

# Duchenne 型肌营养不良症治疗研究进展及应用前景

张成 李欢

**【摘要】** Duchenne 型肌营养不良症是定位于 X 染色体的 *DMD* 基因缺陷导致的严重遗传性肌肉病。目前尚无治愈方法,但在多种综合治疗干预下,患者生存期延长、生活质量提高。临床治疗方法包括药物治疗(糖皮质激素、血管紧张素转换酶抑制剂、艾地苯醌、沙丁胺醇)、呼吸系统支持尤其是无创性呼吸机的应用、以水疗法和抗关节挛缩为主的康复治疗、营养管理等。基因治疗(外显子跳跃、无义突变通读、腺相关病毒介导的微小抗肌萎缩蛋白基因替代治疗)、抑制肌肉生长抑制素、上调肌营养相关蛋白和基因编辑治疗等新兴治疗方法也在蓬勃发展,外显子 51 跳跃治疗和无义突变通读治疗在临床试验中取得一定成果。本文拟对近年来 Duchenne 型肌营养不良症传统综合治疗和新兴治疗的临床试验和动物实验研究进展和应用前景进行概述。

**【关键词】** 肌营养不良,杜氏; 综述

## Research advance and application prospect of therapeutic strategies for Duchenne muscular dystrophy

ZHANG Cheng, LI Huan

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat - sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

Corresponding author: ZHANG Cheng (Email: zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

**【Abstract】** Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X-linked, severe genetic muscular disorder caused by the deficiency of *DMD* gene. There is still no curative therapy for the disease, but improving survival and life quality of the patients have been achieved due to multidisciplinary interventions. The therapies available for clinical treatment include drug therapies [glucocorticoids, angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI), idebenone, albuterol], management of respiratory system, especially the use of non-invasive ventilator, rehabilitation therapy focusing on hydrotherapy and prevention of joint contracture, nutritional management, and so on. Advancing therapeutic strategies including gene therapies (exon skipping, nonsense mutation readthrough therapy and adeno-associated virus (AAV) mediated micro/mini-dystrophin therapy), myostatin and compensatory upregulation of utrophin, and gene editing have made great progress in preclinical study and some of them like exon skipping therapy of exon 51 and nonsense mutation readthrough therapy have been studied in a few clinical trials and made some achievements.

**【Key words】** Muscular dystrophy, Duchenne; Review

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81471280, 81771359, 81271401), the National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (No. 81601087), 2015 Production, Study and Research Special Project of Guangzhou, Guangdong Province, China (No. 1561000153), and Non-Profit Study and Capability Building Special Fund Support Project of Guangdong Provincial Department of Science and Technology, China in the Year 2014 (No. 2014A020212130).

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2018.07.004

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81471280);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81771359);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81271401);国家自然科学基金青年科学基金资助项目(项目编号:81601087);广东省广州市 2015 年产学研专项项目(项目编号:1561000153);广东省科学技术厅 2014 年度公益研究与能力建设专项资金资助项目(项目编号:2014A020212130)

作者单位:510080 广州,中山大学附属第一医院神经科

通讯作者:张成(Email:zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

Duchenne 型肌营养不良症 (DMD) 是最常见的遗传性肌肉病之一, 发病率为 1/3500 ~ 1/6000 活产男婴<sup>[1]</sup>。通常于 3 ~ 6 岁隐匿发病, 且随年龄的增长症状进行性加重, 表现为全身骨骼肌进行性萎缩、无力, 小腿腓肠肌假性肥大, 常伴心肌损害, 20 岁以上患者可以观察到心肌损害表现, 部分患者伴非进展性智力障碍<sup>[2]</sup>。自然病程下约于 12 岁丧失独立行走能力, 需轮椅代步, 约 20 余岁死于呼吸和 (或) 循环功能衰竭。Duchenne 型肌营养不良症是由位于染色体 Xp21 的 *DMD* 基因突变所致, 该基因全长  $2.22 \times 10^6$  bp, 是目前已知的人类最大基因, 编码由 79 个外显子构成的相对分子质量为  $427 \times 10^3$  的抗肌萎缩蛋白 (dystrophin)。Duchenne 型肌营养不良症除肌肉症状外, 还伴有心肌、呼吸系统、神经系统和关节骨骼畸形等继发性症状, 治疗需多学科协作, 传统药物治疗包括糖皮质激素、血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI)、艾地苯醌、沙丁胺醇等 (其中口服糖皮质激素治疗是目前 Duchenne 型肌营养不良症的标准治疗方法), 呼吸系统管理, 康复治疗, 畸形矫正, 内分泌干预, 营养指导等; 而新兴治疗方法如基因治疗 [包括外显子跳跃、无义突变通读和腺相关病毒 (AAV) 介导的微小抗肌萎缩蛋白 (*micro/mini-dystrophin*) 基因替代治疗]、干细胞移植、分子治疗等亦取得较大进展并具有较好的治疗前景。本文综合介绍近年 Duchenne 型肌营养不良症治疗方面取得的研究进展和应用前景。

#### 一、Duchenne 型肌营养不良症临床治疗方案

1. 药物治疗 (1) 糖皮质激素: 糖皮质激素是 2018 年美国 Duchenne 型肌营养不良症护理注意事项工作组 (DMD Care Considerations Working Group) Duchenne 型肌营养不良症诊断和家庭护理指南强烈推荐的标准治疗方法。长期应用糖皮质激素可以延缓肌力减退、延长行走时间, 有助于保持上肢功能和呼吸功能, 降低因脊椎侧弯而行外科手术的风险, 且对心肌有保护作用, 可以降低各种原因导致的病死率<sup>[3-4]</sup>。但长期应用糖皮质激素有明显不良反应, 包括肥胖、骨质疏松、生长抑制等, 同时可能导致下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴抑制, 突然停药或快速减量可以导致肾上腺功能障碍甚至肾上腺危象。因此, 应规范糖皮质激素治疗的开始时间、药物剂量、增量或减量条件, 还应注意预防与治疗药物不良反应<sup>[5]</sup>。Duchenne 型肌营养不良症一经明确诊断, 临床医师应注意与患者家属沟通糖皮

质激素治疗的益处、治疗方案、可能的药物不良反应和预防措施等, 增强对糖皮质激素治疗的正确认识, 提高糖皮质激素的应用率。开始应用糖皮质激素的年龄尚无定论, 研究显示, 疾病早期尚未出现明显临床症状即开始应用糖皮质激素有益<sup>[6-7]</sup>。Duchenne 型肌营养不良患儿运动功能发育平台期为 4 ~ 6 岁, 切忌运动功能发育期 (< 2 岁) 应用糖皮质激素, 完成常规疫苗接种后方可应用。Duchenne 型肌营养不良症诊断和家庭护理指南推荐, 糖皮质激素治疗剂量为泼尼松或者泼尼松龙  $0.75 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  或地夫可特  $0.90 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ <sup>[8]</sup>。地夫可特在某些西方国家和印度、孟加拉国等已批准上市用于治疗 Duchenne 型肌营养不良症, 但在中国尚未批准上市。一项随机对照临床试验显示, 泼尼松和地夫可特均可以有效治疗 Duchenne 型肌营养不良症, 而地夫可特使瘦体重 (LBS) 增加的风险低于泼尼松<sup>[9]</sup>。药物增量或减量应缓慢规范进行, 切忌突然停药或快速减量<sup>[8]</sup>。糖皮质激素对丧失运动功能的 Duchenne 型肌营养不良症患者仍有益, 应减少剂量继续应用<sup>[8]</sup>。(2) 血管紧张素转换酶抑制剂: 呼吸衰竭是晚期 Duchenne 型肌营养不良症的最常见死因, 但是随着无创性呼吸机等呼吸系统支持的改进, 心肌损害致循环衰竭和心律失常在死因中占据越来越重要的位置。Duchenne 型肌营养不良症患者心肌受累明显, 一项关于培哚普利临床试验显示, 约 25% 的 9 岁 6 个月至 13 岁患儿存在左心室射血功能异常<sup>[10]</sup>; 另一项研究显示, 约 59% 的 > 15 岁患者心脏 MRI 检查可以观察到明显的心肌损害<sup>[11]</sup>; 几乎所有 > 20 岁患者均存在心肌损害, 如胸痛、胸闷、心慌、心悸等。Duchenne 型肌营养不良症的心脏病变起病隐匿, 6 岁以上患儿应行心功能基线评价, 包括心电图、超声心动图或心脏 MRI 检查, 10 岁前推荐每年进行一次心功能基线评价, 10 岁后无临床症状的患儿至少每年进行一次心功能基线评价, 有临床症状或心脏影像学异常的患儿应在心内科医师的指导下增加心功能基线评价的频率<sup>[12]</sup>。血管紧张素转换酶抑制剂是治疗 Duchenne 型肌营养不良症心脏病变的一线药物, 对其不能耐受者, 可以改用血管紧张素 II 受体阻断剂 (ARB)<sup>[13]</sup>。 $\beta$ 受体阻断剂能否用于儿童心肌病目前尚存争议。一项为期 8 个月的多中心随机对照临床试验显示, 卡维地洛治疗心功能衰竭并未获益<sup>[14]</sup>。亦有研究显示,  $\beta$ 受体阻断剂对 Duchenne 型肌营养不良症心脏病变

有益<sup>[15]</sup>。一项前瞻性研究显示,单纯应用血管紧张素转换酶抑制剂或与 $\beta$ 受体阻断剂联合应用均可改善左心室射血功能<sup>[16]</sup>。Duchenne 型肌营养不良症患者开始血管紧张素转换酶抑制剂治疗的时间尚存争议。一旦患者出现心功能障碍症状或超声心动图、心脏 MRI 提示心功能异常,即应开始药物治疗。研究显示,早期应用血管紧张素转换酶抑制剂,可以延缓 Duchenne 型肌营养不良症患者左心室功能异常的出现,降低心脏不良事件病死率<sup>[17-18]</sup>。Duchenne 型肌营养不良症诊断和家庭护理指南推荐,>10 岁的患者(除外禁忌证)均应开始应用血管紧张素转换酶抑制剂<sup>[12]</sup>。但对于更年幼(<10 岁)、超声心动图和心脏 MRI 均无异常的无临床症状者是否开始血管紧张素转换酶抑制剂治疗目前尚存争议<sup>[19]</sup>。 $\beta$ 受体阻断剂的应用亦无定论,通常用于左心室功能异常或心率加快时,或者在血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素 II 受体阻断剂的基础上联合应用<sup>[12,20]</sup>。(3)艾地苯醌:是一种强效抗氧化剂,同时是脂质过氧化抑制剂,可以改善线粒体呼吸链功能,增加细胞能量产物,目前该药已在多种存在线粒体功能障碍的疾病中进行临床试验<sup>[21-22]</sup>。动物实验显示,早期、长期使用艾地苯醌对 Duchenne 型肌营养不良症 mdx 小鼠心脏具有保护作用,提高其运动训练成绩<sup>[23]</sup>。艾地苯醌 II 期临床试验予 21 例 8~16 岁 Duchenne 型肌营养不良症患者艾地苯醌 450 mg/d,口服 12 个月,结果显示,患儿对药物耐受良好,可改善循环和呼吸功能指标,最早且最明显的循环功能指标是左心室外侧壁心肌收缩期峰值径向应变(peak systolic radial strain)增加,呼吸功能指标是呼气流量峰值(PEF)改善<sup>[24]</sup>。进一步的随机对照双盲多中心 III 期临床试验纳入 64 例未同时予糖皮质激素治疗的 10~18 岁 Duchenne 型肌营养不良症患者,其中 59 例(92.19%)丧失行走能力,分别予艾地苯醌 300 mg/次、3 次/d 和安慰剂口服,治疗 52 周,结果显示,艾地苯醌可以明显改善呼吸功能指标,包括 PEF 及其占预测值百分比(PEF%p)、用力肺活量(FVC)等<sup>[25]</sup>。多项临床试验显示,艾地苯醌具有较高的安全性,患者耐受性良好,可以改善其循环和呼吸功能指标、延缓呼吸功能减退速度<sup>[24-26]</sup>。(4)沙丁胺醇:是 $\beta_2$ 受体激动剂,多用于呼吸系统疾病如哮喘等的治疗,临床试验和动物实验证实其可增强肌肉功能和力量<sup>[27-28]</sup>。可能作用机制是通过上调特异性钙蛋白酶抑制剂

抑制钙蛋白酶介导的蛋白水解<sup>[27]</sup>。沙丁胺醇亦可以用于 Duchenne 型肌营养不良症的治疗,有研究显示,沙丁胺醇可增强 mdx 小鼠肌肉力量和容积<sup>[28]</sup>。国外临床试验显示,肌营养不良症[面-肩-肱型肌营养不良症(FSHD)和 Duchenne 型肌营养不良症]患者予 $\beta_2$ 受体激动剂亦可能获益<sup>[29-30]</sup>。一项纳入 9 例 5~9 岁 Duchenne 型肌营养不良症/Becker 型肌营养不良症(BMD)患儿的随机对照临床试验显示,予沙丁胺醇 4 mg/次、2 次/d 治疗 12 周后,屈膝和伸膝肌力明显增强,徒手肌力测定(MMT)评分增加<sup>[31]</sup>。另一项纳入 14 例 6~11 岁 Duchenne 型肌营养不良症患儿的临床试验显示,予沙丁胺醇缓释片(舒喘灵) 12 mg/d 治疗 12 周后,瘦体重增加,脂肪量减少,运动功能提高,表现为行走或跑步 30 米时间减少,但特异性肌肉力量测验与前一项临床试验结果不同,即屈膝和伸膝肌力、MMT 评分均未见提高,可能与两项研究所用的药物剂型和药代动力学不同导致 $\beta_2$ 受体激动剂在肌细胞中分布不同有关<sup>[30]</sup>。临床研究和动物实验均证实沙丁胺醇对 Duchenne 型肌营养不良症有一定疗效,可以增加肌肉力量和容积,尚待更大样本量的临床试验验证。

2. 呼吸系统管理 肌无力和肌萎缩影响 Duchenne 型肌营养不良症患者的呼吸系统。随着年龄增长,呼吸肌损害症状越来越突出,可以出现多种呼吸系统并发症如黏液堵塞、肺不张、睡眠障碍性呼吸、反复肺炎,直至终末期呼吸衰竭。呼吸衰竭是晚期 Duchenne 型肌营养不良症患者的最常见死因。随着辅助通气技术的发展,合理的呼吸系统管理可以延长患者生存期。FVC 及其占预测值百分比(FVC%p)降低是已证实的最好的预测 Duchenne 型肌营养不良症患者早期病残和病死的呼吸功能指标<sup>[32]</sup>。FVC%p 下降通常开始于 7 岁时,约至 10 岁降至正常值范围下限,此后每年以 5%~8% 的速度直线下降,约于 20 岁达最低值<sup>[33]</sup>。FVC%p < 50% 时,开始出现呼吸功能障碍早期症状如夜间通气不足、夜间频繁憋醒、晨起头痛和注意力缺陷等;< 30% 时,出现严重呼吸功能障碍<sup>[34-35]</sup>。Duchenne 型肌营养不良症患者应于 5~6 岁开始持续呼吸功能监测,如可行走阶段每年监测 FVC,不能行走后每 2 年监测最大吸气压(MIP)/最大呼气压(MEP)、峰咳流值(PCF)、脉搏血氧饱和度(SpO<sub>2</sub>)、呼气末二氧化碳分压(PetCO<sub>2</sub>)/经皮二氧化碳分压(PtcCO<sub>2</sub>),出现睡眠呼吸暂停综合征(SAHS)时于睡

眠期监测  $\text{PetCO}_2$  [12]。呼吸系统的干预措施主要包括每天应用无创面罩式吸痰机以增加肺容积,呼吸训练器,家用脉搏血氧仪检测  $\text{SpO}_2$  以指导患者咳嗽、咳痰,严重者应夜间辅助通气,继而全天应用无创性呼吸机。Duchenne 型肌营养不良症诊断和家庭护理指南对呼吸系统干预措施的建议是:对于尚能行走和刚丧失行动能力的患者,应每年接种肺炎球菌疫苗和流感灭活疫苗;  $\text{FVC}\%_p < 60\%$  时增加肺容积训练;  $\text{FVC}\%_p < 50\%$ 、 $\text{PCF} < 270 \text{ L/min}$  或  $\text{MEP} < 60 \text{ cm H}_2\text{O}$  ( $1 \text{ cm H}_2\text{O} = 0.098 \text{ kPa}$ ) 时人工或机械辅助咳嗽;出现夜间通气不足或睡眠障碍性呼吸症状如晨起头痛、疲劳、夜间因呼吸困难或心动过速而觉醒、注意力下降、夜间频繁噩梦等,应于夜间使用无创性呼吸机;日间  $\text{SpO}_2 < 95\%$ 、二氧化碳分压 ( $\text{PaCO}_2$ )  $> 45 \text{ mm Hg}$  ( $1 \text{ mm Hg} = 0.133 \text{ kPa}$ ) 或清醒期出现呼吸困难时,应日间使用无创性呼吸机 [12]。有文献报道,可全天使用无创性呼吸机 [36]。若无创性呼吸机不能维持呼吸功能,应行气管切开术以保证呼吸功能;若出现下呼吸道感染等临床表现并经痰培养证实,应及时予抗生素治疗 [12]。

3. 康复治疗 尽管 Duchenne 型肌营养不良症尚无治愈方法,但随着医疗和护理条件的改善,近 10 余年来患者生存期明显延长,自 20 世纪 70 年代的 15~20 岁延长至 26~35 岁,主要归功于综合性护理、营养、康复治疗等,其中康复治疗对提高生活质量、延缓疾病进展具有重要作用 [37]。不同类型的康复治疗贯穿 Duchenne 型肌营养不良症病程的不同阶段,如各关节抗挛缩治疗、脊柱畸形预防与治疗、呼吸肌训练等。康复治疗的最主要目标是尽可能保持运动功能,延缓关节挛缩,预防和治疗脊柱畸形。康复治疗的主要方法包括运动治疗和物理治疗。(1) 运动治疗:系通过主动运动、主动助力运动或被动运动以改善关节活动度、增加肌肉力量、牵伸软组织、改善循环和呼吸功能的治疗 [38]。肌肉牵伸和关节挛缩的预防是治疗关键。踝关节、膝关节、髋关节、指关节、腕关节、肘关节、肩关节在 Duchenne 型肌营养不良症的不同阶段需要不同的牵伸。病程各阶段,患者均应在家中或康复机构坚持进行踝关节、膝关节和髋关节牵伸,丧失行走能力后,还应进行指关节、腕关节、肘关节和肩关节牵伸,必要时还应牵伸颈椎 [8,37]。踝关节抗挛缩治疗是重点,Duchenne 型肌营养不良症患者均具有不同程度的踝关节(跟腱)挛缩,尚可行走时,通过踝关

节背屈被动运动以牵伸跟腱,治疗前可先进行热疗(热敷或热水浸泡)以增加软组织伸展性,由于治疗后牵伸的软组织易反弹,可以器械持续牵伸以巩固疗效;对于踝关节挛缩严重的患者,可以夜间采用定制的踝足矫形器;对于股四头肌和髋关节伸肌力量尚佳的患者,可以通过跟腱延长以缓解关节挛缩,改善步态,石膏固定矫形亦可达到明显改善踝关节挛缩的效果 [8,37];丧失行走能力后,应用踝足矫形器、石膏固定矫形或站立床以治疗挛缩的踝关节,同时伴膝关节挛缩时可应用膝踝足矫形器 [8,37];对于肘关节挛缩的患者,也可以采用石膏固定矫形。应避免高强度、离心运动训练(如下楼梯),可以规律进行骑自行车或者游泳等有氧运动训练。(2) 物理治疗:系通过电、光、声、磁、冷、热、水等物理因素改善运动功能的治疗方法。水疗法(hydrotherapy)系指用水治疗疾病,促进康复,包括浸浴法、蒸汽浴法、步行浴法和水中运动等 [38]。水疗法与运动治疗相结合在多种神经肌肉病中有特殊意义。水密度接近人体,可以作为瘫痪、炎症和肌萎缩患者进行运动训练的介质。躯体浸没在水中,流体静水压作用于躯体表面,促进外周静脉和淋巴回流;热水浴使血管扩张、充血,促进肌肉血液循环和新陈代谢,缓解挛缩;水的浮力使人体受重力的作用减小,使僵硬的关节易活动和进行各种功能训练 [37]。一项来自英国的临床研究比较单纯陆地运动训练(单纯陆地训练组)和陆地运动训练结合水疗法(联合治疗组)对 Duchenne 型肌营养不良患儿的康复效果,结果显示,康复治疗师和患儿家属对水疗法的反应更加积极,与单纯陆地训练组相比,联合治疗组患儿 6 个月后手运动功能评分下降速度减慢 [39]。

4. 营养管理及其他 Duchenne 型肌营养不良症患者由于糖皮质激素治疗、能量消耗减少、运动不足等因素常出现营养并发症,包括肥胖、消瘦、营养不均衡、骨密度降低、疾病晚期吞咽功能障碍或下颌骨挛缩等,应予以科学的营养管理 [8]。营养应均衡,能量、蛋白质、钙、维生素 D 和矿物质等应合理搭配,食用高蛋白食物如牛奶、鸡蛋、瘦肉、鱼类等;多食蔬菜、水果,少食脂肪和过量糖类,保持中等身材,防止肥胖。至疾病晚期因肌萎缩加重和咽喉肌无力而出现吞咽困难、体重下降  $> 10\%$ ,或者饮食、饮水呛咳导致吸入性肺炎时,应采用鼻饲管或进行胃造口进食 [37]。Duchenne 型肌营养不良症患者由

于疾病本身的影响或糖皮质激素的不良反应,可能出现生长减缓、青春期发育迟滞、肾上腺功能障碍等内分泌系统并发症,应注意监测生长发育情况,识别和鉴别诊断激素分泌减少,必要时应考虑激素替代疗法,预防和治疗肾上腺危象<sup>[8]</sup>。目前,生长激素和睾酮替代治疗的有效性和安全性尚存争议。该病尚无治愈方法,患者易出现自暴自弃、抑郁、焦虑等心理问题,越来越多的研究显示,Duchenne 型肌营养不良症患者出现中枢神经系统症状如智力障碍尤其是语言发育落后、学习障碍、多动症、孤独症、情绪障碍等的风险较高<sup>[40]</sup>。应提高对 Duchenne 型肌营养不良症患者心理健康的关注,提供来自社会、家庭、学校、医院等多方面的心理支持,坚持个体化治疗,提高患者对生活的信心。对于出现严重神经精神症状的患者,应在综合考虑年龄、病情、药物不良反应等情况下进行药物治疗。

## 二、Duchenne 型肌营养不良症临床治疗研究

上述综合治疗可以一定程度延缓疾病进展和继发性临床症状,但并不能逆转疾病结局。Duchenne 型肌营养不良症的根本致病原因是 *DMD* 基因缺陷致 dystrophin 减少或缺失,因此,从根本上治愈 Duchenne 型肌营养不良症应恢复肌细胞 dystrophin 水平。目前的临床治疗研究主要致力于基因治疗和干细胞移植治疗以恢复蛋白表达、上调其他肌细胞骨架蛋白如肌营养相关蛋白(utrophin)表达、抑制肌肉生长负调节因子、抗炎治疗等延缓疾病进展。近年来,Duchenne 型肌营养不良症的临床探索性治疗进展较大,新兴治疗方法如外显子跳跃治疗、无义突变通读治疗和腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗等已进入临床试验阶段,并取得一定成果,具有较好的发展前景。

1. 外显子跳跃治疗 外显子跳跃治疗是 Duchenne 型肌营养不良症研究最多的基因治疗,业已取得一定成果,具有良好的治疗前景。*DMD* 基因突变可以引起 Duchenne 型肌营养不良症和 Becker 型肌营养不良症两种临床表型。后者发病年龄较晚,病情进展较慢,生存期较长。可读框(ORF)学说可以解释约 90% 的 *DMD* 基因突变导致的上述两种临床表型<sup>[41-42]</sup>。移码突变破坏可读框,使 dystrophin 完全缺失,导致严重的临床表型——Duchenne 型肌营养不良症;而整码突变不破坏可读框,表达截短但有部分功能的 dystrophin,导致相对较轻的临床表型——Becker 型肌营养不良症<sup>[41,43]</sup>。近年来,外显

子跳跃治疗在 Duchenne 型肌营养不良症的治疗上取得较大进展,通过反义寡核苷酸(ASO)诱导的选择性剪接前信使 RNA(pre-mRNA)跳过特定外显子,恢复 *DMD* 基因可读框,产生内源性截短但有功能的 dystrophin,使症状较重的 Duchenne 型肌营养不良症临床表型转变为症状较轻的 Becker 型肌营养不良症临床表型<sup>[44]</sup>。反义寡核苷酸是人工合成的短核酸序列,长度为 8~50 bp,可以选择性与靶信使 RNA(mRNA)互补序列结合。Duchenne 型肌营养不良症突变类型复杂,目前已知 7000 种 *DMD* 基因突变与其发病有关,大多数 *DMD* 基因突变为 1 个或多个外显子大片段缺失(约 65%),亦可见大片段重复(约 12%)和点突变(约 10%)<sup>[45]</sup>。不同基因突变的外显子跳跃治疗策略有所不同,体外实验和动物实验均证实反义寡核苷酸介导的外显子跳跃治疗可以用于 Duchenne 型肌营养不良症的 *DMD* 基因缺失、重复、剪切位点突变和无义突变<sup>[46]</sup>,可用于 *DMD* 基因所有外显子跳跃治疗<sup>[47]</sup>。约 70% 的大片段缺失的 Duchenne 型肌营养不良症患者和 47% 的无义突变患者,可以通过单外显子跳跃治疗实现 *DMD* 基因可读框的恢复,反义寡核苷酸鸡尾酒疗法可以实现 *DMD* 基因多个外显子跳跃治疗,理论上可用于 80%~90% 的 Duchenne 型肌营养不良症患者,并已经动物模型如小鼠和犬模型证实<sup>[46,48]</sup>。另一方面,部分患者 *DMD* 基因突变位于 dystrophin 重要结构域,外显子跳跃治疗恢复可读框并无疗效<sup>[49-50]</sup>。目前已进行临床试验的反义寡核苷酸仅有针对 *DMD* 基因外显子 51 的 Drisapersen 和 Eteplirsen,并于 2016 年 9 月美国食品与药品管理局(FDA)批准,Eteplirsen 用于治疗 Duchenne 型肌营养不良症,该药适用于 13%~14% 的患者<sup>[50]</sup>,包括外显子 50、52、52~63、45~50、47~50 和 49~50 缺失突变<sup>[44]</sup>; Drisapersen 是 2'OMePS 反义寡核苷酸,目前已经进行多项临床试验,总病例数超过 300 例<sup>[51-55]</sup>,其 I~II a 期临床试验显示,12 例 Duchenne 型肌营养不良症患者予 4 种不同剂量[0.50、2、4 和 6 mg/(kg·周)] Drisapersen 皮下注射,连续 5 周,再予以 Drisapersen 6 mg/(kg·周)皮下注射,连续 12 周,其中 10 例肌肉组织活检显示 dystrophin 阳性肌纤维占 60%~100%,相当于正常人的 15.6%,同时 6 分钟步行试验(6MWT)距离延长,进一步的开放期延长试验持续至 177 周,仍可观察到 6MWT 距离延长,治疗期间未见严重不良反应<sup>[51,53]</sup>。其 III 期临床试验纳入 186 例

Duchenne 型肌营养不良症患者,分别予 Drisapersen (125 例)和安慰剂(61 例)6 mg/(kg·周)皮下注射,治疗 48 周后主要终点事件 6MWT 评分组间差异无统计学意义,次要终点事件运动功能亦未见改善<sup>[55]</sup>。Drisapersen 不良反应包括注射位置不良反应,少数患者出现严重血小板减少症和肾功能障碍<sup>[51-54]</sup>。Eteplirsen 是新型合成反义 RNA 的药物,属吗啉反义寡核苷酸(PMO),其 30 个核酸碱基序列与 DMD 基因 pre-mRNA 外显子 51 的特定靶序列互补。Eteplirsen 的临床试验证实其具有一定疗效<sup>[56-57]</sup>,并于 2016 年 9 月通过美国食品与药品管理局快速审核批准程序(accelerated approval)用于治疗 Duchenne 型肌营养不良症。一项双盲对照临床试验纳入 12 例基因突变类型适宜外显子 51 跳跃治疗的男性 Duchenne 型肌营养不良症患者(7~13 岁),予以 Eteplirsen 30~50 mg/(kg·周)静脉注射,治疗 24 周后患儿行走能力改善,肌肉组织活检证实 dystrophin 和抗肌萎缩蛋白相关蛋白复合物(DAPC)表达恢复<sup>[56]</sup>;此后进行的开放期延长试验持续 3 余年,无明显药物不良反应、免疫反应和过敏反应;治疗 3 年后,与匹配的历史对照组相比,主要终点事件 6MWT 距离增加 151 米;治疗 180 周后,肌肉组织活检 dystrophin 水平是正常人的 0.9%,低于预期临床治疗水平(10%)<sup>[57]</sup>。关于 Eteplirsen 的有效性和安全性尚待更大规模的临床试验证据。美国 Sarepta Therapeutics 公司于 2014 年启动 Eteplirsen III 期临床试验,纳入 80 例尚能行走、基因突变类型适宜外显子 51 跳跃治疗的 Duchenne 型肌营养不良症患者,予 Eteplirsen 30 mg/(kg·周)静脉注射,以及 80 例匹配的基因突变类型不适宜外显子 51 跳跃治疗的 Duchenne 型肌营养不良症患者,试验预期持续 96 周(<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/>,项目编号:NCT02255552),目前尚未公布结果。另几个靶向 DMD 基因外显子,包括外显子 42、52、53 和 55 的反义寡核苷酸药物目前正在临床试验中,上述外显子跳跃治疗适用于约 28% 的 Duchenne 型肌营养不良症患者<sup>[58-59]</sup>。

2. 无义突变通读治疗 无义突变导致 pre-mRNA 出现提前终止密码子(PTCs),使肽链合成提前终止,导致目的蛋白合成障碍或截短。研究显示,某些化学物质可以诱导提前终止密码子位点的通读,抑制其导致的翻译提前终止,使全长蛋白恢复表达,尽管可能在提前终止密码子位点引入错误

氨基酸<sup>[60]</sup>。无义突变占有 DMD 基因突变类型的 10%~15%<sup>[61]</sup>。近年来,针对 DMD 基因无义突变的通读治疗取得较大进展,具有较好的治疗前景。目前研究显示,可用于 DMD 基因无义突变通读治疗的药物主要有氨基糖苷类抗生素、非氨基糖苷类抗生素、PTC124、RTC13、RTC14 等,其中氨基糖苷类抗生素和 PTC124 目前已进入临床试验阶段。(1)氨基糖苷类抗生素:庆大霉素在蛋白翻译过程中与核糖体结合,诱导提前终止密码子的通读。Barton-Davis 等<sup>[62]</sup>于 1999 年首次在 Duchenne 型肌营养不良症模型 mdx 小鼠体内证实庆大霉素的通读治疗效果,皮下注射庆大霉素 14 天后,mdx 小鼠 dystrophin 蛋白水平升高至正常值的 20%,肌肉损害缓解。但是庆大霉素的临床试验并未取得预期治疗效果<sup>[63-64]</sup>。Malik 等<sup>[64]</sup>纳入 34 例 Duchenne 型肌营养不良症患者(26 例 DMD 基因无义突变,8 例 DMD 基因移码突变),予庆大霉素静脉注射[方案 1:7.50 mg/(kg·d),持续 2 周;方案 2:7.50 mg/(kg·周),持续 6 个月;方案 3:7.50 mg/kg,1 次/2 周,持续 6 个月],结果显示,采用 3 种治疗方案的无义突变患者血清肌酸激酶(CK)水平均降低,采用方案 2 和 3 的无义突变患者 dystrophin 水平升高,但肌力未见改善。由于长期应用庆大霉素可以导致耳聋、肾毒性、前庭毒性等严重不良反应,故限制其临床试验的开展。此外,另一种具有相同通读作用的氨基糖苷类抗生素硫酸阿贝卡星正在进行 II 期临床试验(项目编号:NCT01918384)。(2)PTC124:是目前研究最多的终止密码子通读药物,在遗传性疾病的治疗中具有良好前景。PTC124 是 2005 年筛选出来的小分子化合物,与庆大霉素类似,与核糖体结合,提前终止密码子的通读,但其通读活性优于庆大霉素,且不影响正常终止密码子功能<sup>[65]</sup>。PTC124 II a 期临床试验显示,治疗 28 天后,肌肉组织活检 dystrophin 水平升高<sup>[66]</sup>。进一步为期 48 周的随机双盲 II b 期临床试验显示,DMD 基因无义突变患者分别予 PTC124 和安慰剂 40 mg/(kg·d)口服,与安慰剂组相比,PTC124 组患者运动功能改善,行走能力下降速度减慢,6MWT 距离延长 31.30 米,尽管差异未达到统计学意义,但达到临床有效性的 30 米阈值<sup>[67]</sup>。晚近一项关于 PTC124 的全球多中心随机对照 III 期临床试验纳入 228 例 7~16 岁 DMD 基因无义突变患儿,治疗 48 周,结果显示,PTC124 组患儿 6MWT 距离延长 13 米,但差异无统计学意义;进一步根据基线运动

功能分组,基线 6MWT 距离为 300 ~ 400 米的患儿 (99 例) 中 PTC124 组 6MWT 距离延长 42.90 米且差异有统计学意义,其他治疗终点评价指标亦提示 PTC124 治疗有效,而在其他 2 个亚组 (6MWT 距离 < 300 米和  $\geq$  400 米) 中,PTC124 治疗未见持续效果<sup>[68]</sup>。因此,为全面评价 PTC124 对 *DMD* 基因无义突变的治疗效果,应采取更多的临床终点评价指标和更长期的临床试验。目前,欧洲药物管理局 (EMA) 业已批准 PTC124 用于治疗 Duchenne 型肌营养不良症,但美国食品与药品管理局认为 III 期临床试验未能证明其有效性,拒绝在美国上市。新的 PTC124 临床试验 (项目编号: NCT02819557、NCT01247207 和 NCT01557400) 仍在进行中。PTC124 临床试验均未报告严重不良事件,且药物耐受性良好。晚近有学者合成 PTC124 系列衍生物,并在细胞模型中证实其较 PTC124 的通读率更高,进一步研究仍在进行中<sup>[69]</sup>。我们研究团队对 2 例中国 *DMD* 基因无义突变患儿进行 PTC124 治疗,经过 2 余年随访,患儿运动功能略有改善,表明 PTC124 对 Duchenne 型肌营养不良症有一定治疗作用,但长期效果尚待进一步随访和观察 (未发表)。

3. 腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗 基因替代疗法是通过病毒载体将外源性基因导入宿主体内,使外源性基因在宿主细胞内表达目的蛋白。*DMD* 基因是目前已知的人类最大基因,其 cDNA 长度约  $14 \times 10^3$  bp,远超过多种病毒载体的装载容量。有学者根据 Becker 型肌营养不良症患者的基因突变数据设计 *micro/mini-dystrophin* 基因,约为 *DMD* 基因 cDNA 全长的 30%,可以被病毒载体携带,这种设计保留 *dystrophin* 的肌动蛋白、神经元型一氧化氮合酶 (nNOS) 和 DAPC/互生蛋白 (*syntrophin*)/异联蛋白 (*dystrobrevin*) 结合位点等重要功能结构域,使其蛋白产物尽可能保留全长蛋白功能<sup>[70-71]</sup>。自 1997 年以来,已经对 30 余种 *micro/mini-dystrophin* 基因进行研究。目前腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗最常用的载体是腺相关病毒,可以高效转染增殖细胞或非增殖细胞 (如骨骼肌和心肌细胞),某些血清型腺相关病毒对骨骼肌细胞具有较高的亲和力,且不整合至宿主基因组中,目前尚无腺相关病毒引起人类疾病的报道,故安全性较高<sup>[72-73]</sup>。不同血清型腺相关病毒对各组织器官的亲和力有一定差异,多种血清型对肌细胞亲和力较高,业已用于 *DMD* 基因治疗研究。

研究显示,腺相关病毒 9 (AAV9) 是目前正常小鼠心肌细胞转染率最高的血清型,经 mdx 小鼠证实可以高效转染心肌细胞<sup>[74-75]</sup>。腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗已在 mdx 小鼠中证实其可以在骨骼肌和心肌细胞长期表达截短的 *dystrophin*,从而提高肌细胞胞膜的稳定性,保护肌细胞免受收缩导致的机械损害,改善 mdx 小鼠运动功能<sup>[76-77]</sup>。但在大型动物模型如犬模型中并未取得预期效果<sup>[78-79]</sup>。多项大型动物实验和小型临床试验结果均显示,腺相关病毒衣壳蛋白、外源性 *micro/mini-dystrophin* 可以刺激动物和人产生强烈的 T 淋巴细胞免疫反应,从而导致外源性蛋白无法在机体长期表达<sup>[78-80]</sup>。Mendell 等<sup>[80]</sup>在 6 例 Duchenne 型肌营养不良症患者的股二头肌局部肌肉注射不同剂量 rAAV2.5-CMV-*micro/mini-dystrophin*,连续 42 天后有 4 例行肌肉组织活检术,仅 2 例检出 1 ~ 4 个 *micro/mini-dystrophin* 阳性肌纤维;90 天后 2 例行肌肉组织活检术,均未发现 *micro/mini-dystrophin* 阳性肌纤维;尽管患者均应用免疫抑制剂,但 4 例于注射后不同时间点检出血液循环中 *micro/mini-dystrophin* 特异性 T 细胞,其中 2 例试验前即已检出 *dystrophin* 特异性 T 细胞。机体对外源性或内源性 *dystrophin* 的细胞免疫可能是 *micro/mini-dystrophin* 无法在体内长期表达的原因,提示在 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗临床试验中,纳入对象应提前筛查是否存在 *dystrophin* 特异性免疫反应。研究显示,结合适当的免疫抑制治疗,经静脉或局部肌肉注射腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 可在 Duchenne 型肌营养不良症模型犬肌肉组织长期表达<sup>[81-82]</sup>。而 Le Guiner 等<sup>[83]</sup>采用局部肌肉和静脉注射 rAAV2/8 载体携带的犬微小抗肌萎缩蛋白 1 (*CMD1*) 基因治疗 12 只 Duchenne 型肌营养不良症模型 GRMD 犬,在未予免疫抑制剂干预的情况下,*CMD1* 基因在 GRMD 犬肌肉组织中表达至少 2 年,改善其肌肉组织学形态、肌肉力量和肌营养不良,且未检出明显的细胞毒性免疫反应。近年来,腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗在脊髓性肌萎缩症 (SMA) 的治疗中取得重大突破,Mendell 等<sup>[84]</sup>对 15 例婴儿脊髓性肌萎缩症 1 型 (SMA1) 患儿静脉注射携带靶基因的 AAV9 ( $200 \times 10^{12}$  病毒颗粒/kg),结果显示,患儿药物耐受性良好,生存期延长,运动功能改善,为系统性基因替代疗法提供依据。但机体对载体和外源性目的蛋白的免疫应答仍是应注意

的问题,脊髓性肌萎缩症临床试验纳入的研究对象均为 <8 个月的婴儿,免疫系统尚未成熟,而腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗在年长患者中的治疗效果仍未知。目前,有 3 项美国腺相关病毒介导的 *micro/mini-dystrophin* 基因替代治疗临床试验正在进行中(项目编号:NCT03368742, NCT03362502 和 NCT03375164)。

### 三、Duchenne 型肌营养不良症治疗动物实验研究

1. 抑制肌肉生长抑制素 肌肉生长抑制素(myostatin)是肌肉生长的负调节因子,仅在骨骼肌中表达<sup>[85]</sup>。肌肉生长抑制素高亲和性地结合激活素受体 II B 型(ACVR2B),激活一系列信号转导通路,对肌肉生长具有重要调节作用<sup>[86]</sup>。人体和多种动物模型证实,肌肉生长抑制素无功能突变可以导致骨骼肌肥大,而对心肌和平滑肌无明显影响,且不影响生存期<sup>[87-88]</sup>。抑制内源性肌肉生长抑制素理论上可以缓解 Duchenne 型肌营养不良症的严重肌萎缩症状。Mdx 小鼠模型显示,抑制肌肉生长抑制素不仅使骨骼肌肥大、肌力增强,还减少肌肉间隙纤维结缔组织,增强肌卫星细胞自我增殖和更新能力<sup>[89-91]</sup>。目前有多种抑制肌肉生长抑制素的方法,并在动物模型中取得一定效果。ACE-031 是人 ACVR2B 细胞外域的组成成分,对肌肉生长抑制素和其他肌肉生长负调节因子有较高的亲和力,通过激活内源性受体抑制这些负调节因子的作用<sup>[92-93]</sup>。其 I 期临床试验纳入 48 例绝经后健康女性,结果显示,ACE-031 可以增加瘦体重和大腿肌肉容积,且安全性良好<sup>[94]</sup>。一项为期 3 个月的 II 期临床试验观察 ACE-031 对尚能行走的 Duchenne 型肌营养不良患儿的治疗效果,结果显示,ACE-031 可以增加患儿瘦体重和骨密度;ACE-031 组 6MWT 评分高于对照组但差异无统计学意义;亦未见严重不良事件,可见鼻衄和面部毛细血管扩张,可能与 ACE-031 结合骨形态发生蛋白 9 和 10(BMP9 和 10)有关<sup>[88]</sup>。其他抑制肌肉生长抑制素的药物包括 BMS-986089 和 PF-06252616,其 I 期和 II 期临床试验正在进行中(项目编号:NCT02515669, NCT02310763)。研究显示,抑制肌肉生长抑制素可能对肌肉和心脏产生不良反应<sup>[95-97]</sup>,因此尚待研发高特异性结合肌肉负调节因子的药物,以减少或预防不良反应。

2. 上调肌营养相关蛋白 细胞骨架蛋白[包括 utrophin、整合素  $\alpha 7 \beta 1$  和双糖链蛋白聚糖

(biglycan)]代偿性表达上调在 dystrophin 缺失的 mdx 小鼠模型中可以稳定肌纤维膜,改善肌肉病理状态<sup>[98]</sup>,其中 utrophin 研究最多。Utrophin 和 dystrophin 在结构上具有相似性,例如氨基末端(N 末端)、半胱氨酸富集区和羧基末端(C 末端)结构域,且共有许多相似的结合蛋白如  $\beta$ -肌营养蛋白聚糖( $\beta$ -dystroglycan)、 $\alpha$ -异联蛋白 1( $\alpha$ -dystrobrevin-1)和 F 肌动蛋白(F-actin)<sup>[99]</sup>。动物实验显示,过表达 utrophin 蛋白的 mdx 小鼠不出现肌萎缩症状,且无严重不良反应;而敲除 *utrophin* 基因的 mdx 小鼠则出现严重的临床表型<sup>[100-101]</sup>。将 *utrophin* 基因导入 GRMD 犬肌细胞,可以改善其肌肉组织纤维化<sup>[102]</sup>。Utrophin 水平升高可以延缓 Duchenne 型肌营养不良症患者轮椅代步时间<sup>[103]</sup>。SMT C1100 是新研发的口服小分子药物,是特异性靶向 utrophin-A 启动子,可以使 mdx 小鼠骨骼肌、心肌和膈肌 utrophin mRNA 和蛋白水平升高 2 倍,改善肌肉病理状态,降低血清肌酸激酶水平,增强肌力<sup>[104]</sup>。SMT C1100 的 I 期临床试验证实其在正常人群中安全性和耐受性均良好<sup>[105]</sup>,目前正在进行 II 期开放性临床试验(项目编号:NCT02858362)。

3. 干细胞移植治疗 干细胞移植治疗 Duchenne 型肌营养不良症研究业已进行多年,包括肌卫星细胞、肌源性干细胞(MDSCs)、多种间充质干细胞(MSCs)、诱导型多能干细胞(iPSCs)等。主要有 2 种策略:一种是自体干细胞移植,即自体干细胞在体外经基因编辑、恢复 dystrophin 表达后重新移植回体内;另一种是同种异体干细胞移植,即将源自正常人的干细胞移植至患者体内。Duchenne 型肌营养不良症动物模型显示,移植的干细胞分化为成熟肌细胞,表达 dystrophin,并补充肌卫星池,但仍存在局限性<sup>[106-107]</sup>。首先,目前的干细胞迁移能力不令人满意,事实上,多种干细胞局限于注射部位,迁移能力有限;其次,Duchenne 型肌营养不良症的主要靶组织骨骼肌是人体最大组织,意味着需要大量有分化为肌细胞能力的干细胞,且需实现高效率的系统移植。系统移植方法包括,通过静脉和动脉移植,要求移植细胞有越过血管壁的能力,一些干细胞如肌卫星细胞无法越过血管内皮细胞到达肌肉组织,研究显示,间充质干细胞如脂肪间充质干细胞(ADSCs)、诱导型多能干细胞来源的肌肉干/祖细胞等可越过血管内皮细胞迁移至肌肉组织<sup>[106-107]</sup>。此外,经静脉移植的明显局限性是,移植进入机体



的细胞大部分在通过肺毛细血管和脾等器官时被拦截而无法到达肌肉组织<sup>[108]</sup>。动脉移植可以绕过肺屏障,是一种有前途的移植途径,多项动脉移植动物实验均取得较好效果<sup>[109]</sup>。间充质干细胞除可以分化为成熟肌细胞、补充肌卫星池外,还可以分泌细胞因子以改善肌肉病理状态,提示干细胞移植治疗可能存在除细胞替代治疗外的作用途径<sup>[110]</sup>。干细胞移植治疗的临床试验也取得一些成果,Sharma等<sup>[111]</sup>纳入150例肌营养不良症[Duchenne型肌营养不良症、肢带型肌营养不良症(LGMD)、Becker型肌营养不良症]患者,局部肌肉注射或静脉注射自体骨髓间充质干细胞(BMSCs),未发生明显不良事件,随访12个月,86.67%(130/150)患者运动功能改善,6例肌肉MRI和9例神经电生理学改善。目前,肌母细胞和心肌球源性干细胞(CDCs)移植治疗的临床试验正在进行中(项目编号:NCT02196467,NCT02485938)。

4. CRISPR-Cas 系统介导的基因编辑治疗 基因编辑是通过位点特异性核酸酶诱导双链 DNA 断裂以实现 DNA 修复。目前应用的基因编辑工具主要有4种恢复DMD基因可读框的方法<sup>[112]</sup>:(1)通过破坏剪接受体实现外显子跳跃。(2)外显子敲除。(3)非同源末端连接介导的可读框恢复。(4)外源性外显子敲入。CRISPR-Cas9是继锌指核酸酶(ZFN)和类转录激活因子效应物核酸酶(TALENs)之后基于细菌的一种获得性免疫系统改造而成的人工核酸内切酶,介导的基因编辑较后两者在操作上更加简便、成本更低、效率更高。通过CRISPR Cas9,采用外显子跳跃、外显子敲入、外显子敲除等方法在体外成功实现肌母细胞、肌卫星细胞和Duchenne型肌营养不良症患者来源的诱导型多能干细胞等的编辑,以及在mdx小鼠骨骼肌、心肌和生殖细胞成功实现缺陷DMD基因的编辑,恢复DMD基因的可读框<sup>[113-114]</sup>。目前尚存在CRISPR Cas系统介导的基因编辑治疗脱靶率较高和打靶率较低等问题。

5. 其他 Dystrophin 缺失导致肌纤维不能耐受收缩介导的损伤,激活一系列免疫通路,因此,免疫因素在Duchenne型肌营养不良症进展中发挥重要作用。结缔组织生长因子的多克隆抗体FG-3019可以减少mdx小鼠肌纤维结缔组织数目,增强肌力,目前正在进行II期临床试验(项目编号:NCT02606136)<sup>[115]</sup>。去乙酰化酶抑制剂Givinostat可以促进肌肉再生、减少脂肪和纤维结缔组织浸

润,其临床试验显示,可以改善Duchenne型肌营养不良症患者肌肉病理状况<sup>[116]</sup>。核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)在Duchenne型肌营养不良症病理生理学机制中发挥重要作用,研究显示,抑制核因子- $\kappa$ B可以延缓疾病进展,核因子- $\kappa$ B抑制剂CAT-1004的I期临床试验证实,其可以降低核因子- $\kappa$ B活性,安全性良好(项目编号:NCT02439216)<sup>[117]</sup>。维持细胞钙稳态也可能对Duchenne型肌营养不良症有治疗作用<sup>[118]</sup>。

#### 四、小结

日益完善的综合治疗已经使Duchenne型肌营养不良症患者生存期延长、生活质量提高。外显子跳跃、无义突变通读以及腺相关病毒介导的*micro/mini-dystrophin*基因替代治疗等基因治疗,干细胞移植治疗,抑制肌肉生长抑制素,上调肌营养相关蛋白,基因编辑治疗等新兴方法为Duchenne型肌营养不良症的治疗带来美好前景。

#### 参 考 文 献

- [1] Emery AE. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases: a world survey[J]. *Neuromuscul Disord*, 1991, 1:19-29.
- [2] Poysky J; Behavior in DMD Study Group. Behavior patterns in Duchenne muscular dystrophy: report on the Parent Project Muscular Dystrophy behavior workshop 8-9 of December 2006, Philadelphia, USA [J]. *Neuromuscul Disord*, 2007, 17: 986-994.
- [3] Lebel DE, Corston JA, McAdam LC, Biggar WD, Alman BA. Glucocorticoid treatment for the prevention of scoliosis in children with Duchenne muscular dystrophy: long-term follow-up[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2013, 95:1057-1061.
- [4] Markham LW, Spicer RL, Khoury PR, Wong BL, Mathews KD, Cripe LH. Steroid therapy and cardiac function in Duchenne muscular dystrophy[J]. *Pediatr Cardiol*, 2005, 26:768-771.
- [5] Kinnett K, Noritz G. The PJ Nicholoff Steroid Protocol for Duchenne and Becker muscular dystrophy and adrenal suppression[J]. *PLoS Curr*, 2017, 9.
- [6] Merlini L, Gennari M, Malaspina E, Cecconi I, Armaroli A, Gnudi S, Talim B, Ferlini A, Cicognani A, Franzoni E. Early corticosteroid treatment in 4 Duchenne muscular dystrophy patients: 14-year follow-up[J]. *Muscle Nerve*, 2012, 45:796-802.
- [7] Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Colvin MK, Cripe L, Herron AR, Kennedy A, Kinnett K, Naprawa J, Noritz G, Poysky J, Street N, Trout CJ, Weber DR, Ward LM; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 3: primary care, emergency management, psychosocial care, and transitions of care across the lifespan [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17:445-455.
- [8] Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, Case LE, Clemens PR, Hadjiyannakis S, Pandya S, Street N, Tomezsko J, Wagner KR, Ward LM, Weber DR; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine,

- and gastrointestinal and nutritional management [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17:251-267.
- [9] Griggs RC, Miller JP, Greenberg CR, Fehlings DL, Pestronk A, Mendell JR, Moxley RT 3rd, King W, Kissel JT, Cwik V, Vanasse M, Florence JM, Pandya S, Dubow JS, Meyer JM. Efficacy and safety of deflazacort vs prednisone and placebo for Duchenne muscular dystrophy [J]. *Neurology*, 2016, 87: 2123-2131.
- [10] Duboc D, Meune C, Lerebours G, Devaux JY, Vaksman G, Bécane HM. Effect of perindopril on the onset and progression of left ventricular dysfunction in Duchenne muscular dystrophy [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45:855-857.
- [11] Hor KN, Taylor MD, Al-Khalidi HR, Cripe LH, Raman SV, Jefferies JL, O'Donnell R, Benson DW, Mazur W. Prevalence and distribution of late gadolinium enhancement in a large population of patients with Duchenne muscular dystrophy: effect of age and left ventricular systolic function [J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2013, 15:107.
- [12] Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Alman BA, Apkon SD, Blackwell A, Case LE, Cripe L, Hadjiyannakis S, Olson AK, Sheehan DW, Bolen J, Weber DR, Ward LM; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17:347-361.
- [13] Allen HD, Flanigan KM, Thrush PT, Dvorchik I, Yin H, Canter C, Connolly AM, Parrish M, McDonald CM, Braunlin E, Colan SD, Day J, Darras B, Mendell JR. A randomized, double-blind trial of lisinopril and losartan for the treatment of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy [J]. *PLoS Curr*, 2013, 5.
- [14] Shaddy RE, Boucek MM, Hsu DT, Boucek RJ, Canter CE, Mahony L, Ross RD, Pahl E, Blume ED, Dodd DA, Rosenthal DN, Burr J, LaSalle B, Holubkov R, Lukas MA, Tani LY; Pediatric Carvedilol Study Group. Carvedilol for children and adolescents with heart failure: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2007, 298:1171-1179.
- [15] Matsumura T, Tamura T, Kuru S, Kikuchi Y, Kawai M. Carvedilol can prevent cardiac events in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Intern Med*, 2010, 49:1357-1363.
- [16] Viollet L, Thrush PT, Flanigan KM, Mendell JR, Allen HD. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and/or beta blockers on the cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Am J Cardiol*, 2012, 110:98-102.
- [17] Mavrogeni SI, Markousis - Mavrogenis G, Papavasilou A, Papadopoulos G, Kolovou G. Cardiac involvement in Duchenne muscular dystrophy and related dystrophinopathies [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1687:31-42.
- [18] Duboc D, Meune C, Pierre B, Wahbi K, Eymard B, Toutain A, Berard C, Vaksman G, Weber S, Bécane HM. Perindopril preventive treatment on mortality in Duchenne muscular dystrophy: 10 years' follow-up [J]. *Am Heart J*, 2007, 154:596-602.
- [19] Sadek AA, Mahmoud SM, El-Aal MA, Allam AA, El-Halim WI. Evaluation of cardiac functions in children with Duchenne muscular dystrophy: a prospective case - control study [J]. *Electron Physician*, 2017, 9:5732-5739.
- [20] McNally EM, Kaltman JR, Benson DW, Canter CE, Cripe LH, Duan D, Finder JD, Groh WJ, Hoffman EP, Judge DP, Kertesz N, Kinnett K, Kirsch R, Metzger JM, Pearson GD, Rafael-Fortney JA, Raman SV, Spurney CF, Targum SL, Wagner KR, Markham LW; Working Group of the National Heart, Lung, and Blood Institute; Parent Project Muscular Dystrophy. Contemporary cardiac issues in Duchenne muscular dystrophy: Working Group of the National Heart, Lung, and Blood Institute in collaboration with Parent Project Muscular Dystrophy [J]. *Circulation*, 2015, 131:1590-1598.
- [21] Haefeli RH, Erb M, Gemperli AC, Robay D, Courdier Fruh I, Anklin C, Dallmann R, Gueven N. NQO1 - dependent redox cycling of idebenone: effects on cellular redox potential and energy levels [J]. *PLoS One*, 2011, 6:E17963.
- [22] Jaber S, Polster BM. Idebenone and neuroprotection: antioxidant, pro - oxidant, or electron carrier [J]? *J Bioenerg Biomembr*, 2015, 47:111-118.
- [23] Buyse GM, Van der Mieren G, Erb M, D'hooge J, Herijgers P, Verbeken E, Jara A, Van Den Bergh A, Mertens L, Courdier-Fruh I, Barzaghi P, Meier T. Long - term blinded placebo - controlled study of SNT - MC17/idebenone in the dystrophin deficient mdx mouse: cardiac protection and improved exercise performance [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30:116-124.
- [24] Buyse GM, Goemans N, van den Hauwe M, Thijs D, de Groot IJ, Schara U, Ceulemans B, Meier T, Mertens L. Idebenone as a novel, therapeutic approach for Duchenne muscular dystrophy: results from a 12 month, double-blind, randomized placebo-controlled trial [J]. *Neuromuscul Disord*, 2011, 21:396-405.
- [25] Buyse GM, Voit T, Schara U, Straathof CS, D'Angelo MG, Bernert G, Cuisset JM, Finkel RS, Goemans N, McDonald CM, Rummey C, Meier T; DELOS Study Group. Efficacy of idebenone on respiratory function in patients with Duchenne muscular dystrophy not using glucocorticoids (DELLOS): a double-blind randomised placebo-controlled phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2015, 385:1748-1757.
- [26] Mayer OH, Leinonen M, Rummey C, Meier T, Buyse GM; DELOS Study Group. Efficacy of idebenone to preserve respiratory function above clinically meaningful thresholds for forced vital capacity (FVC) in patients with Duchenne muscular dystrophy [J]. *J Neuromuscul Dis*, 2017, 4:189-198.
- [27] Bardsley RG, Allcock SM, Dawson JM, Dumelow NW, Higgins JA, Lasslett YV, Lockley AK, Parr T, Buttery PJ. Effect of beta-agonists on expression of calpain and calpastatin activity in skeletal muscle [J]. *Biochimie*, 1992, 74:267-273.
- [28] Hayes A, Williams DA. Long-term clenbuterol administration alters the isometric contractile properties of skeletal muscle from normal and dystrophin-deficient mdx mice [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1994, 21:757-765.
- [29] Kissel JT, McDermott MP, Mendell JR, King WM, Pandya S, Griggs RC, Tawil R; FSH - DY Group. Randomized, double-blind, placebo - controlled trial of albuterol in facioscapulohumeral dystrophy [J]. *Neurology*, 2001, 57:1434-1440.
- [30] Skura CL, Fowler EG, Wetzel GT, Graves M, Spencer MJ. Albuterol increases lean body mass in ambulatory boys with Duchenne or Becker muscular dystrophy [J]. *Neurology*, 2008, 70:137-143.
- [31] Fowler EG, Graves MC, Wetzel GT, Spencer MJ. Pilot trial of albuterol in Duchenne and Becker muscular dystrophy [J]. *Neurology*, 2004, 62:1006-1008.
- [32] Finder J, Mayer OH, Sheehan D, Sawhani H, Abresch RT, Benditt J, Birnkrant DJ, Duong T, Henricson E, Kinnett K, McDonald CM, Connolly AM. Pulmonary endpoints in Duchenne muscular dystrophy: a workshop summary [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196:512-519.
- [33] Mayer OH, Finkel RS, Rummey C, Benton MJ, Glanzman AM, Flickinger J, Lindström BM, Meier T. Characterization of pulmonary function in Duchenne muscular dystrophy [J].

- Pediatr Pulmonol, 2015, 50:487-494.
- [34] Mayer OH, Henricson EK, McDonald CM, Buyse GM. Advances in pulmonary care in Duchenne muscular dystrophy [J]. *US Neurology*, 2017, 13:35-41.
- [35] Humbertclaude V, Hamroun D, Bezzou K, Bérard C, Boespflug-Tanguy O, Bommelaer C, Campana - Salort E, Cances C, Chabrol B, Commare MC, Cuisset JM, de Lattre C, Desnuelle C, Echenne B, Halbert C, Jonquet O, Labarre-Vila A, N'Guyen-Morel MA, Pages M, Pepin JL, Petitjean T, Pouget J, Ollagnon-Roman E, Richelme C, Rivier F, Sacconi S, Tiffreau V, Vuillerot C, Picot MC, Claustres M, Bérout C, Tuffery-Giraud S. Motor and respiratory heterogeneity in Duchenne patients: implication for clinical trials[J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2012, 16:149-160.
- [36] Bach JR, Martinez D. Duchenne muscular dystrophy: continuous noninvasive ventilatory support prolongs survival [J]. *Respir Care*, 2011, 56:744-750.
- [37] Zhang C, Yang J. Rehabilitation therapy of Duchenne muscular dystrophy[J]. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2012, 12:261-265.[张成, 杨娟. 重视 Duchenne 型肌营养不良症的康复治疗[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2012, 12: 261-265.]
- [38] Yan TB. Physical therapy [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 57-137.[燕铁斌. 物理治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 57-137.]
- [39] Hind D, Parkin J, Whitworth V, Rex S, Young T, Hampson L, Sheehan J, Maguire C, Cantrell H, Scott E, Epps H, Main M, Geary M, McMurchie H, Pallant L, Woods D, Freeman J, Lee E, Eagle M, Willis T, Muntoni F, Baxter P. Aquatic therapy for boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD): an external pilot randomised controlled trial [J]. *Pilot Feasibility Stud*, 2017, 3:16.
- [40] Sarrazin E, von der Hagen M, Schara U, von Au K, Kaindl AM. Growth and psychomotor development of patients with Duchenne muscular dystrophy [J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2014, 18:38-44.
- [41] Yang J, Li SY, Li YQ, Cao JQ, Feng SW, Wang YY, Zhan YX, Yu CS, Chen F, Li J, Sun XF, Zhang C. MLPA-based genotype-phenotype analysis in 1053 Chinese patients with DMD/BMD [J]. *BMC Med Genet*, 2013, 14:29.
- [42] Kesari A, Pirra LN, Bremadesam L, McIntyre O, Gordon E, Dubrovsky AL. Integrated DNA, cDNA, and protein studies in Becker muscular dystrophy show high exception to the reading frame rule[J]. *Hum Mutat*, 2008, 29:728-737.
- [43] Baumbach LL, Chamberlain JS, Ward PA, Farwell NJ, Caskey CT. Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies [J]. *Neurology*, 1989, 39:465-474.
- [44] Aartsma - Rus A, Fokkema I, Verschuuren J, Ginjaar I, van Deutekom J, van Ommen GJ, den Dunnen JT. Theoretic applicability of antisense - mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations [J]. *Hum Mutat*, 2009, 30:293-299.
- [45] Bladen CL, Salgado D, Monges S, Foncuberta ME, Kekou K, Kosma K, Dawkins H, Lamont L, Roy AJ, Chamova T, Guergueltecheva V, Chan S, Korngut L, Campbell C, Dai Y, Wang J, Barišić N, Brabec P, Lahdetie J, Walter MC, Schreiber-Katz O, Karcağı V, Garami M, Viswanathan V, Bayat F, Buccella F, Kimura E, Koeks Z, van den Bergen JC, Rodrigues M, Roxburgh R, Lusakowska A, Kostera-Pruszczyk A, Zimowski J, Santos R, Neagu E, Artemieva S, Rasic VM, Vojinovic D, Posada M, Bloetzer C, Jeannet PY, Joncourt F, Díaz-Manera J, Gallardo E, Karaduman AA, Topaloglu H, El Sherif R, Stringer A, Shatillo AV, Martin AS, Peay HL, Bellgard MI, Kirschner J, Flanigan KM, Straub V, Bushby K, Verschuuren J, Aartsma-Rus A, Bérout C, Lochmüller H. The TREAT - NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations[J]. *Hum Mutat*, 2015, 36:395-402.
- [46] Yokota T, Duddy W, Echigoya Y, Kolski H. Exon skipping for nonsense mutations in Duchenne muscular dystrophy: too many mutations, too few patients[J]? *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12:1141-1152.
- [47] Aartsma-Rus A, De Winter CL, Janson AA, Kaman WE, Van Ommen GJ, Den Dunnen JT, Van Deutekom JC. Functional analysis of 114 exon - internal AONs for targeted DMD exon skipping: indication for steric hindrance of SR protein binding sites[J]. *Oligonucleotides*, 2005, 15:284-297.
- [48] Yokota T, Duddy W, Partridge T. Optimizing exon skipping therapies for DMD[J]. *Acta Myol*, 2007, 26:179-184.
- [49] Aartsma-Rus A, Van Deutekom JC, Fokkema IF, Van Ommen GJ, Den Dunnen JT. Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule[J]. *Muscle Nerve*, 2006, 34:135-144.
- [50] Nix EH, Aartsma - Rus A. Exon skipping: a first in class strategy for Duchenne muscular dystrophy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2017, 17:225-236.
- [51] Goemans NM, Tulinius M, van den Akker JT, Burm BE, Ekhart PF, Heuvelmans N, Holling T, Janson AA, Platenburg GJ, Sipkens JA, Sitsen JM, Aartsma-Rus A, van Ommen GJ, Buyse G, Darin N, Verschuuren JJ, Campion GV, de Kimpe SJ, van Deutekom JC. Systemic administration of PRO051 in Duchenne's muscular dystrophy[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364: 1513-1522.
- [52] Voit T, Topaloglu H, Straub V, Muntoni F, Deconinck N, Campion G, De Kimpe SJ, Eagle M, Guglieri M, Hood S, Liefwaard L, Loubakos A, Morgan A, Nakielny J, Quarcoo N, Ricotti V, Rolfe K, Servais L, Wardell C, Wilson R, Wright P, Kraus JE. Safety and efficacy of drisapersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DEMAND II): an exploratory, randomised, placebo-controlled phase 2 study[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13:987-996.
- [53] Goemans NM, Tulinius M, van den Hauwe M, Kroksmark AK, Buyse G, Wilson RJ, van Deutekom JC, de Kimpe SJ, Loubakos A, Campion G. Long - term efficacy, safety, and pharmacokinetics of drisapersen in Duchenne muscular dystrophy: results from an open-label extension study[J]. *PLoS One*, 2016, 11:E0161955.
- [54] Kinali M, Arechavala - Gomeza V, Feng L, Cirak S, Hunt D, Adkin C, Guglieri M, Ashton E, Abbs S, Nihoyannopoulos P, Garralda ME, Rutherford M, McCulley C, Popplewell L, Graham IR, Dickson G, Wood MJ, Wells DJ, Wilton SD, Kole R, Straub V, Bushby K, Sewry C, Morgan JE, Muntoni F. Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo - controlled, dose - escalation, proof - of - concept study[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8:918-928.
- [55] Goemans N, Mercuri E, Belousova E, Komaki H, Dubrovsky A, McDonald CM, Kraus JE, Loubakos A, Lin Z, Campion G, Wang SX, Campbell C; DEMAND III study group. A randomized placebo - controlled phase 3 trial of an antisense oligonucleotide, drisapersen, in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Neuromuscul Disord*, 2018, 28:4-15.
- [56] Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, Roush K, Bird L, Lowes LP, Alfano L, Gomez AM, Lewis S, Kota J, Malik V, Shontz K, Walker CM, Flanigan KM, Corridore M, Kean JR,

- Allen HD, Shilling C, Melia KR, Sazani P, Saoud JB, Kaye EM; Eteplirsen Study Group. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy[J]. *Ann Neurol*, 2013, 74:637-647.
- [57] Mendell JR, Goemans N, Lowes LP, Alfano LN, Berry K, Shao J, Kaye EM, Mercuri E; Eteplirsen Study Group and Telethon Foundation DMD Italian Network. Longitudinal effect of eteplirsen versus historical control on ambulation in Duchenne muscular dystrophy[J]. *Ann Neurol*, 2016, 79:257-271.
- [58] Nguyen Q, Yokota T. Immortalized muscle cell model to test the exon skipping efficacy for Duchenne muscular dystrophy [J]. *J Pers Med*, 2017, 7:13.
- [59] Aslesh T, Maruyama R, Yokota T. Skipping multiple exons to treat DMD: promises and challenges[J]. *Biomedicines*, 2018, 6: E1.
- [60] Keeling KM, Wang D, Conard SE, Bedwell DM. Suppression of premature termination codons as a therapeutic approach [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2012, 47:444-463.
- [61] Pichavant C, Aartsma-Rus A, Clemens PR, Davies KE, Dickson G, Takeda S, Wilton SD, Wolff JA, Wooddell CI, Xiao X, Tremblay JP. Current status of pharmaceutical and genetic therapeutic approaches to treat DMD[J]. *Mol Ther*, 2011, 19: 830-840.
- [62] Barton-Davis ER, Cordier L, Shoturma DI, Leland SE, Sweeney HL. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104:375-381.
- [63] Wagner KR, Hamed S, Hadley DW, Gropman AL, Burstein AH, Escolar DM, Hoffman EP, Fischbeck KH. Gentamicin treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophy due to nonsense mutations[J]. *Ann Neurol*, 2001, 49:706-711.
- [64] Malik V, Rodino-Klapac LR, Viollet L, Wall C, King W, Al-Dahhak R, Lewis S, Shilling CJ, Kota J, Serrano-Munuera C, Hayes J, Mahan JD, Campbell KJ, Banwell B, Dasouki M, Watts V, Sivakumar K, Bien-Willner R, Flanigan KM, Sahenk Z, Barohn RJ, Walker CM, Mendell JR. Gentamicin induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Ann Neurol*, 2010, 67:771-780.
- [65] Welch EM, Barton ER, Zhuo J, Tomizawa Y, Friesen WJ, Trifillis P, Paushkin S, Patel M, Trotta CR, Hwang S, Wilde RG, Karp G, Takasugi J, Chen G, Jones S, Ren H, Moon YC, Corson D, Turpoff AA, Campbell JA, Conn MM, Khan A, Almstead NG, Hedrick J, Mollin A, Risher N, Weetall M, Yeh S, Branstrom AA, Colacino JM, Babiak J, Ju WD, Hirawat S, Northcutt VJ, Miller LL, Spatrick P, He F, Kawana M, Feng H, Jacobson A, Peltz SW, Sweeney HL. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations [J]. *Nature*, 2007, 447:87-91.
- [66] Finkel RS, Flanigan KM, Wong B, Bönnemann C, Sampson J, Sweeney HL, Reha A, Northcutt VJ, Elfring G, Barth J, Peltz SW. Phase 2a study of Ataluren-mediated dystrophin production in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy[J]. *PLoS One*, 2013, 8:E81302.
- [67] Bushby K, Finkel R, Wong B, Barohn R, Campbell C, Comi GP, Connolly AM, Day JW, Flanigan KM, Goemans N, Jones KJ, Mercuri E, Quinlivan R, Renfroe JB, Russman B, Ryan MM, Tulinius M, Voit T, Moore SA, Lee Sweeney H, Abresch RT, Coleman KL, Eagle M, Florence J, Gappmaier E, Glanzman AM, Henricson E, Barth J, Elfring GL, Reha A, Spiegel RJ, O'donnell MW, Peltz SW, McDonald CM; PTC124-GD-007-DMD Study Group. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy [J]. *Muscle Nerve*, 2014, 50:477-487.
- [68] McDonald CM, Campbell C, Torricelli RE, Finkel RS, Flanigan KM, Goemans N, Heydemann P, Kaminska A, Kirschner J, Muntoni F, Osorio AN, Schara U, Sejersen T, Shieh PB, Sweeney HL, Topaloglu H, Tulinius M, Vilchez JJ, Voit T, Wong B, Elfring G, Kroger H, Luo X, McIntosh J, Ong T, Riebling P, Souza M, Spiegel RJ, Peltz SW, Mercuri E; Clinical Evaluator Training Group, ACT DMD Study Group. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 390:1489-1498.
- [69] Pibiri I, Lentini L, Tutone M, Melfi R, Pace A, Di Leonardo A. Exploring the readthrough of nonsense mutations by non-acidic Ataluren analogues selected by ligand-based virtual screening [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 122:429-435.
- [70] Bowles DE, McPhee SW, Li C, Gray SJ, Samulski JJ, Camp AS, Li J, Wang B, Monahan PE, Rabinowitz JE, Grieger JC, Govindasamy L, Agbandje-McKenna M, Xiao X, Samulski RJ. Phase I gene therapy for Duchenne muscular dystrophy using a translational optimized AAV vector [J]. *Mol Ther*, 2012, 20: 443-455.
- [71] Wang B, Li J, Xiao X. Adeno-associated virus vector carrying human minidystrophin genes effectively ameliorates muscular dystrophy in mdx mouse model [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:13714-13719.
- [72] Nance ME, Duan D. Perspective on adeno-associated virus capsid modification for Duchenne muscular dystrophy gene therapy [J]. *Hum Gene Ther*, 2015, 26:786-800.
- [73] Inagaki K, Lewis SM, Wu X, Ma C, Munroe DJ, Fuess S, Storm TA, Kay MA, Nakai H. DNA palindromes with a modest arm length of greater, similar 20 base pairs are a significant target for recombinant adeno-associated virus vector integration in the liver, muscles, and heart in mice [J]. *J Virol*, 2007, 81: 11290-11303.
- [74] Inagaki K, Lewis SM, Wu X, Ma C, Munroe DJ, Fuess S, Storm TA, Kay MA, Nakai H. Robust systemic transduction with AAV9 vectors in mice: efficient global cardiac gene transfer superior to that of AAV8 [J]. *Mol Ther*, 2006, 14:45-53.
- [75] Bostick B, Yue Y, Lai Y, Long C, Li D, Duan D. Adeno-associated virus serotype - 9 microdystrophin gene therapy ameliorates electrocardiographic abnormalities in mdx mice [J]. *Hum Gene Ther*, 2008, 19:851-856.
- [76] Gregorevic P, Allen JM, Minami E, Blankinship MJ, Haraguchi M, Meuse L, Finn E, Adams ME, Froehner SC, Murry CE, Chamberlain JS. rAAV6 - microdystrophin preserves muscle function and extends lifespan in severely dystrophic mice [J]. *Nat Med*, 2006, 12:787-789.
- [77] Bostick B, Shin JH, Yue Y, Wasala NB, Lai Y, Duan D. AAV micro-dystrophin gene therapy alleviates stress-induced cardiac death but not myocardial fibrosis in >21-m-old mdx mice, an end-stage model of Duchenne muscular dystrophy cardiomyopathy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 53:217-222.
- [78] Wang Z, Allen JM, Riddell SR, Gregorevic P, Storb R, Tapscott SJ, Chamberlain JS, Kuhr CS. Immunity to adeno-associated virus-mediated gene transfer in a random-bred canine model of Duchenne muscular dystrophy [J]. *Hum Gene Ther*, 2007, 18:18-26.
- [79] Yue Y, Ghosh A, Long C, Bostick B, Smith BF, Kornegay JN, Duan D. A single intravenous injection of adeno-associated virus serotype - 9 leads to whole body skeletal muscle transduction in dogs [J]. *Mol Ther*, 2008, 16:1944-1952.
- [80] Mendell JR, Campbell K, Rodino-Klapac L, Sahenk Z, Shilling

- C, Lewis S, Bowles D, Gray S, Li C, Galloway G, Malik V, Coley B, Clark KR, Li J, Xiao X, Samulski J, McPhee SW, Samulski RJ, Walker CM. Dystrophin immunity in Duchenne's muscular dystrophy[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363:1429-1437.
- [81] Wang Z, Kuhr CS, Allen JM, Blankinship M, Gregorevic P, Chamberlain JS, Tapscott SJ, Storb R. Sustained AAV-mediated dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy with a brief course of immunosuppression[J]. *Mol Ther*, 2007, 15:1160-1166.
- [82] Shin JH, Yue Y, Srivastava A, Smith B, Lai Y, Duan D. A simplified immune suppression scheme leads to persistent micro-dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy dogs[J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23:202-209.
- [83] Le Guiner C, Servais L, Montus M, Larcher T, Fraysse B, Moullec S, Allais M, François V, Dutilleul M, Malerba A, Koo T, Thibaut JL, Matot B, Devaux M, Le Duff J, Deschamps JY, Barthelemy I, Blot S, Testault I, Wahbi K, Ederhy S, Martin S, Veron P, Georger C, Athanasopoulos T, Masurier C, Mingozzi F, Carlier P, Gjata B, Hogrel JY, Adjali O, Mavilio F, Voit T, Moullier P, Dickson G. Long-term microdystrophin gene therapy is effective in a canine model of Duchenne muscular dystrophy[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:16105.
- [84] Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, Lowes L, Alfano L, Berry K, Church K, Kissel JT, Nagendran S, L'Italien J, Sproule DM, Wells C, Cardenas JA, Heitzler MD, Kaspar A, Corcoran S, Braun L, Likhite S, Miranda C, Meyer K, Foust KD, Burghes AH, Kaspar BK. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377:1713-1722.
- [85] McPherron AC, Lawler AM, Lee SJ. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member [J]. *Nature*, 1997, 387:83-90.
- [86] Lee SJ, Reed LA, Davies MV, Girgenrath S, Goad ME, Tomkinson KN, Wright JF, Barker C, Ehrmantraut G, Holmstrom J, Trowell B, Gertz B, Jiang MS, Sebald SM, Matzuk M, Li E, Liang LF, Quattlebaum E, Stotish RL, Wolfman NM. Regulation of muscle growth by multiple ligands signaling through activin type II receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102:18117-18122.
- [87] Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hübner C, Riebel T, Kömen W, Braun T, Tobin JF, Lee SJ. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350:2682-2688.
- [88] Campbell C, McMillan HJ, Mah JK, Tarnopolsky M, Selby K, McClure T, Wilson DM, Sherman ML, Escolar D, Attie KM. Myostatin inhibitor ACE-031 treatment of ambulatory boys with Duchenne muscular dystrophy: results of a randomized, placebo-controlled clinical trial [J]. *Muscle Nerve*, 2017, 55:458-464.
- [89] Bo LZ, Zhang J, Wagner KR. Inhibition of myostatin reverses muscle fibrosis through apoptosis [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125:3957-3965.
- [90] Bogdanovich S, Krag TO, Barton ER, Morris LD, Whittemore LA, Ahima RS, Khurana TS. Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade [J]. *Nature*, 2002, 420:418-421.
- [91] McCroskery S, Thomas M, Platt L, Henneby A, Nishimura T, McLeay L, Sharma M, Kambadur R. Improved muscle healing through enhanced regeneration and reduced fibrosis in myostatin-null mice [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118:3531-3541.
- [92] Cadena SM, Tomkinson KN, Monnell TE, Spaitis MS, Kumar R, Underwood KW. Administration of a soluble activin type II B receptor promotes skeletal muscle growth independent of fiber type [J]. *J Appl Physiol*, 2010, 109:635-642.
- [93] George CC, Bruemmer K, Sesti J, Stefanski C, Curtis H, Ucran J. Soluble activin receptor type II B increases forward pulling tension in the mdx mouse [J]. *Muscle Nerve*, 2011, 43:694-699.
- [94] Attie KM, Borgstein NG, Yang Y, Condon CH, Wilson DM, Pearsall AE. A single ascending-dose study of muscle regulator ACE-031 in healthy volunteers [J]. *Muscle Nerve*, 2013, 47:416-423.
- [95] Relizani K, Mouisel E, Giannesini B, Houdé C, Patel K, Morales Gonzalez S, Jülich K, Vignaud A, Piétri-Rouxel F, Fortin D, Garcia L, Blot S, Ritvos O, Bendahan D, Ferry A, Ventura-Clapier R, Schuelke M, Amthor H. Blockade of ActR II B signaling triggers muscle fatigability and metabolic myopathy [J]. *Mol Ther*, 2014, 22:1423-1433.
- [96] Artaza JN, Reisz-Porszasz S, Dow JS, Kloner RA, Tsao J, Bhasin S, Gonzalez-Cadavid NF. Alterations in myostatin expression are associated with changes in cardiac left ventricular mass but not ejection fraction in the mouse [J]. *J Endocrinol*, 2007, 194:63-76.
- [97] Cohn RD, Liang HY, Shetty R, Abraham T, Wagner KR. Myostatin does not regulate cardiac hypertrophy or fibrosis [J]. *Neuromuscul Disord*, 2007, 17:290-296.
- [98] Ito M, Ehara Y, Li J, Inada K, Ohno K. Protein-anchoring therapy of biglycan for mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy [J]. *Hum Gene Ther*, 2017, 28:428-436.
- [99] Ervasti JM. Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772:108-117.
- [100] Tinsley J, Deconinck N, Fisher R, Kahn D, Phelps S, Gillis JM. Expression of full-length utrophin prevents muscular dystrophy in mdx mice [J]. *Nat Med*, 1998, 4:1441-1444.
- [101] Fisher R, Tinsley JM, Phelps SR, Squire SE, Townsend ER, Martin JE. Non-toxic ubiquitous over-expression of utrophin in the mdx mouse [J]. *Neuromuscul Disord*, 2001, 11:713-721.
- [102] Cerletti M, Negri T, Cozzi F, Colpo R, Andreatta F, Croci D, Davies KE, Cornelio F, Pozza O, Karpati G, Gilbert R, Mora M. Dystrophic phenotype of canine X-linked muscular dystrophy is mitigated by adenovirus-mediated utrophin gene transfer [J]. *Gene Ther*, 2003, 10:750-757.
- [103] Kleopa KA, Drousiotou A, Mavrikiou E, Ormiston A, Kyriakides T. Naturally occurring utrophin correlates with disease severity in Duchenne muscular dystrophy [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15:1623-1628.
- [104] Tinsley JM, Fairclough RJ, Storer R, Wilkes FJ, Potter AC, Squire SE. Daily treatment with SMT C1100, a novel small molecule utrophin upregulator, dramatically reduces the dystrophic symptoms in the mdx mouse [J]. *PLoS One*, 2011, 6: E19189.
- [105] Tinsley J, Robinson N, Davies KE. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of SMT C1100, a 2-arylbenzoxazole utrophin modulator, following single- and multiple-dose administration to healthy male adult volunteers [J]. *J Clin Pharmacol*, 2015, 55: 698-707.
- [106] Zhang Y, Zhu Y, Li Y, Cao J, Zhang H, Chen M, Wang L, Zhang C. Long-term engraftment of myogenic progenitors from adipose-derived stem cells and muscle regeneration in dystrophic mice [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24:6029-6040.
- [107] Darabi R, Arpke RW, Irion S, Dimos JT, Grskovic M, Kyba M, Perlingeiro RC. Human ES- and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 4:610-619.
- [108] Fischer UM, Harting MT, Jimenez F, Monzon-Posadas WO, Xue

- H, Savitz SI, Laine GA, Cox CS Jr. Pulmonary passage is a major obstacle for intravenous stem cell delivery: the pulmonary first-pass effect[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18:683-692.
- [109] Matthias N, Hunt SD, Wu J, Darabi R. Skeletal muscle perfusion and stem cell delivery in muscle disorders using intra-femoral artery cannulation in mice[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 339:103-111.
- [110] Lee NK, Na DL, Chang JW. Killing two birds with one stone: the multifunctional roles of mesenchymal stem cells in the treatment of neurodegenerative and muscle diseases[J]. *Histol Histopathol*, 2017, 30:11951.
- [111] Sharma A, Sane H, Badhe P, Gokulchandran N, Kulkarni P, Lohiya M, Biju H, Jacob VC. A clinical study shows safety and efficacy of autologous bone marrow mononuclear cell therapy to improve quality of life in muscular dystrophy patients[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22:S127-138.
- [112] Salmaninejad A, Valilou SF, Bayat H, Ebadi N, Daraei A, Yousefi M, Nesaee A, Mojarrad M. Duchenne muscular dystrophy (DMD): an updated review of common available therapies[J]. *Int J Neurosci*, 2018, 5:1-11.
- [113] Young CS, Hicks MR, Ermolova NV, Nakano H, Jan M, Younesi S, Karumbayaram S, Kumagai - Cresse C, Wang D, Zack JA, Kohn DB, Nakano A, Nelson SF, Miceli MC, Spencer MJ, Pyle AD. A single CRISPR - Cas9 deletion strategy that targets the majority of DMD patients restores dystrophin function in hiPSC - derived muscle cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18:533-540.
- [114] Zhang Y, Long C, Li H, McAnally JR, Baskin KK, Shelton JM, Bassel - Duby R, Olson EN. CRISPR - Cpf1 correction of muscular dystrophy mutations in human cardiomyocytes and mice[J]. *Sci Adv*, 2017, 3:E1602814.
- [115] Andreetta F, Bernasconi P, Baggi F, Ferro P, Oliva L, Arnoldi E, Cornelio F, Mantegazza R, Confalonieri P. Immunomodulation of TGF - beta 1 in mdx mouse inhibits connective tissue proliferation in diaphragm but increases inflammatory response: implications for antifibrotic therapy[J]. *J Neuroimmunol*, 2016, 175:77-86.
- [116] Bettica P, Petrini S, D'Oria V, D'Amico A, Catteruccia M, Pane M, Sivo S, Magri F, Brajkovic S, Messina S, Vita GL, Gatti B, Moggio M, Puri PL, Rocchetti M, De Nicolao G, Vita G, Comi GP, Bertini E, Mercuri E. Histological effects of givinstat in boys with Duchenne muscular dystrophy [J]. *Neuromuscul Disord*, 2016, 26:643-649.
- [117] Miyatake S, Shimizu - Motohashi Y, Takeda S, Aoki Y. Anti-inflammatory drugs for Duchenne muscular dystrophy: focus on skeletal muscle - releasing factors [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10:2745-2758.
- [118] Mah JK. An overview of recent therapeutics advances for duchenne muscular dystrophy [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1687:3-17.

(收稿日期:2018-05-31)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(三)

- 抗溶血性链球菌素 O anti-streptolysin O (ASO)
- 可读框 open reading frame (ORF)
- 可逆性脾脏体压部病变综合征  
reversible splenic lesion syndrome (RESLES)
- 快速自旋回波 turbo spin echo (TSE)
- 扩散加权成像 diffusion-weighted imaging (DWI)
- 类风湿因子 rheumatoid factor (RF)
- 类转录激活因子效应物核酸酶  
transcription activator-like effector nucleases (TALENs)
- Newcastle-Ottawa 量表 Newcastle-Ottawa Scale (NOS)
- 颅脑创伤 traumatic brain injury (TBI)
- 迈-格-姬 May-Grünwald-Giemsa (MGG)
- 脉搏血氧饱和度 pulse oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>)
- 美国国立卫生研究院卒中量表  
National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)
- 美国神经病学学会 American Academy of Neurology (AAN)
- 美国食品与药品管理局  
Food and Drug Administration (FDA)
- 美国心脏协会 American Heart Association (AHA)
- 美国重症肌无力基金会  
Myasthenia Gravis Foundation of America (MGFA)
- 美国卒中协会 American Stroke Association (ASA)
- 面-肩-肱型肌营养不良症  
facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD)
- Wernicke 脑病 Wernicke's encephalopathy (WE)
- 脑卒中溶栓安全性监测研究  
Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST)
- 凝血酶时间 thrombin time (TT)
- 凝血酶原时间 prothrombin time (PT)
- 欧洲神经肌肉病中心  
European Neuromuscular Center (ENMC)
- 欧洲药物管理局 European Medicines Agency (EMA)
- 胚胎干细胞 embryonic stem cells (ESCs)
- 皮炎 dermatomyositis (DM)
- 频谱衰减反转恢复  
spectral attenuated inversion recovery (SPAIR)
- 前交通动脉 anterior communicating artery (ACoA)
- 前信使 RNA premessenger RNA (pre-mRNA)
- $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶  
 $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase ( $\alpha$ -HBDH)
- 人类基因突变数据库  
Human Gene Mutation Database (HGMD)
- 人类免疫缺陷病毒 human immunodeficiency virus (HIV)
- 乳酸脱氢酶 lactate dehydrogenase (LDH)
- 三碘甲状腺原氨酸 tri-iodothyronine (T<sub>3</sub>)
- 伤残调整寿命年 disability adjusted life year (DALY)
- 少数等位基因频率 minor allele frequency (MAF)