

神经肌肉病研究新亮点

张成

【摘要】 为方便临床医师了解神经肌肉病的最新进展,笔者对 2013 年 1 月-2014 年 2 月美国国立医学图书馆(PubMed)收录的神经肌肉病相关文章进行筛选并整理,从临床诊断和治疗角度提纲挈领地介绍糖原贮积病 II 型、Duchenne 型肌营养不良症、肌萎缩侧索硬化症和脊髓性肌萎缩症的研究背景和最新研究亮点,并附相应参考文献供读者参考。

【关键词】 糖原贮积病 II 型; 肌营养不良,杜氏; 肌萎缩侧索硬化; 肌萎缩,脊髓性; 综述

Research highlights of partial neuromuscular disorders

ZHANG Cheng

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat - sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China (Email: zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

【Abstract】 In order to understand the latest progression on neuromuscular disorders for clinicians, this review screened and systemized the papers on neuromuscular disorders which were collected by PubMed from January 2013 to February 2014. This review also introduced the clinical diagnosis and treatment highlights on glycogen storage disease type II (GSD II), Duchenne muscular dystrophy (DMD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and spinal muscular atrophy (SMA). The important references will be useful for clinicians.

【Key words】 Glycogen storage disease type II; Muscular dystrophy, Duchenne; Amyotrophic lateral sclerosis; Muscular atrophy, spinal; Review

This study was supported by Joint Fund of National Natural Science Foundation of China and Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (No. U1032004), National Natural Science Foundation of China (No. 30870851, 81271401), Supporting Program for Science and Technology Research of China (No. 2012BAI09B04), Major New Drugs Innovation and Development of Important National Science & Technology Specific Projects (No. 2011ZX09307-001), Technology Plan Project of Guangdong Province (No. 2011A030400006), Science and Technology Project of Population and Family Planning Commission of Guangdong Province (No. 2009208), and Key Project of Population and Family Planning Commission of Guangdong Province (No. 2010102).

2013 年神经肌肉病的诊断与治疗取得了一些突破性的进展,为方便神经科同行了解这些最新研究动态,笔者筛选、整理了 2013 年 1 月-2014 年 2 月美国国立医学图书馆(PubMed)收录的有关神经肌

肉病的文章,并提纲挈领地对其中部分神经肌肉病的研究亮点进行总结,谨供参考。因为任何进展的取得,均有其相关的研究基础,故在介绍最新研究亮点之前,先对其研究背景进行简要介绍,以增强读者对整个过程的了解。对于感兴趣的内容,可在参考文献中查阅原文,进行扩展性阅读。笔者拟对四部分,包括糖原贮积病 II 型(GSD II, 又称 Pompe 病)、Duchenne 型肌营养不良症(DMD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)和脊髓性肌萎缩症(SMA)的研究新亮点进行介绍。

一、糖原贮积病 II 型

1. 基因治疗可改善糖原贮积病 II 型患者通气功能 大量临床研究表明,Myozyme 可安全有效地治疗糖原贮积病 II 型。但其缺点有三:其一是需要每

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.05.004

基金项目:国家自然科学基金-广东省联合基金重点资助项目(项目编号:U1032004);国家自然科学基金资助项目(项目编号:30870851);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81271401);国家科技支撑计划项目(项目编号:2012BAI09B04);国家科技重大专项课题-重大新药创制(项目编号:2011ZX09307-001);广东省科技计划项目(项目编号:2011A030400006);广东省人口和计划生育委员会科技项目(项目编号:2009208);广东省人口和计划生育委员会重点项目(项目编号:2010102)

作者单位:510080 广州,中山大学附属第一医院神经内科, Email: zhangch6@mail.sysu.edu.cn

2 周静脉滴注一次,终身用药且价格昂贵;其二是在治疗过程中病情仍缓慢进展;其三是由于 Myozyme 是一种异源性蛋白质,重复应用可使机体产生特异性抗体而致药物疗效下降。因此,尚待更好的治疗方法。2013 年 6 月,Smith 等^[1]公布了对 5 例长期需呼吸机支持的婴儿型糖原贮积病 II 型患儿行腺相关病毒介导 α -葡糖苷酶(GAA)基因治疗的 I-II 期临床研究结果,并对这 5 例患儿治疗前后的常规实验室、免疫功能和肺功能等项数据进行比较。其结果显示,治疗后 6 个月,患儿潮气量(VT)增加 28%,可较长时间脱离呼吸机;外周血检测到微量抗 GAA 基因抗体和抗腺相关病毒抗体。由此他们认为,GAA 基因治疗是安全的,并具有改善患者通气功能的作用,此为基因治疗糖原贮积病 II 型的重要研究进展。他们还将继续对另外 5 例患者进行治疗,以确定是否可于疾病早期施行 GAA 基因治疗以提高疗效。

2. 建立了婴儿型和晚发型糖原贮积病 II 型的诱导型多能干细胞模型 Higuchi 等^[2]分别选取婴儿型和晚发型糖原贮积病 II 型患者的皮肤纤维母细胞,成功建立了这两型糖原贮积病 II 型的诱导型多能干细胞(iPSCs)模型。电子显微镜观察显示,iPSCs 胞质内有大量糖原颗粒,经 Myozyme 处理后明显减少,并存在剂量依赖关系。该模型可用于研究糖原贮积病 II 型的发病机制、新药筛选并探索新的治疗方法。

3. 皮肤组织活检可用于诊断糖原贮积病 II 型 Katona 等^[3]建立了皮肤组织活检诊断糖原贮积病 II 型的方法,对 6 例糖原贮积病 II 型患者的小腿皮肤进行活检,与 6 例性别、年龄相匹配的健康志愿者的相同部位皮肤组织活检结果相对照。光学显微镜和电子显微镜观察显示,糖原贮积病 II 型患者竖毛肌胞质内有大量糖原颗粒,并与病情严重程度存在一定关联性,而健康对照者则无此现象。故认为,皮肤组织活检方法简便,创伤程度明显低于肌肉组织活检,推荐用于糖原贮积病 II 型的诊断。

二、Duchenne 型肌营养不良症

1. 建立了 Duchenne 型肌营养不良症的诱导型多能干细胞-心肌细胞模型 近年来,关于 Duchenne 型肌营养不良症第 51 外显子跳跃治疗的临床研究发展十分迅速,业已顺利通过 I 和 II a 期临床试验,目前正在 II b 和 III 期临床试验(<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01254019>),患

儿、家属和临床医师均翘首以待其 III 期临床研究结果的揭晓。但是并非所有 DMD 基因外显子缺失患者均可采用外显子跳跃治疗。例如,抗肌萎缩蛋白(dystrophin)氨基末端(N 末端)肌动蛋白结合区、羧基末端(C 末端)蛋白结合区均不宜行外显子跳跃治疗。2013 年,Dick 等^[4]选取 7 例含 dystrophin 基因外显子缺失突变或点突变的 Duchenne 型肌营养不良症患者的皮肤纤维母细胞,构建了 iPSCs 模型,再分化成为具有功能和电活动的心肌细胞,经鉴定,该心肌细胞具有与患者一致的 dystrophin 基因缺陷类型,从而成功地建立了 Duchenne 型肌营养不良症 iPSCs-心肌细胞模型。与此同时,他们采用外显子跳跃方法分别处理外显子 47~50 和 48~50 缺失的 iPSCs-心肌细胞模型,其 dystrophin 蛋白表达水平为正常对照组的 30%;以腺相关病毒介导的相对分子质量为 4.50×10^3 的 DMD 小基因(DMD mini 基因)分别转染外显子 35 缺失突变和外显子 70 点突变的 iPSCs-心肌细胞模型后,其 dystrophin 蛋白表达水平可达正常对照组的 90%。因此认为,该模型对评价 Duchenne 型肌营养不良症心脏损害的疗效具有重要临床价值。

2. 随机双盲对照临床试验结果表明氯沙坦与血管紧张素转换酶抑制剂治疗 Duchenne 型肌营养不良症心脏损害具有同等疗效 血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)和血管紧张素受体阻断剂(ARB)均对心脏损害有改善作用,但其中何种药物对 Duchenne 型肌营养不良症心脏病患儿的心脏功能治疗效果更佳? Allen 等^[5]将 22 例新诊断的 Duchenne 型肌营养不良症心脏病患儿随机分为两组,分别服用氯沙坦 $0.70 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 或赖诺普利 $0.07 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,治疗后氯沙坦组患儿超声心动图显示心肌射血功能从 48% 升至 55%,赖诺普利组从 47% 升至 55%(临床试验编号:NCT01982695)。表明两种药物均可改善 Duchenne 型肌营养不良症心脏病患儿的心脏功能,且二者疗效无明显差异。

三、肌萎缩侧索硬化症

1. 多项证据表明散发性肌萎缩侧索硬化症亦由基因突变所致 肌萎缩侧索硬化症分为家族性和散发性两种类型,家族性占 5%~10%、散发性约为 90%^[6]。我们熟知的首个被明确的家族性肌萎缩侧索硬化症致病基因为超氧化物歧化酶 1(SOD1)基因。最近,奥地利神经肌肉病专家 Finsterer 和 Burgunder^[6]指出,越来越多的证据表明散发性肌萎

缩侧索硬化症也是由基因突变所致,包括 *C9orf72*、*SOD1*、*FUS*、*TARDBP*、*UBQL2*、*SQSTM1*、*DCTN1* 和 *UNC13A* 等 21 个基因。有些散发性肌萎缩侧索硬化症与家族性的致病基因相互重叠,如 *SOD1*;有些仅为散发性肌萎缩侧索硬化症独有,如 *TAF15*^[6]、*GRN*^[7]、*EWSR1*^[6]、*ATXN2*^[8],这 4 个基因于 2013 年被明确,2014 年可能会有更多的散发性肌萎缩侧索硬化症致病基因被发现。由于家族性和散发性肌萎缩侧索硬化症的主要临床表现和病理改变极为相似,其相同的基因突变如 *SOD1* (ALS1)、*FUS* (ALS6)、*ANG* (ALS9)、*TARDBP* (ALS10)、*FIG4* (ALS11)、*OPTN* (ALS12) 等,可同时引起家族性和散发性肌萎缩侧索硬化症,故 Finsterer 和 Burgunder^[6] 认为,目前这种将肌萎缩侧索硬化症分为散发性和家族性的分类方法是人为的。随着散发性肌萎缩侧索硬化症致病基因的不断发现,将越来越清晰地认识到基因突变对散发性肌萎缩侧索硬化症发病的重要性。进一步分析发现,散发性肌萎缩侧索硬化症患者无家族史,可能与家族性肌萎缩侧索硬化症定义不准确、家族史不完整、误诊、还未到发病年龄过早死亡、家族人口过少、新基因突变、外显不全等原因相关^[6]。基于上述分析,可以认为许多散发性肌萎缩侧索硬化症也是由遗传因素引起的。

2. 基因型与临床表型之间的关系逐渐清晰

2013 年以来,关于肌萎缩侧索硬化症基因型与临床表型间关系的研究也有了长足的进步。散发性肌萎缩侧索硬化症患者在青少年期 (< 20 岁)、成年期 (20 ~ 60 岁) 和老年期 (> 60 岁) 发病的临床表现明显不同。家族性青少年型肌萎缩侧索硬化症常由 *Alsin*、*SETX*、*Spatacsin* 或 *Sigmar1* 基因突变引起。家族性成年型肌萎缩侧索硬化症则由 *C9orf72*、*SOD1*、*TARDBP* 或 *FUS* 基因突变引起。不同的基因突变、相同基因的不同突变类型对散发性肌萎缩侧索硬化症患者的发病年龄、临床表现、进展速度和预后均起决定性作用。Finsterer 和 Burgunder^[6] 详细介绍了 25 例不同类型家族性和散发性肌萎缩侧索硬化症患者的基因突变、蛋白质表达和遗传方式,以及临床表型特征,值得一读。

四、脊髓性肌萎缩症

脊髓性肌萎缩症是由于运动神经元存活 1 (*SMN1*) 基因第 7、8 外显子缺失突变或点突变所致。相同的 *SMN1* 基因突变可有完全不同的预后表现。根据患者发病年龄、临床特征、进展速度和预

后,可以分为 3 型: I 型最严重,出生 6 个月内发病,不能坐立、爬行、行走、抬头和正常呼吸,患儿一般在出生后 2 年内死亡; II 型于出生后 18 个月内发病,幼儿期丧失行走能力,多于少年期死亡; III 型可接近正常生命年限。对同为 *SMN1* 基因第 7、8 外显子缺失突变却出现 3 种预后截然不同临床结局的研究表明,此与 *SMN1* 基因结构几乎相同的 *SMN2* 基因拷贝数目有关^[9]。*SMN2* 基因可以补偿 *SMN1* 功能,其拷贝数目越多 (正常人有 4 个 *SMN2* 拷贝),临床症状越轻;当 *SMN2* 拷贝数目为零时,则为 I 型脊髓性肌萎缩症。因此,如何防止 *SMN2* 基因第 7 外显子的异常剪接,保持 *SMN2* 基因拷贝数目是改善脊髓性肌萎缩症患者临床症状的关键。有研究表明,*SMN2* 基因缺失是由于该基因转录本的第 7 外显子第 6 位碱基发生胞嘧啶-胸腺嘧啶置换 (C6U),破坏正常剪接位点,使 *SMN2* 基因第 7 外显子被认为内含子而剪掉^[9]。明确原因后即能产生新的治疗策略:修饰 *SMN2* 基因第 7 外显子的剪接位点。为此,有研究者发现了内含子剪接沉默子 N1 (ISS-N1),是位于 *SMN2* 基因第 7 内含子的 15 个核苷酸序列 (CCAGCAUUAUGAAAG),可为反义寡核苷酸建立正确剪接位点提供靶序列。

2013 年,脊髓性肌萎缩症治疗研究的动物实验也取得令人鼓舞的结果。多所实验室采用不同剂量、不同给药途径 (静脉、皮下或脑室) 注射 ISS-N1 靶序列反义寡核苷酸,均取得良好效果。Mitrapant 等^[9] 对比研究了脊髓性肌萎缩症模型鼠的 14 种不同长度碱基的反义寡核苷酸,发现以 25 个碱基的反义寡核苷酸效果最佳,模型鼠的生命期限可达对照鼠的 22 倍,且体重增加、运动功能明显改善。多所实验室采用反义寡核苷酸对脊髓性肌萎缩症模型鼠的治疗也取得了满意效果^[10-12]。由于动物实验取得的优于预期的结果,经美国食品与药品管理局 (FDA) 批准,美国 ISIS 制药公司于 2013 年对脊髓性肌萎缩症患者进行了 I 期临床研究 (美国临床试验编号: NCT01839656)。其结果显示,ISS-N1 靶序列反义寡核苷酸用于治疗脊髓性肌萎缩症安全性良好,目前已开始进行 II 期临床试验^[10]。我们热切地关注这一引人注目的临床研究结果,期望能给脊髓性肌萎缩症患者和家庭带来福音。

参 考 文 献

[1] Smith BK, Collins SW, Conlon TJ, Mah CS, Lawson LA, Martin

- AD, Fuller DD, Cleaver BD, Clément N, Phillips D, Islam S, Dobjia N, Byrne BJ. Phase I / II trial of adeno-associated virus-mediated alpha-glucosidase gene therapy to the diaphragm for chronic respiratory failure in Pompe disease: initial safety and ventilatory outcomes. *Hum Gene Ther*, 2013, 24:630-640.
- [2] Higuchi T, Kawagoe S, Otsu M, Shimada Y, Kobayashi H, Hirayama R, Eto K, Ida H, Ohashi T, Nakauchi H, Eto Y. The generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from patients with infantile and late-onset types of Pompe disease and the effects of treatment with acid- α -glucosidase in Pompe's iPSCs. *Mol Genet Metab*, 2014, 112:44-48.
- [3] Katona I, Weis J, Hanisch F. Glycogenosome accumulation in the arrector pili muscle in Pompe disease. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9:17.
- [4] Dick E, Kalra S, Anderson D, George V, Ritso M, Laval SH, Barresi R, Aartsma-Rus A, Lochmüller H, Denning C. Exon skipping and gene transfer restore dystrophin expression in human induced pluripotent stem cells-cardiomyocytes harboring DMD mutations. *Stem Cells Dev*, 2013, 22:2714-2724.
- [5] 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. *PLoS Curr*, 2013, pii:ecurrents.md.2cc69a1dae4be7dfe2bcb420024ea865.
- [6] Finsterer J, Burgunder JM. Recent progress in the genetics of motor neuron disease. *Eur J Med Genet*, 2014, 57(2/3):103-112.
- [7] Cannon A, Fujioka S, Rutherford NJ, Ferman TJ, Broderick DF, Boylan KB, Graff - Radford NR, Uitti RJ, Rademakers R, Wszolek ZK, Dickson DW. Clinicopathologic variability of the GRN A9D mutation, including amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 2013, 80:1771-1777.
- [8] Robberecht W, Philips T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14:248-264.
- [9] Mitrpant C, Porensky P, Zhou H, Price L, Muntoni F, Fletcher S, Wilton SD, Burghes AH. Improved antisense oligonucleotide design to suppress aberrant SMN2 gene transcript processing: towards a treatment for spinal muscular atrophy. *PLoS One*, 2013, 8:E62114.
- [10] Seo J, Howell MD, Singh NN, Singh RN. Spinal muscular atrophy: an update on therapeutic progress. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832:2180-2190.
- [11] Sivanesan S, Howell MD, Didonato CJ, Singh RN. Antisense oligonucleotide mediated therapy of spinal muscular atrophy. *Transl Neurosci*, 2013. [Epub ahead of print]
- [12] Zhou H, Janghra N, Mitrpant C, Dickinson RL, Anthony K, Price L, Eperon IC, Wilton SD, Morgan J, Muntoni F. A novel morpholino oligomer targeting ISS-N1 improves rescue of severe spinal muscular atrophy transgenic mice. *Hum Gene Ther*, 2013, 24:331-342.

(收稿日期:2014-05-04)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(三)

- 糖原贮积病 glycogen storage disease(GSD)
- 特发性震颤 essential tremor(ET)
- 铜锌超氧化物歧化酶
copper-zinc superoxide dismutase(Cu-ZnSOD)
- α -突触核蛋白 α -synuclein(α -Syn)
- 突触后致密物 95 post synaptic density 95(PSD95)
- 微管相关蛋白 1 轻链 3
microtubule-associated protein 1 light chain 3(MAP1LC3)
- 微栓子信号 microembolic signals(MES)
- 微小 RNA micro RNA(miRNA)
- 维 A 酸相关孤儿受体 γ t
retinoid-related orphan receptor γ t(ROR γ t)
- 系统评价 systematic review(SR)
- 细胞色素 C 氧化酶 cytochrome C oxidase(COX)
- 16 项嗅棒气味识别测验
the 16-item odor identification test from Sniffin' Sticks
(SS-16)
- 小泛素相关修饰物 small ubiquitin-related modifier(SUMO)
- 小干扰 RNA small interference RNA(siRNA)
- Becker 型肌营养不良症 Becker muscular dystrophy(BMD)
- Duchenne 型肌营养不良症
Duchenne muscular dystrophy(DMD)
- 嗅觉诱发电位 olfactory-evoked potentials(OEPs)
- 血管紧张素受体阻断剂 angiotensin receptor blocker(ARB)
- 血管紧张素转换酶抑制剂
angiotensin converting enzyme inhibitor(ACEI)
- 血管内皮生长因子
vascular endothelial growth factor(VEGF)
- 胰岛素抵抗 insulin resistant(IR)
- 乙二胺四乙酸 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
- Beck 抑郁量表 Beck Depression Inventory(BAI)
- 英国医学研究理事会 Medical Research Council(MRC)
- 婴儿猝死综合征 sudden infant death syndrome(SIDS)
- 用力肺活量 forced vital capacity(FVC)
- 用力呼气量 forced expiratory volume(FEV)
- 油红 O oil red O(ORO)
- 诱导型多能干细胞 induced pluripotent stem cells(iPSCs)
- 余气量 residual volume(RV)
- 运动神经元存活 survival motor neuronal(SMN)
- 载脂蛋白 E apolipoprotein E(ApoE)
- 早老素 1 presenilin-1(PS-1)
- 早老素 2 presenilin-2(PS-2)
- 肢带型肌营养不良症
limb-girdle muscular dystrophy(LGMD)
- 脂质沉积性肌病 lipid storage myopathy(LSM)
- 最大呼气压 maximal expiratory pressure(MEP)
- 最大吸气压 maximal inspiratory pressure(MIP)