascular age-related macular degeneration: a comprehensive review [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 1857-1867. DOI: 10.2147/DDDT.S97653.
- [49] Costagliola C, Morescalchi F, Duse S, et al. Systemic thromboembolic adverse events in patients treated with intravitreal anti-VEGF drugs for neovascular age-related macular degeneration: an update [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2019, 18(9): 803-815. DOI: 10.1080/14740338.2019.1643838.

(收稿日期:2025-10-13 修回日期:2026-05-20)

(本文编辑:施晓萌 骆世平)

读者·作者·编者

本刊对论文中统计学方法描述的要求

研究论文如有量化测试指标时须有统计学分析的内容,并在方法部分提供统计学方法的描述,反应变量为单变量时请提供测量指标数据资料的性质(如计量数据资料及计数数据资料的表达方式)、多个样本计量数据资料正态分布检验方法的名称及方差齐性检验方法的名称、实(试)验设计方法及与之相匹配的统计学设计(如配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等)、与统计设计相应的统计方法名称(如 t 检验、方差分析)以及检验水准。选择方差分析统计设计时应根据单因素或多因素设计选择正确的方法,不宜简单套用单因素方差分析。反应变量为双变量时,应根据实(试)验设计正确选择简单直线相关分析、回归分析或其他方法,不宜简单套用直线相关分析。统计学的检验水准请提供为双侧检验或单侧检验。论文结果部分的统计学分析内容可用相应的图表表达。

统计学符号的著录执行 GB/T 3358.1—2009/ISO 3534-1:2006《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体,如样本量用 n ; 中位数用英文斜体大写 M , 样本均数的标准误用英文小写 σ_x , t 检验用英文小写 t , F 检验用英文大写 F , 卡方检验用希腊文小写 χ^2 , 相关系数用英文小写 r , 秩相关分析相关系数用 r_s , 确定系数用 R^2 , 自由度用希腊文小写 ν ; 概率用英文大写 P ; 检验水准用 α 。统计结果的解释和表达采用对比组或比较对象之间差异有统计学意义的描述方法,而不用对比组之间差异具有显著性(或非常显著性)的描述。论文的统计学分析结果提倡提供统计学检验量值和 P 值的具体数据,如不能提供 P 值的具体数据时,必须提供统计学检验量值如 χ^2 值、 t 值、 F 值等。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,请给出 95% 可信区间(CI)。

(本刊编辑部)