

Duchenne 型肌营养不良症扩散张量成像研究

付雅 吴士文

【摘要】 目的 通过扩散张量成像(DTI)观察 Duchenne 型肌营养不良症患者脑结构和功能改变。**方法** 共 14 例 Duchenne 型肌营养不良症患者均行 DTI 检查,以双侧顶叶白质、额叶白质、胼胝体膝部和压部、尾状核头、扣带前回、扣带中回、扣带后回、豆状核、内囊前肢和后肢、丘脑、枕叶白质、颞叶白质、海马、小脑上脚和小脑中脚等脑区为兴趣区,测定各兴趣区部分各向异性(FA)值。**结果** 与正常对照者相比,Duchenne 型肌营养不良症患者仅胼胝体压部 FA 值降低($t = -2.187, P = 0.045$),其余脑区 FA 值组间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** Duchenne 型肌营养不良症患者胼胝体压部存在微细结构改变,然而,其与 Duchenne 型肌营养不良症患者认知功能改变之间的相关性尚待进一步研究。

【关键词】 肌营养不良,杜氏; 磁共振成像

A study of diffusion tensor imaging in Duchenne muscular dystrophy

FU Ya, WU Shi-wen

Department of Neurology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China

Corresponding author: WU Shi-wen (Email: neurowu@gmail.com)

【Abstract】 Objective To observe the white matter and gray matter impairment of Duchenne muscular dystrophy (DMD) patients with diffusion tensor imaging (DTI). **Methods** Fourteen male patients with DMD (6–11 years old) and 10 age-matched healthy boys participated into this study. All patients' diagnosis was based on typical signs and symptoms, serum creatine kinase (CK), electromyography, multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) for *DMD* gene test and muscle biopsy results. All participants were scanned by DTI. The fractional anisotropy (FA) values of regions of interest (ROIs), including bilateral parietal lobe white matter, bilateral frontal lobe white matter, genu of corpus callosum, splenium of corpus callosum, bilateral caput nuclei caudati, bilateral anterior cingulate gyrus, bilateral cingulate gyrus, bilateral posterior cingulate gyrus, bilateral lenticular nucleus, bilateral anterior limb of internal capsule, bilateral posterior limb of internal capsule, bilateral thalamus, bilateral occipital lobe white matter, bilateral temporal lobe white matter, bilateral hippocampus, bilateral superior cerebellar peduncle and bilateral middle cerebellar peduncle, were measured. The data was analyzed and compared between control group and DMD group. **Results** Compared with control group, the FA value of splenium of corpus callosum in DMD group was significantly reduced ($t = -2.187, P = 0.045$). No significant difference was found in FA values of other ROIs between 2 groups ($P > 0.05$, for all). **Conclusions** It is found in China for the first time that DMD patients had microstructural changes in splenium of corpus callosum. However, the correlation between this change and cognitive changes of DMD patients remains to be further studied.

【Key words】 Muscular dystrophy, Duchenne; Magnetic resonance imaging

Duchenne 型肌营养不良症(DMD)是一种进行性加重的致死性肌肉变性病,致病基因为 *DMD* 基因,呈 X 连锁隐性遗传,在活产男婴中的发病率约为 1/3500^[1]。*DMD* 基因编码的抗肌萎缩蛋白(dystrophin)是肌细胞骨架蛋白的主要成分,与肌膜

上的多种糖蛋白结合形成抗肌萎缩蛋白相关蛋白复合体(DAPC),以维持细胞稳定性^[2]。Dystrophin 蛋白在体内广泛存在,尤其分布于骨骼肌和中枢神经系统。

近年研究显示,Duchenne 型肌营养不良症存在中枢神经系统损害^[3-4]。*DMD* 基因突变致 dystrophin 蛋白缺失而造成中枢神经系统发育异常是研究的热点。解剖学研究显示,Duchenne 型肌营养不良症患者存在脑萎缩,并可见神经元丢失和异位、神

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2015.05.006

作者单位:100039 北京,武警总医院神经内科

通讯作者:吴士文(Email:neurowu@gmail.com)

经胶质细胞增生、神经原纤维缠结、浦肯野细胞丢失、星形胶质细胞增生和细胞核空泡化等^[5,6]。这可能是由于 dystrophin 蛋白在神经系统发育前即已广泛存在于神经管,调节细胞周期,造成神经细胞迁移和分化异常等^[7]。Duchenne 型肌营养不良症的中枢神经系统影像学研究成果差异较大,例如, Bresolin 等^[8]研究显示, Duchenne 型肌营养不良症患者脑室明显缩小,提示脑白质萎缩,但该项研究的样本量仅为 4 例;而 Rae 等^[9]对 15 例 Duchenne 型肌营养不良症患者进行影像学检查,未见明显脑室缩小; al-Qudah 等^[10]观察 4 例 Duchenne 型肌营养不良症患者的 MRI 表现, 2 例存在轻度脑萎缩,伴侧脑室扩张。考虑可能与既往检查手段如 CT 和 MRI 观察中枢神经系统微细结构有较大局限性有关,因此,更精细的检查手段是非常必要的。

扩散张量成像(DTI)是目前唯一能够有效观察和追踪中枢神经系统纤维束的非侵入性检查方法,主要用于微细结构的研究,尤其适用于白质纤维束的追踪以及神经系统发育和认知功能的研究。目前广泛应用于阿尔茨海默病(AD)、多发性硬化(MS)、精神分裂症等疾病。Doorenweerd 等^[11]对 Duchenne 型肌营养不良症患者进行 DTI 检查,发现枕叶白质部分各向异性(FA)值降低;国内尚无关于 Duchenne 型肌营养不良症与 DTI 的研究报道。本研究采用 DTI 对 Duchenne 型肌营养不良症患者脑结构和功能进行分析,以明确 Duchenne 型肌营养不良症患者脑组织改变情况。

对象与方法

一、研究对象

1. 纳入标准 (1) Duchenne 型肌营养不良症的诊断符合以下条件:① 3~4 岁发病,临床表现为进行性四肢近端肌无力。② 体格检查腓肠肌假性肥大, Gowers 征阳性。③ 实验室检查血清肌酸激酶(CK)水平升高。④ 肌电图呈现肌源性损害。⑤ 经基因检测明确诊断。(2) 本研究经武警总医院道德伦理委员会审核批准,所有患儿及其监护人均知情同意并签署知情同意书。

2. 排除标准 存在精神病及其他神经遗传性疾病病史。

3. 一般资料 (1) Duchenne 型肌营养不良症组(DMD 组):选择 2012 年 4~12 月在武警总医院 Duchenne 型肌营养不良症多学科联合门诊就诊且

诊断明确的 Duchenne 型肌营养不良症患者 14 例,均为男性;年龄 6~11 岁,平均为(8.50±2.40)岁。(2) 正常对照组:选择同期在我院进行体格检查的健康志愿者 10 例,均为男性;年龄 7~13 岁,平均(10.00±2.70)岁;头部 MRI 检查均未见明显异常。两组受试者年龄差异无统计学意义($t=0.960, P=0.338$),均衡可比。

二、研究方法

1. MRI 检查 采用德国 Siemens 公司生产的 Magnetom Trio Tim 3.0T 超高场强 MRI 扫描仪,8 通道头部线圈,头部以海绵垫固定。行 DTI 检查前,所有受试者均行 MRI 常规检查。(1) 横断面 T₂WI:扫描中心线平行于胫腓体膝部和压部最低点连线。重复时间(TR)4000 ms,回波时间(TE)113 ms,扫描视野(FOV)220 mm×220 mm,矩阵 320×256,激励次数(NEX)1 次,扫描层厚 5 mm、层间距 1.50 mm,共 19 层,扫描时间 74 s。(2) 横断面 T₁WI:扫描中心线平行于胫腓体膝部和压部最低点连线。重复时间为 200 ms,回波时间为 2.46 ms,扫描视野 220 mm×220 mm,矩阵为 320×256,激励次数为 1 次,扫描层厚 5 mm、层间距 1.50 mm,共 19 层,扫描时间 53 s。(3) 冠状位 FLAIR 成像:扫描中心线平行于脑干中线。重复时间 8000 ms,回波时间 87 ms,扫描视野 220 mm×220 mm,矩阵 320×224,激励次数 1 次,扫描层厚 5 mm、层间距 1.50 mm,共 19 层,扫描时间 146 s。(4) 横断面 DTI 序列:采用单次激发回波平面成像(EPI)。扫描中心线平行于胫腓体膝部和压部最低点连线。重复时间 4400 ms,回波时间 93 ms,扫描视野 220 mm×220 mm,矩阵 128×128,激励次数 4 次,分辨率 128×128,扫描层厚 4 mm、层间距为零,共 32 层,扫描时间 263 s,平行于胫腓体体部向 20 个方向施加扩散梯度(b 值为 0 和 1000 s/mm²)。

2. 数据后处理 将两组受试者 DTI 原始数据上传至 Parallel Processing 工作站(德国 Siemens 公司),采用 Neuro 3D 软件包定量测量 FA 值。以双侧顶叶白质(半卵圆中心层面)、额叶白质、胫腓体膝部和压部、尾状核头、扣带前回、扣带中回、扣带后回、豆状核、内囊前肢和后肢、丘脑(内囊最大层面)、枕叶白质、颞叶白质、海马、小脑上脚(中脑层面)、小脑中脚等脑区为兴趣区(ROI),手动画出 3 个体素的兴趣区,测量并记录 FA 值(图 1~4)。

三、统计分析方法

所得数据由 2 位具有临床经验的神放射科医

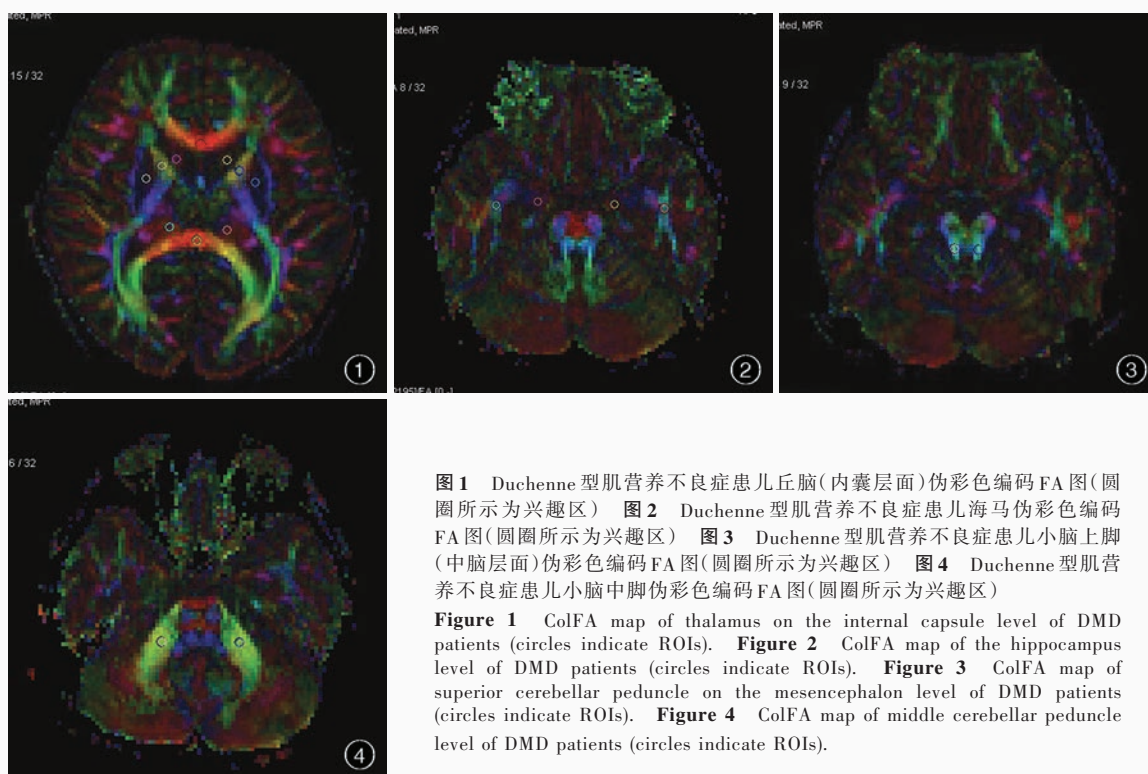


图1 Duchenne型肌营养不良症患者丘脑(内囊层面)伪彩色编码FA图(圆圈所示为兴趣区) 图2 Duchenne型肌营养不良症患者海马伪彩色编码FA图(圆圈所示为兴趣区) 图3 Duchenne型肌营养不良症患者小脑上脚(中脑层面)伪彩色编码FA图(圆圈所示为兴趣区) 图4 Duchenne型肌营养不良症患者小脑中脚伪彩色编码FA图(圆圈所示为兴趣区)

Figure 1 ColFA map of thalamus on the internal capsule level of DMD patients (circles indicate ROIs). Figure 2 ColFA map of the hippocampus level of DMD patients (circles indicate ROIs). Figure 3 ColFA map of superior cerebellar peduncle on the mesencephalon level of DMD patients (circles indicate ROIs). Figure 4 ColFA map of middle cerebellar peduncle level of DMD patients (circles indicate ROIs).

师进行独立测量和评价。采用SPSS 19.0统计软件进行数据处理与分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组受试者兴趣区FA值的比较采用两独立样本的 *t* 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

与正常对照组相比, DMD组患儿胼胝体压部FA值降低($t = -2.187, P = 0.045$; 图1, 表1)。而两组受试者双侧顶叶白质、额叶白质、胼胝体膝部、尾状核头、扣带前回、扣带中回、扣带后回、豆状核、内囊前肢和后肢、丘脑、枕叶白质、颞叶白质、海马、小脑上脚、小脑中脚等脑区FA值比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

讨 论

Duchenne型肌营养不良症为X连锁隐性遗传性疾病, 是人类第二大隐性遗传性疾病。由于患者生存期短, 多于20岁左右死于循环和呼吸衰竭, 因此, 该病在人群中的患病率低, 男性约为1/18 000, 目前国内约有 65×10^3 例患者。DMD基因突变导致其编码的dystrophin蛋白缺失, 肌膜不稳定, 最终导

致肌细胞坏死和功能障碍而发病。组织学形态可见肌纤维变性、坏死、萎缩和增生, 免疫组织化学染色可见dystrophin蛋白缺失。临床症状主要表现为肌无力、肌肉假性肥大、心肌损害、脊柱侧弯、关节挛缩、认知功能障碍等。DMD基因在中枢神经系统亦呈高表达, 其缺陷导致dystrophin蛋白缺失, 从而使中枢神经系统发育异常, 以及突触功能、血-脑屏障、脑代谢和小脑功能改变等。

DTI是一种无创性功能成像方法, 可在三维空间内定量分析在体水分子自由扩散速度和方向, 是目前唯一能够在体显示白质纤维束走行、方向、排列、紧密度、髓鞘化程度等信息的非侵入性方法, 可显示白质纤维束的解剖和病理过程, 间接评价白质纤维束完整性^[12]。与MRI常规检查相比, DTI有较多优势, 如扫描时间短、获得信息多、图像质量佳、对微细结构和功能改变敏感、评价指标多等^[13]。而且, DTI是非侵入性成像方法, 无需使用放射性示踪剂, 对人体无害。

相关研究显示, 白质纤维束FA值较高, 灰质次之^[13-14]。此外, FA值还受神经纤维微细结构等因素的影响, 如纤维髓鞘化程度、髓鞘内部结构、神经纤维直径和密度、神经纤维排列等。因此, FA值可以

表 1 正常对照组与 DMD 组受试者不同兴趣区 FA 值的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of FA values in different ROIs between control group and DMD group ($\bar{x} \pm s$)

Item	Control (N = 10)	DMD (N = 14)	t value	P value	Item	Control (N = 10)	DMD (N = 14)	t value	P value
Parietal lobe white matter					Posterior limb of internal capsule				
Left	0.54 ± 0.10	0.50 ± 0.11	-0.940	0.357	Left	0.76 ± 0.05	0.75 ± 0.06	-0.693	0.495
Right	0.53 ± 0.12	0.53 ± 0.08	-0.017	0.987	Right	0.75 ± 0.06	0.75 ± 0.04	0.522	0.607
Frontal lobe white matter					Thalamus				
Left	0.37 ± 0.97	0.36 ± 0.13	-0.257	0.799	Left	0.25 ± 0.08	0.23 ± 0.04	-0.868	0.395
Right	0.38 ± 0.09	0.39 ± 0.09	-0.205	0.839	Right	0.27 ± 0.08	0.25 ± 0.05	-0.576	0.645
Caput nuclei caudati					Occipital lobe white matter				
Left	0.13 ± 0.03	0.14 ± 0.04	0.687	0.500	Left	0.55 ± 0.17	0.51 ± 0.08	-0.833	0.414
Right	0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.05	0.717	0.481	Right	0.59 ± 0.16	0.53 ± 0.10	-1.033	0.313
Anterior cingulate gyrus					Temporal lobe white matter				
Left	0.18 ± 0.04	0.20 ± 0.05	1.368	0.185	Left	0.47 ± 0.07	0.41 ± 0.08	-1.886	0.073
Right	0.17 ± 0.05	0.19 ± 0.06	1.157	0.260	Right	0.40 ± 0.10	0.39 ± 0.09	-0.375	0.712
Cingulate gyrus					Hippocampus				
Left	0.17 ± 0.04	0.17 ± 0.04	-0.615	0.545	Left	0.15 ± 0.05	0.17 ± 0.06	0.781	0.443
Right	0.16 ± 0.04	0.18 ± 0.05	0.799	0.433	Right	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.05	-1.278	0.215
Posterior cingulate gyrus					Superior cerebellar peduncle				
Left	0.19 ± 0.05	0.24 ± 0.05	1.144	0.265	Left	0.79 ± 0.05	0.73 ± 0.07	-2.001	0.058
Right	0.17 ± 0.04	0.22 ± 0.07	1.930	0.067	Right	0.76 ± 0.05	0.72 ± 0.07	-1.644	0.114
Lenticular nucleus					Middle cerebellar peduncle				
Left	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.154	0.879	Left	0.76 ± 0.09	0.73 ± 0.10	-0.870	0.394
Right	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.460	0.650	Right	0.79 ± 0.09	0.76 ± 0.07	-0.917	0.369
Anterior limb of internal capsule					Genu of corpus callosum	0.81 ± 0.08	0.76 ± 0.05	-1.986	0.060
Left	0.66 ± 0.08	0.61 ± 0.07	-1.719	0.100	Splenium of corpus callosum	0.87 ± 0.06	0.79 ± 0.12	-2.187	0.045
Right	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.10	-0.249	0.808					

DMD, Duchenne muscular dystrophy, Duchenne 型肌营养不良症

反映神经纤维和髓鞘结构的完整性。

本研究结果显示,与正常对照组相比,DMD 组患儿胼胝体压部 FA 值降低,可能是由于 Duchenne 型肌营养不良患儿胼胝体压部存在微细结构改变,从而使局部组织 FA 值降低。

本研究结果提示,胼胝体压部微细结构改变可能与 Duchenne 型肌营养不良患儿 DMD 基因缺陷致 dystrophin 蛋白缺失有关。Dystrophin 蛋白主要位于骨骼肌和心肌细胞膜质膜面,并广泛分布于中枢神经系统,具有细胞骨架、抗牵拉、防止胞膜撕裂作用。作为细胞骨架的主要成分,dystrophin 蛋白与胞膜上多种糖蛋白结合形成抗肌萎缩蛋白相关蛋白复合体,以维持细胞稳定性。Dystrophin 蛋白在中枢神经系统发育前即已广泛存在于神经管,在中枢神经系统发育过程中发挥重要作用。研究显示,dystrophin 蛋白缺失可以影响一系列离子通道、配体

门控受体、细胞内信号转导通路和细胞外基质相关蛋白^[15]。有学者认为,在神经系统发育阶段,dystrophin 蛋白缺失个体的细胞内钙离子表达异常,从而影响细胞周期的调节,导致神经细胞迁移和分化异常等^[7]。Deng 等^[16]研究发现,Duchenne 型肌营养不良患儿肌膜缺乏 dystrophin 蛋白,使一氧化氮合酶(NOS)减少,一氧化氮生成减少,从而导致神经细胞增生和异常分化。Duchenne 型肌营养不良患儿胼胝体压部 dystrophin 蛋白缺乏,导致神经纤维排列异常和髓鞘结构完整性破坏,从而使局部组织 FA 值降低。Duchenne 型肌营养不良患儿中枢神经系统改变及其发生机制尚待进一步研究。

胼胝体是双侧大脑半球间最大的白质联合,其功能改变可能影响所有心理和行为。胼胝体结构异常使一侧大脑半球信息加工不能与对侧大脑半球共享,破坏认知、注意和情绪等信息在大脑半球

间的整合加工,导致神经功能紊乱。1868 年, Duchenne^[17]在对该病的最初描述中提出,部分患儿存在不同程度认知功能障碍。本研究结果显示, Duchenne 型肌营养不良患儿胼胝体压部存在微细结构改变。而胼胝体压部与 Duchenne 型肌营养不良患儿认知功能改变之间的相关性尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, Monaco AP, Feener C, Kunkel LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of DMD gene in normal and affected individual. *Cell*, 1987, 50: 509-517.
- [2] Barbujani G, Russo A, Danieli GA, Spiegler AW, Borkowska J, Petrusewicz IH. Segregation analysis of DMD families: significant departure from the expected proportion of sporadic cases. *Hum Genet*, 1990, 84:522-526.
- [3] D'Angelo MG, Lorusso ML, Civati F, Comi GP, Magri F, Del Bo R, Guglieri M, Molteni M, Turconi AC, Bresolin N. Neurocognitive profiles in Duchenne muscular dystrophy and gene mutation site. *Pediatr Neurol*, 2011, 45:292-299.
- [4] Mento G, Tarantino V, Bisiacchi PS. The neuropsychological profile of infantile Duchenne muscular dystrophy. *Clin Neuropsychol*, 2011, 25:1359-1377.
- [5] Rosman NP, Kakulas BA. Mental deficiency associated with muscular dystrophy: a neuropathological study. *Brain*, 1996, 89: 769-788.
- [6] Rosman NP. The cerebral defect and myopathy in Duchenne muscular dystrophy: a comparative and clinicopathological study. *Neurology*, 1997, 20:329-335.
- [7] McEnery MW, Vance CL, Begg CM, Lee WL, Choi Y, Dubel SJ. Differential expression and association of calcium channel subunits in development and disease. *J Bioenerg Biomembr*, 1998, 30:409-418.
- [8] Bresolin N, Castelli E, Comi GP, Felisari G, Bardoni A, Perani D, Grassi F, Turconi A, Mazzucchelli F, Gallotti D. Cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 1994, 4:359-369.
- [9] Rae C, Scott RB, Thompson CH, Dixon RM, Dumughn I, Kemp GJ, Male A, Pike M, Styles P, Radda GK. Brain biochemistry in Duchenne muscular dystrophy: a ¹H magnetic resonance and neuropsychological study. *J Neurol Sci*, 1998, 160:148-157.
- [10] al-Qudah AA, Kobayashi J, Chuang S, Dennis M, Ray P. Etiology of intellectual impairment in Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr Neurol*, 1990, 6:57-59.
- [11] Doorenweerd N, Straathof CS, Dumas EM, Spitali P, Ginjaar IB, Wokke BH, Schrans DG, van den Bergen JC, van Zwet EW, Webb A, van Buchem MA, Verschuuren JJ, Hendriksen JG, Niks EH, Kan HE. Reduced cerebral gray matter and altered white matter in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol*, 2014, 76:403-411.
- [12] Le Bihan D. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4:469-480.
- [13] Mori S, Zhang J. Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*, 2006, 51: 527-539.
- [14] Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system: a technical review. *NMR Biomed*, 2002, 15(7/8): 435-455.
- [15] Mehler MF. Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation. *Brain Res Brain Res Rev*, 2000, 32:277-307.
- [16] Deng B, Glanzman D, Tidball JG. Nitric oxide generated by muscle corrects defects in hippocampal neurogenesis and neural differentiation caused by muscular dystrophy. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 8):1769-1778.
- [17] Duchenne GB. Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique, ou paralysie myo-sclerosique. *Arch Gen Med*, 1868, 11:5-25.

(收稿日期:2015-04-30)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(四)

Duchenne 型肌营养不良症

Duchenne muscular dystrophy(DMD)

兴趣区 region of interest(ROI)

血管活性肠肽 vasoactive intestinal polypeptide(VIP)

烟碱型乙酰胆碱受体

nicotinic acetylcholine receptor(nAChR)

一氧化氮合酶 nitric oxide synthase(NOS)

医学研究学会 Medical Research Council(MRC)

移植物抗宿主病 graft-versus-host disease(GVHD)

乙二胺四乙酸 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)

用力肺活量 forced vital capacity(FVC)

有丝分裂原激活蛋白激酶

mitogen-activated protein kinase(MAPK)

诱导型多能干细胞 induced pluripotent stem cells(iPSCs)

原始神经外胚层肿瘤

primitive neuroectodermal tumor(PNET)

早老素 1 presenilin-1(PS-1)

早老素 2 presenilin-2(PS-2)

造血干细胞 hematopoietic stem cells(HSCs)

肢带型肌营养不良症

limb-girdle muscular dystrophy(LGMD)

重症联合免疫缺陷

severe combined immunodeficiency(SCID)

注意力缺陷多动障碍

attention deficit hyperactivity disorder(ADHD)

自身免疫性视神经病 autoimmune optic neuropathy(AON)

组内相关系数 interclass correlation coefficient(ICC)