·专题综述·

糖原贮积病Ⅱ型基因诊断与治疗进展

张成　杨娟

【摘要】 糖原贮积病Ⅱ型是一种罕见的常染色体隐性遗传性代谢性肌病，以进行性加重的骨骼肌萎缩、无力为特征，依靠临床病史、酸性α-葡糖苷酶（GAA）活性检测和*GAA*基因突变分析可以明确诊断。早期诊断可使患者在疾病早期即获得具有针对性的治疗和护理，改善预后和提高生活质量。本文拟就该病基因诊断和治疗进展进行概述。

【关键词】 糖原贮积病Ⅱ型；　α葡糖苷酸类；　综述

Progress in genetic diagnosis and management of glycogen storage disease type Ⅱ

ZHANG Cheng[1], YANG Juan[2]

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

[2]*Department of Neurology, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong, China*

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

【Abstract】 Glycogen storage disease type Ⅱ (GSD Ⅱ) is a rare autosomal recessive hereditary metabolic disorder characterized by progressive atrophy and weakness of skeletal muscle. It can be confirmed by clinical history, acid α-glucosidase (GAA) testing and *GAA* mutations. Early targeting treatment and nursing can improve the prognosis and quality of life of patients with GSD Ⅱ. Progress in genetic diagnosis and management of GSD Ⅱ will be reviewed in this paper.

【Key words】 Glycogen storage disease type Ⅱ; Alpha-glucosidases; 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).

糖原贮积病Ⅱ型（GSDⅡ）又称Pompe病或酸性麦芽糖酶缺乏症（AMD），为临床罕见的遗传代谢性肌病，呈常染色体隐性遗传，以进行性加重的骨骼肌萎缩、无力为特征，患者预后不良。现已明确，酸性α-葡糖苷酶（*GAA*）基因突变导致的酸性α-葡糖苷酶活性降低或缺乏，使糖原不能分解而在组织溶酶体内贮积，尤其在骨骼肌、心肌和平滑肌贮积是致病原因。根据发病年龄、器官受累程度和疾病进程，分为婴儿型和晚发型两种类型[1]。早期明确诊断可使患者在发病初期即获得具有针对性的治疗和护理，改善预后。在临床上，进行性肌营养不良症、炎症性肌病、代谢性肌病、先天性肌病和累及神经-肌肉接头的肌病均可表现出与Pompe病相似的近端肌无力特征，病理检查发现肌纤维内糖原贮积和空泡形成，难以鉴别诊断。传统观点认为，检测

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2014.05.005

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科（张成）；510282 广州，南方医科大学珠江医院神经内科（杨娟）

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

皮肤纤维母细胞酸性α-葡糖苷酶活性是诊断Pompe病的金标准，但这种检测方法周期长，后期建立起来的干血滤纸片酸性α-葡糖苷酶活性检测虽然是一种快速、可靠、经济的检测方法，但在新生儿筛查中具有较高的假阳性率[2]。因此，在诊断与鉴别诊断时，国内外专家主张多种检测方法联合应用，基因突变分析在辅助诊断或明确诊断过程中的作用被提到了不可忽视的高度。本文拟就Pompe病在分子遗传学和治疗方面取得的进展进行概述。

一、分子遗传学进展

1. *GAA*基因结构与功能　*GAA*基因定位于染色体17q25.2-25.3，基因组序列长度为27 kb，由20个外显子和19个内含子组成，第1外显子不参与编码蛋白质；其cDNA长度为2856 bp，编码由952个氨基酸多肽组成的酸性α-葡糖苷酶。后者由5种结构域组成，分别为P型三叶草样结构、氨基末端（N末端）、β三明治样结构、起催化作用的（β/α）δ桶状结构和羧基末端（C末端）[3]。酸性α-葡糖苷酶在合成过程中先合成无生物活性、相对分子质量为110×10^3的前体，在甘露糖-6-磷酸酶介导下转运至前溶酶体和溶酶体内进行加工和处理，然后生成相对分子质量为95×10^3的中间体，以及相对分子质量为76×10^3和70×10^3的活性体[4]。如果*GAA*基因缺陷使酸性α-葡糖苷酶合成、加工和处理过程中的任何一个环节受阻，均可导致其功能障碍，不能有效水解糖原α-1，4糖苷键，以及麦芽糖和异麦芽糖α-1，6糖苷键，使糖原在各种组织或器官，尤其是心肌、骨骼肌和平滑肌进行性贮积而诱发相应临床症状与体征。一般而言，婴儿型患儿体内酸性α-葡糖苷酶活性低于正常参考值的1%，晚发型患者仅为正常参考值的1%～40%[5]。

2. *GAA*基因突变与频率分布　依据*GAA*基因突变后酸性α-葡糖苷酶合成不同阶段所产生的各亚型的质和量，Kroos等[6]从细胞水平将*GAA*基因突变严重程度分为A、B、C、D、E和F共6级，分别命名为非常严重、严重、较重、轻型、可能不致病和不致病。根据Pompe病中心（www.pompecenter.nl）统计（数据更新至2013年8月7日），目前共发现468种*GAA*基因突变，其中142种为非常严重（A级）、135种严重（B级）、28种较重（C级）、21种轻型（D级）、5种可能不致病（E级）和93种不致病（F级），另有44种生物学效应尚未阐明。A级突变以无义突变（如c.1134C > G，p.Y378X）、移码突变（如c.1293_1312del，p.Q433Dfs*66）和剪接突变（如c.1194+2T > A，紧接外显子，内含子上以-2、-1、+1和+2标识的突变）为主，还有1种为起始密码子突变（c.3G > A，p.M1?），另外4种为整码突变（c.1962_1964del，p.E655del；c.1819_1836del，p.G607_H612del；c.2758_2775dup，p.G920_N925dup；c.1373_1375del，p.D459del）。携带A级突变的细胞几乎均不表达酸性α-葡糖苷酶；B、C和D级突变则以错义突变为主，细胞内可检测到不同亚型酸性α-葡糖苷酶，其活性分别为0～5%、2%～10%和5%～30%；E级突变均为错义突变，细胞内酸性α-葡糖苷酶活性达30%～60%；F级突变由错义突变、非编码区突变和内含子上以-（4～81）和+（4～49）标识的突变构成，其细胞内酸性α-葡糖苷酶活性超过60%。虽然F级突变均为错义突变，但其临床表现差异较大，因为被替代的氨基酸具有重要功能。*GAA*基因常见突变位点具有种族和地域差异性。美国黑人以c.2560C > T（p.R854X）突变常见，这种突变源自非洲北部，沿非洲西海岸扩布至非洲南部的纳米比亚，部分随奴隶交易带至美国[7]。包括我国台湾地区和日本在内的亚洲人群以c.1935C > A（p.D645E）突变常见，c.1526G > A（p.G576S）和c.2065G > A（p.D689K）纯合突变概率亦较高，达3.30%～3.90%。高加索人群常见的突变类型为c.2481+102_2646del（delexon18；p.G828-N882del）、c.525del（delT；p.D176fsX45）、c.925G > A（p.G309R）和c.-32-13T > G。这些不同人群的常见突变类型具有明显的始祖效应[7]。此外，c.2662G > T（p.E888X）、c.752C > T（p.S251L）和c.761C > T（p.S254L）突变常见于*GAA**09单倍型，提示这些基因突变类型亦与始祖效应有关[8]。我国大陆和香港地区尚未见大规模*GAA*基因突变分析。

3. *GAA*基因突变与生物学效应　众所周知，DNA序列决定pre-mRNA剪接位置、mRNA翻译的起始和终止、氨基酸的顺序和修饰，一旦DNA序列发生改变，即对蛋白质结构和功能产生影响。当今分子生物学研究日新月异，逐步打破了基因分析技术的束缚，但如何预测基因突变后的生物学效应仍然是基因突变分析的挑战，主要体现在：（1）启动子区的突变不易检出，突变后的生物学效应难以预测。（2）无义突变不可避免地引起合成的酸性α-葡糖苷酶长度缩短、功能降低，甚至功能缺陷。一般而言，无义突变后产生的蛋白质极易被降解。（3）移码突变可使终止密码子提前出现，合成的蛋白质往往

存在功能缺陷。虽然整码突变的危害不及移码突变，但同样可以导致Pompe病[9-10]。(4)某些突变能够降低pre-RNA剪接的保真性。有时正常的剪接过程被抑制，合成的蛋白质被异常修饰后丧失其原有功能；有时正常的剪接过程可以继续进行，但剪接效率降低，意味着合成的酸性α-葡糖苷酶功能正常但合成量减少。c.-32-13T>G即为典型例子，突变使其剪接体识别剪接位点效率降低，部分酸性α-葡糖苷酶转录体缺少第2外显子的序列，转录效率仅为10%~20%。与之相对应，残留的酸性α-葡糖苷酶活性仅为正常参考值的20%左右，且其活性具有个体和组织差异性[11-12]，表明某些修饰因素可能在Pompe病的病理生理过程中起作用。(5)即使是同义突变，亦会产生严重的临床后果。例如，与婴儿型有关的c.2040G>A(p.L680Lfs35X)突变，该突变位于第14外显子的最末位核苷酸，影响酸性α-葡糖苷酶转录体的正常剪接，使转录体中掺杂第14内含子的序列，导致蛋白质翻译过程中出现提前终止的密码子[13]。(6)目前有许多计算机软件可以预测剪接位点突变或错义突变后的生物学效应，但分析结果不尽准确，因为仅考虑氨基酸结构和电荷的相似度，以及物种间氨基酸在进化上的保守性对蛋白质功能的影响。

4. 基因型与临床表型　现已明确，Pompe病呈常染色体隐性遗传，两个等位基因无义突变或移码突变(如c.2560C>T/c.2560C>T，p.R854X；c.236_246del/c.377G>A，p.P79RfsX13/p.W126X；c.2185delC/c.2185delC，p.T729fsX8/p.T729fsX8)是导致酸性α-葡糖苷酶活性缺乏的重型突变，引起婴儿型Pompe病，患儿通常在1岁内发病，以心脏肥大、肝肿大和肌张力降低为主要临床表现。当然，两个等位基因为错义突变，突变后还能合成部分有功能的酸性α-葡糖苷酶，引起晚发型Pompe病(如c.1978C>T/c.1397T>G，p.R660C/p.V466G)，主要表现为四肢近端骨骼肌运动后极度无力、呼吸肌无力和血清肌酸激酶(CK)轻至中度升高[13-16]。据文献报道，Pompe病的临床表现具有明显异质性，突变位点相同但临床表型却不同，这种现象既可见于无亲缘关系的个体间，亦可见于同一家系的个体间。例如：同为c.1082C>T(p.P361L)/c.1309C>T(p.R437C)突变的两兄弟，弟弟12岁时肌无力急剧恶化，14岁时出现呼吸困难，夜间需辅助通气支持，16岁时因脊柱后凸行脊柱融合术。尽管酸性α-葡糖苷酶活性和病理检查均支持Pompe病诊断，但其兄13岁时仍无任何肌萎缩、肌无力症状或体征[17]。同样，同一家族中c.-32-13T>G/c.525delT和c.-32-13T>G/c.379，389delTG的亲缘个体，其临床表型也具有异质性[18]。某些个体携带的2个*GAA*等位基因，其一是与晚发型发病有关的c.-32-13T>G突变；另一是不影响酸性α-葡糖苷酶活性的突变，其纤维母细胞酸性α-葡糖苷酶活性为正常参考值的5%~25%，在临床表型上，既可以是婴儿型，也可以为晚发型，发病年龄可为1岁以下，亦可至78岁[19]。

虽然Pompe病临床异质性的机制尚不十分清楚，但是越来越多的证据表明，遗传背景和环境因素对其临床病程起修饰作用。例如：c.1106T>C(p.L369P)和c.2236T>C(p.W746R)突变不影响细胞合成相对分子质量为110×10^3的酸性α-葡糖苷酶前体，但影响该酶的加工和胞内转运过程[20]。如前所述，c.-32-13T>G突变可降低pre-RNA剪接的保真性，导致转录效率下降，而且转录效率具有个体和组织差异性。此类能够影响剪接效率的突变还包括c.546G>A和c.1552-3C>G[11,19,21]。假缺陷等位基因在人群中的分布频率极高，对酸性α-葡糖苷酶活性和临床病程的修饰作用较大，在Pompe病诊断与治疗中尤需注意。例如：c.1726G>A(p.G576S)和c.2065G>A(p.E689K)是中国人和日本人常见的假缺陷等位基因，也是*GAA**03单倍型的组成部分，而且c.1935C>A(p.D645E)与*GAA**03单倍型紧密连锁。此外，c.546+5G>T和c.2238G>C突变也常具有*GAA**03单倍型遗传背景。对Pompe病进行临床分型时，需注意*GAA*基因突变类型和特点。例如：c.1935C>A(p.D645E)突变是亚洲人群常见的突变类型，主要与婴儿型有关，但复合杂合突变c.1935C>A(p.D645E)/c.2560C>T(p.R854X)的临床表型为晚发型。c.2238G>C(p.W746C)和c.546+5G>T突变也常伴*GAA**03单倍型遗传背景，有趣的是，c.2238G>C(p.W746C)突变在不同个体表现出多态性与致病性的双重特点，由于该突变类型与*GAA**03单倍型密切相关，假缺陷等位基因的修饰作用可能是引发这种现象的原因[8]。在我国台湾地区，c.1726G>A(p.G576S)等位基因频率高达14.50%，在欧洲和撒哈拉以南的非洲人群中更高。据估计，有3.30%~3.90%的亚洲人群携带纯合子c.1726G>A(p.G576S)，如果不合并其他致病突变，这些个体可不患病。c.1726G>A(p.G576S)突变主

要影响蛋白质结构的稳定性，与酸性α-葡糖苷酶活性下降有关，当与某些导致该酶活性下降的基因突变共存时，其活性下降得更明显，在临床上往往影响对Pompe病严重程度和预后的判断。c.1726G > A（p.G576S）突变的存在不仅为其他突变类型伪造了一种临床表型严重的假象，同时也给依赖酸性α-葡糖苷酶活性检测的新生儿筛查带来了较多的假阳性结果[22]。在我国台湾地区新生儿筛查呈假阳性的个体中，100%携带这种基因突变，其等位基因频率为84.80%。由于假缺陷等位基因的存在，单纯依靠酸性α-葡糖苷酶活性检测难以完全区分正常人与Pompe病患者[23]。c.271G > A（p.D91N）也是假缺陷等位基因，主要见于北美人群[8]。鉴于假缺陷等位基因在人群中的高携带率，当依靠酸性α-葡糖苷酶活性检测和*GAA*基因突变分析对Pompe病进行诊断和判断预后或进行新生儿筛查时，需认识假缺陷等位基因在人群中的遗传特点，注意该等位基因对酸性α-葡糖苷酶酶学的干扰及其在多态性位点向致病位点转化中可能发生的修饰作用。

另外，在*ACE*基因第16内含子上存在一个已知的多态性位点，此位点的插入/缺失多态性是影响Pompe病临床表型和预后的遗传因素之一，携带*DD*基因型的患者发病年龄早，发生脊柱侧凸和肌肉疼痛的比例高，预后差。此类患者Ⅱ型肌纤维数量多，对氧化应激反应异常敏感[24]。

二、治疗进展

目前，对Pompe病的治疗主张多学科协作，包括对症治疗、支持治疗、饮食治疗、物理治疗、心理疏导、言语训练和作业疗法等；在预防方面，采用遗传咨询和产前诊断等。

1. 对症支持治疗　在我国大陆地区，Pompe病的治疗仍以对症支持为主，通过定期评价各系统功能状态，指导早期干预和护理，有一定的临床效果。（1）循环系统：心脏受累是经典婴儿型Pompe病的主要临床特征，除定期行心电图和超声心动图检查，评价是否有心律失常、心脏结构和功能异常外，尚可酌情予利尿剂和血管紧张素转换酶抑制剂（ACEI）。利尿剂主要用于改善肺循环淤血，但需谨慎使用；ACEI可降低循环阻力、改善心排出量，减慢心率和减轻肺循环淤血。此外，β受体阻滞剂可通过减慢心率来减轻心脏负荷，对缓解心前区疼痛有一定疗效[25]。血管受累主要表现为动脉瘤[26]，部分患者可发生脑出血，需按照脑出血的诊断与治疗原则进行处理。（2）呼吸系统：呼吸衰竭是晚发型Pompe病患者的主要死因，其发生和病程进展较为隐匿，不仅需定期行体格检查，而且有必要采用各种仪器评价呼吸功能，常规检测能够反映呼吸肌功能的参数，如用力肺活量（FVC）、最大吸气压（MIP）、最大呼气压（MEP）和坐位闭合容积（CV）。FVC < 55%预测值，提示存在逐渐进展为二氧化碳潴留的可能[27]；CV < 80%预测值，应行仰卧位CV检查，以评价是否存在膈肌无力，当由坐位转为仰卧位，CV下降至20%预测值以下时，提示重度膈肌无力[28]；MIP > 80 cm H_2O（1 cm $H_2O = 9.81 \times 10^{-3}$ kPa）或MEP > 90 cm H_2O，可以排除临床相关的吸气肌或呼气肌无力[29]。当出现明显的通气障碍时，需监测动脉血氧饱和度（SaO_2）。为明确患者是否存在睡眠呼吸暂停综合征，除在夜间监测其动脉血氧饱和度外，还应行多导睡眠图监测[30]；对于可疑肺不张或肺炎的患者，应行胸部正侧位X线或CT扫描，为进一步药物治疗提供依据。至疾病晚期，若患者自主呼吸不能维持基本的肺泡通气量（VA），应长期应用家庭型便携式无创正压通气，不仅可以改善肺功能，还能够提高患者生活质量、减少急救次数。正压通气适应证为，日间有明显二氧化碳潴留（$PaCO_2 \geqslant 50$ mm Hg，1 mm Hg = 0.133 kPa）；轻度昼夜或夜间二氧化碳潴留（$PaCO_2 \geqslant 45$ mm Hg），或夜间动脉血氧饱和度低（$SaO_2 \leqslant 88\%$），持续超过5分钟，伴倦怠、呼吸困难和晨间头痛等肺通气不足表现；病情恶化迅速患者，FVC < 50%预测值或MIP < 60 cm H_2O。正压通气禁忌证为，严重吞咽障碍相关的慢性反复发作性吸入性肺炎；在机械辅助通气下仍不能有效清除呼吸道分泌物；通气支持时间超过20小时。因为在这些情况下，患者往往需要机械辅助通气。辅助咳痰技术也可减少经鼻腔吸痰、气管插管和气管切开的机会[31]。此外，为了预防季节性呼吸道感染，保护肺功能，应预防接种肺炎球菌疫苗和流感疫苗。一旦出现呼吸道感染等并发症，应立即进行抗感染和对症处理。（3）运动系统：骨骼肌受累是Pompe病的主要临床表现，应定期评价肌力。英国医学研究理事会（MRC）肌力评价方法可基本判断肌肉对抗重力和阻力的程度[32]。握力计是一种定量检测肌力的仪器，可用于随访研究，长期监测肌力[33]。肌肉挛缩和姿势异常可影响骨骼形态和结构，脊柱后凸十分常见。对于此类患者，坚持每天做适度的牵伸运动、校正不良姿势、适时

使用矫形器，不仅可以限制或延缓畸形的进展，而且有利于防治褥疮和慢性骨骼肌疼痛等并发症。这些预防工作宜早期开展，贵在坚持，尽管目前尚无规范的训练方案可循，但可参考其他类型神经肌肉病的治疗规范[34]。(4)胃肠系统：Pompe病患者肌肉中蛋白质降解增加，应予高蛋白和富含丙氨酸的饮食，配合适度有氧运动，可获得较好临床疗效[35]。

2. 酶替代治疗　2006年，美国食品与药品管理局(FDA)批准新药Myozyme用于治疗Pompe病，此为目前唯一对Pompe病有特异性治疗作用的酶替代治疗(ERT)药物，在Pompe病诊断与治疗史上具有里程碑性意义。Myozyme是通过基因重组技术在中国仓鼠卵细胞中合成的蛋白质，其结构和功能与人体合成的酸性α-葡糖苷酶高度相似，在甘露糖-6-磷酸受体的介导下靶向于溶酶体发挥水解糖原的作用。迄今，共1000余例Pompe病患者接受了Myozyme治疗，对该药疗效和安全性分析表明，约有2/3的晚发型患者运动和呼吸功能改善或稳定，血清肌酸激酶水平降低。然而，长期治疗未显示出疗效持续改善之趋势，大多数患者治疗后1～2年获得最大疗效，2～3年病情开始恶化。大部分患者对Myozyme耐受性良好，不良反应以轻至中度输液相关反应为主，按一般过敏反应进行对症处理即可奏效；重度不良反应十分罕见，至今仅报道4例，包括气管内出血、重度肺气肿和气胸，以及舌水肿[36]。大多数患者经Myozyme治疗后均会产生针对性的IgG抗体，滴度较低，对疗效无明显影响，但高滴度的IgG抗体可使病情恶化；较少患者可于血清中检出IgE抗体，故在酶替代治疗期间需监测免疫学指标[36]。对于婴儿型患儿而言，Myozyme可显著改善心脏肥大、心功能和肝脾大，但对骨骼肌疗效有限，约有50%的经典婴儿型患儿最终进展至不能行走和需要辅助通气支持。与临床分型无关，Myozyme对晚期病例也有效，但早期用药疗效更佳[37]。酶替代治疗与适度的有氧运动相结合，对改善晚发型患者肌力和心肺功能具有积极作用[38]。若同时应用沙丁胺醇(舒喘灵)，可以提高晚发型患者酶替代治疗的效果[39]。根据美国神经肌肉病和电生理诊断医学协会(AANEM)推荐，凡是有症状的Pompe病患者，一经明确诊断，应立即用药[40]。

经研究表明，交叉反应免疫物质(CRIM)状态是预测酶替代治疗效果的主要指标之一。一般而言，交叉反应免疫物质阳性患者，治疗后机体产生的IgG抗体滴度较低，疗效良好。交叉反应免疫物质阴性患者，机体缺乏酸性α-葡糖苷酶，治疗后产生高滴度的IgG抗体，疗效较差，可予利妥昔单抗、甲氨蝶呤和丙种球蛋白来调节免疫状态，改善交叉反应免疫物质状态对此类患者的疗效[41-42]。有时，交叉反应免疫物质阳性患者也可产生高滴度的IgG抗体，使酶替代治疗效果复杂化，予免疫调节治疗，部分病例显效，部分无效[43-44]。此外，某些基因多态性也影响患者对酶替代治疗的反应，携带*ACE*基因的*DD*基因型患者，疗效较差[45]。对经体外培养的皮肤纤维母细胞或直接分离的外周血单个核细胞，行Western blotting检测或基因测序均可预测交叉反应免疫物质状态，结果可靠；前者历时较长，需数周时间，后两者历时短，48～72小时即可完成[46-47]。

3. 其他治疗方法　包括分子伴侣疗法和基因疗法等，其中大部分是围绕Myozyme研发的治疗方法。其中，有些治疗方法能够使进入骨骼肌的Myozyme量增加，有些则可使Myozyme在体内持续表达，但目前这些方法均未进入临床[39,48-53]。

4. 遗传咨询和产前诊断　目前，Pompe病的致病基因、酶学基础和遗传方式已经明确，可以有效地开展遗传咨询和产前诊断。在明确先证者的致病基因突变后，如果家系中有遗传风险的夫妇有生育要求，可于孕10～12周采集绒毛标本或于孕15～18周取羊水细胞，通过遗传分析进行产前诊断。对致病基因突变不明确的家系，亦可取上述标本，通过测定酸性α-葡糖苷酶活性进行产前诊断[54]，但需排除假缺陷等位基因对酸性α-葡糖苷酶的影响。在临床实践中，我们主张优先考虑以*GAA*基因分析为基础的产前诊断。

三、小结

传统观点认为，皮肤纤维母细胞酸性α-葡糖苷酶活性是诊断Pompe病的金标准，随着对其认识和研究的深入，发现影响酸性α-葡糖苷酶活性的原因错综复杂，多种修饰性因素可在其中起作用。其中，最具代表性的是假缺陷等位基因对酸性α-葡糖苷酶活性的影响，假缺陷等位基因纯合突变患者，该酶活性下降，但这些个体不发病，当与其他致病基因突变共存时，其酸性α-葡糖苷酶活性下降程度更明显，可干扰疾病严重程度和预后的判断，而且假缺陷等位基因通过修饰作用还能将多态性位点转变为致病突变。因此，基于临床病史、酸性α-葡糖苷酶活性检测和*GAA*基因突变分析来诊断Pompe病

更加准确。此外,从基因层面确定的一些已知基因突变对酸性α-葡糖苷酶活性和临床表型的影响,还将有利于临床分型和预后评价,不断丰富的*GAA*基因型与临床表型的相关性研究,也有助于研发新的治疗策略。至今*GAA*基因修饰的因素和作用尚未完全阐明,与临床表型的相关性尚待进一步探索。

尽管目前用于治疗Pompe病的干预措施有多种,而且其中大多数已获得临床试验的证实,然而所起的作用仍以对症支持为主。酶替代治疗的出现给Pompe病的治疗带来了福音,被认为是唯一具有特异性治疗作用的方法。但该疗法存在费用高昂、疗效惠及面有限,以及药物尚未引进我国大陆地区等局限性,新的治疗措施仍待进一步研发。因此,在明确先证者的致病基因突变后,通过准确的遗传咨询和产前诊断以降低出生缺陷,仍然是当前预防和治疗Pompe病的关键。

参 考 文 献

[1] Xue QM. Glycogen storage disease type Ⅱ//Liu ZL, Liang XL, Zhang C. Neural genetic diseases. 3rd ed. Beijing: People´s Medical Publishing House, 2011: 424.[薛启莫. 糖原贮积病Ⅱ型//刘焯霖, 梁秀龄, 张成. 神经遗传病学. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 424.]

[2] Kumamoto S, Katafuchi T, Nakamura K, Endo F, Oda E, Okuyama T, Kroos MA, Reuser AJ, Okumiya T. High frequency of acid alpha - glucosidase pseudodeficiency complicates newborn screening for glycogen storage disease type Ⅱ in the Japanese population. Mol Genet Metab, 2009, 97:190-195.

[3] Sugawara K, Saito S, Sekijima M, Ohno K, Tajima Y, Kroos MA, Reuser AJ, Sakuraba H. Structural modeling of mutant α-glucosidases resulting in a processing/transport defect in Pompe disease. J Hum Genet, 2009, 54:324-330.

[4] Di Rocco M, Buzzi D, Tarò M. Glycogen storage disease type Ⅱ: clinical overview. Acta Myol, 2007, 26:42-44.

[5] American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine. Diagnostic criteria for late - onset (childhood and adult) Pompe disease. Muscle Nerve, 2009, 40:149-160.

[6] Kroos M, Pomponio RJ, van Vliet L, Palmer RE, Phipps M, Van der Helm R, Halley D, Reuser A; GAA Database Consortium. Update of the Pompe disease mutation database with 107 sequence variants and a format for severity rating. Hum Mutat, 2008, 29:E13-26.

[7] Becker JA, Vlach J, Raben N, Nagaraju K, Adams EM, Hermans MM, Reuser AJ, Brooks SS, Tifft CJ, Hirschhorn R, Huie ML, Nicolino M, Plotz PH. The African origin of the common mutation in African American patients with glycogen-storage disease type Ⅱ. Am J Hum Genet, 1998, 62:991-994.

[8] Labrousse P, Chien YH, Pomponio RJ, Keutzer J, Lee NC, Akmaev VR, Scholl T, Hwu WL. Genetic heterozygosity and pseudodeficiency in the Pompe disease newborn screening pilot program. Mol Genet Metab, 2010, 99:379-383.

[9] Ko TM, Hwu WL, Lin YW, Tseng LH, Hwa HL, Wang TR, Chuang SM. Molecular genetic study of Pompe disease in Chinese patients in Taiwan. Hum Mutat, 1999, 13:380-384.

[10] Wan L, Lee CC, Hsu CM, Hwu WL, Yang CC, Tsai CH, Tsai FJ. Identification of eight novel mutations of the acid alpha - glucosidase gene causing the infantile or juvenile form of glycogen storage disease type Ⅱ. J Neurol, 2008, 255:831-838.

[11] Raben N, Nichols RC, Martiniuk F, Plotz PH. A model of mRNA splicing in adult lysosomal storage disease (glycogenosis type Ⅱ). Hum Mol Genet, 1996, 5:995-1000.

[12] Boerkoel CF, Exelbert R, Nicastri C, Nichols RC, Miller FW, Plotz PH, Raben N. Leaky splicing mutation in the acid maltase gene is associated with delayed onset of glycogenosis type Ⅱ. Am J Hum Genet, 1995, 56:887-897.

[13] McCready ME, Carson NL, Chakraborty P, Clarke JT, Callahan JW, Skomorowski MA, Chan AK, Bamforth F, Casey R, Rupar CA, Geraghty MT. Development of a clinical assay for detection of GAA mutations and characterization of the GAA mutation spectrum in a Canadian cohort of individuals with glycogen storage disease, type Ⅱ. Mol Genet Metab, 2007, 92:325-335.

[14] van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe´s disease. Lancet, 2008, 372:1342-1353.

[15] Palmer RE, Amartino HM, Niizawa G, Blanco M, Pomponio RJ, Chamoles NA. Pompe disease (glycogen storage disease type Ⅱ) in Argentineans: clinical manifestations and identification of 9 novel mutations. Neuromuscul Disord, 2007, 17:16-22.

[16] Oba-Shinjo SM, da Silva R, Andrade FG, Palmer RE, Pomponio RJ, Ciociola KM, S Carvalho M, Gutierrez PS, Porta G, Marrone CD, Munoz V, Grzesiuk AK, Llerena JC Jr, Berditchevsky CR, Sobreira C, Horovitz D, Hatem TP, Frota ER, Pecchini R, Kouyoumdjian JA, Werneck L, Amado VM, Camelo JS Jr, Mattaliano RJ, Marie SK. Pompe disease in a Brazilian series: clinical and molecular analyses with identification of nine new mutations. J Neurol, 2009, 256:1881-1890.

[17] Lam CW, Yuen YP, Chan KY, Tong SF, Lai CK, Chow TC, Lee KC, Chan YW, Martiniuk F. Juvenile - onset glycogen storage disease type Ⅱ with novel mutations in acid alpha-glucosidase gene. Neurology, 2003, 60:715-717.

[18] Ausems MG, ten Berg K, Beemer FA, Wokke JH. Phenotypic expression of late - onset glycogen storage disease type Ⅱ: identification of asymptomatic adults through family studies and review of reported families. Neuromuscul Disord, 2000, 10:467-471.

[19] Kroos MA, Pomponio RJ, Hagemans ML, Keulemans JL, Phipps M, DeRiso M, Palmer RE, Ausems MG, Van der Beek NA, Van Diggelen OP, Halley DJ, Van der Ploeg AT, Reuser AJ. Broad spectrum of Pompe disease in patients with the same c.-32-13T→G haplotype. Neurology, 2007, 68:110-115.

[20] Niño MY, Mateus HE, Fonseca DJ, Kroos MA, Ospina SY, Mejía JF, Uribe JA, Reuser AJ, Laissue P. Identification and functional characterization of GAA mutations in Colombian patients affected by Pompe disease. JIMD Rep, 2013, 7:39-48.

[21] Hermans MM, van Leenen D, Kroos MA, Beesley CE, Van Der Ploeg AT, Sakuraba H, Wevers R, Kleijer W, Michelakakis H, Kirk EP, Fletcher J, Bosshard N, Basel-Vanagaite L, Besley G, Reuser AJ. Twenty-two novel mutations in the lysosomal alpha-glucosidase gene (GAA) underscore the genotype - phenotype correlation in glycogen storage disease type Ⅱ. Hum Mutat, 2004, 23:47-56.

[22] Chien YH, Hwu WL, Lee NC. Pompe disease: early diagnosis and early treatment make a difference. Pediatr Neonatol, 2013, 54:219-227.

[23] Chiang SC, Hwu WL, Lee NC, Hsu LW, Chien YH. Algorithm for Pompe disease newborn screening: results from the Taiwan screening program. Mol Genet Metab, 2012, 106:281-286.

[24] de Filippi P, Ravaglia S, Bembi B, Costa A, Moglia A, Piccolo G, Repetto A, Dardis A, Greco G, Ciana G, Canevari F, Danesino C. The angiotensin - converting enzyme insertion/

deletion polymorphism modifies the clinical outcome in patients with Pompe disease. Genet Med, 2010, 12:206-211.

[25] Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ. Moss and Adams´ heart disease in infants, children and adolescents. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

[26] Sacconi S, Bocquet JD, Chanalet S, Tanant V, Salviati L, Desnuelle C. Abnormalities of cerebral arteries are frequent in patients with late-onset Pompe disease. J Neurol, 2010, 257: 1730-1733.

[27] Braun NM, Arora NS, Rochester DF. Respiratory muscle and pulmonary function in polymyositis and other proximal myopathies. Thorax, 1983, 38:616-623.

[28] Parenti G, Di Iorio G, Sampaolo S, Fiorentino G, Farina V, Fecarotta S, Valente F, Ascione S, Caputi M, Andria G. Molecular basis and clinical management of Pompe disease. Cardiogenetics, 2013, 3(S1):E5.

[29] Hagemans ML, Hop WJ, Van Doorn PA, Reuser AJ, Van der Ploeg AT. Course of disability and respiratory function in untreated late-onset Pompe disease. Neurology, 2006, 66:581-583.

[30] Lofaso F, Quera - Salva MA. Polysomnography for the management of progressive neuromuscular disorders. Eur Respir J, 2002, 19:989-990.

[31] Clinical indications for noninvasive positive pressure ventilation in chronic respiratory failure due to restrictive lung disease, COPD, and nocturnal hypoventilation: a consensus conference report. Chest, 1999, 116:521-534.

[32] Paternostro-Sluga T, Grim-Stieger M, Posch M, Schuhfried O, Vacariu G, Mittermaier C, Bittner C, Fialka - Moser V. Reliability and validity of the Medical Research Council (MRC) scale and a modified scale for testing muscle strength in patients with radial palsy. J Rehabil Med, 2008, 40:665-671.

[33] Merlini L, Mazzone ES, Solari A, Morandi L. Reliability of hand-held dynamometry in spinal muscular atrophy. Muscle Nerve, 2002, 26:64-70.

[34] Case LE, Hanna R, Frush DP, Krishnamurthy V, DeArmey S, Mackey J, Boney A, Morgan C, Corzo D, Bouchard S, Weber TJ, Chen YT, Kishnani PS. Fractures in children with Pompe disease: a potential long - term complication. Pediatr Radiol, 2007, 37:437-445.

[35] Slonim AE, Bulone L, Goldberg T, Minikes J, Slonim E, Galanko J, Martiniuk F. Modification of the natural history of adult - onset acid maltase deficiency by nutrition and exercise therapy. Muscle Nerve, 2007, 35:70-77.

[36] Toscano A, Schoser B. Enzyme replacement therapy in late - onset Pompe disease: a systematic literature review. J Neurol, 2013, 260:951-959.

[37] de Vries JM, van der Beek NA, Hop WC, Karstens FP, Wokke JH, de Visser M, van Engelen BG, Kuks JB, van der Kooi AJ, Notermans NC, Faber CG, Verschuuren JJ, Kruijshaar ME, Reuser AJ, van Doorn PA, van der Ploeg AT. Effect of enzyme therapy and prognostic factors in 69 adults with Pompe disease: an open-label single-center study. Orphanet J Rare Dis, 2012, 7:73.

[38] Terzis G, Dimopoulos F, Papadimas GK, Papadopoulos C, Spengos K, Fatouros I, Kavouras SA, Manta P. Effect of aerobic and resistance exercise training on late - onset Pompe disease patients receiving enzyme replacement therapy. Mol Genet Metab, 2011, 104:279-283.

[39] Koeberl DD, Austin S, Case LE, Smith EC, Buckley AF, Young SP, Bali D, Kishnani PS. Adjunctive albuterol enhances the response to enzyme replacement therapy in late - onset Pompe disease. FASEB J, 2014.[Epub ahead of print]

[40] Cupler EJ, Berger KI, Leshner RT, Wolfe GI, Han JJ, Barohn RJ, Kissel JT; AANEM Consensus Committee on Late - Onset Pompe Disease. Consensus treatment recommendations for late-onset Pompe disease. Muscle Nerve, 2012, 45:319-333.

[41] Markic J, Polic B, Stricevic L, Metlicic V, Kuzmanic-Samija R, Kovacevic T, Ivkosic IE, Mestrovic J. Effects of immune modulation therapy in the first Croatian infant diagnosed with Pompe disease: a 3 - year follow - up study. Wien Klin Wochenschr, 2014, 126:133-137.

[42] Cousens LP, Mingozzi F, van der Marel S, Su Y, Garman R, Ferreira V, Martin W, Scott DW, De Groot AS. Teaching tolerance: new approaches to enzyme replacement therapy for Pompe disease. Hum Vaccin Immunother, 2012, 8:1459-1464.

[43] Markic J, Polic B, Kuzmanic-Samija R, Marusic E, Stricevic L, Metlicic V, Mestrovic J. Immune modulation therapy in a CRIM-positive and IgG antibody - positive infant with Pompe disease treated with alglucosidase alfa: a case report. JIMD Rep, 2012, 2:11-15.

[44] Banugaria SG, Patel TT, Mackey J, Das S, Amalfitano A, Rosenberg AS, Charrow J, Chen YT, Kishnani PS. Persistence of high sustained antibodies to enzyme replacement therapy despite extensive immunomodulatory therapy in an infant with Pompe disease: need for agents to target antibody - secreting plasma cells. Mol Genet Metab, 2012, 105:677-680.

[45] Ravaglia S, De Filippi P, Pichiecchio A, Ponzio M, SaeidiGaraghani K, Poloni GU, Bini P, Danesino C. Can genes influencing muscle function affect the therapeutic response to enzyme replacement therapy (ERT) in late - onset type Ⅱ glycogenosis? Mol Genet Metab, 2012, 107:104-110.

[46] Wang Z, Okamoto P, Keutzer J. A new assay for fast, reliable CRIM status determination in infantile - onset Pompe disease. Mol Genet Metab, 2014, 111:92-100.

[47] Bali DS, Goldstein JL, Banugaria S, Dai J, Mackey J, Rehder C, Kishnani PS. Predicting cross - reactive immunological material (CRIM) status in Pompe disease using GAA mutations: lessons learned from 10 years of clinical laboratory testing experience. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2012, 160C:40-49.

[48] Schoser B, Hill V, RabenN. Therapeutic approaches in glycogen storage disease type Ⅱ/Pompe disease. Neurotherapeutics, 2008, 5:569-578.

[49] van Til NP, Stok M, Aerts Kaya FS, de Waard MC, Farahbakhshian E, Visser TP, Kroos MA, Jacobs EH, Willart MA, van der Wegen P, Scholte BJ, Lambrecht BN, Duncker DJ, van der Ploeg AT, Reuser AJ, Verstegen MM, Wagemaker G. Lentiviral gene therapy of murine hematopoietic stem cells ameliorates the Pompe disease phenotype. Blood, 2010, 115:5329-5337.

[50] Farah BL, Madden L, Li S, Nance S, Bird A, Bursac N, Yen PM, Young SP, Koeberl DD. Adjunctive β2 - agonist treatment reduces glycogen independently of receptor - mediated acid α - glucosidase uptake in the limb muscles of mice with Pompe disease. FASEB J, 2014.[Epub ahead of print]

[51] Aymami J, Barril X, Rodríguez - Pascau L, Martinell M. Pharmacological chaperones for enzyme enhancement therapy in genetic diseases. Pharm Pat Anal, 2013, 2:109-124.

[52] Falk DJ, Mah CS, Soustek MS, Lee KZ, Elmallah MK, Cloutier DA, Fuller DD, Byrne BJ. Intrapleural administration of AAV9 improves neural and cardiorespiratory function in Pompe disease. Mol Ther, 2013, 21:1661-1667.

[53] Qiu K, Falk DJ, Reier PJ, Byrne BJ, Fuller DD. Spinal delivery of AAV vector restores enzyme activity and increases ventilation in Pompe mice. Mol Ther, 2012, 20:21-27.

[54] Taglia A, Picillo E, D´Ambrosio P, Cecio MR, Viggiano E, Politano L. Genetic counseling in Pompe disease. Acta Myol, 2011, 30:179-181.

（收稿日期：2014-04-01）