

七例晚发型糖原贮积病 II 型患者临床特征及基因突变分析

杨娟 操基清 刘振华 詹益鑫 梁颖茵 莫桂玲 李亚勤 孙毅明 李敏子 利婧 张成

【摘要】 目的 分析 4 个家系 7 例晚发型糖原贮积病 II 型患者之临床特点和基因型,以提高对该病的认识。**方法** 收集患者临床资料,并行酸性 α -葡糖苷酶(GAA)基因突变分析。**结果** 7 例患者分别来自 4 个家系,年龄 13~31 岁、发病年龄 6~17 岁、初诊年龄 12~29 岁、明确诊断年龄 12~30 岁;首发症状为肢带肌萎缩、无力,酸性 α -葡糖苷酶活性 0~5.27 nmol/(mg·h)。GAA 基因突变分析共发现 14 种突变,其中 2 种为新突变位点(Q81X 和 c.1355_1356delC)、2 种假缺陷等位基因位点(G576S 和 E689K)、8 种多态性位点和 2 种已知的致病突变位点(W746C 和 D645E)。**结论** 中国大陆地区对糖原贮积病 II 型之诊断时间存在明显的延误,提高医务人员的认识和理解将有助于改善患者预后。在明确诊断糖原贮积病 II 型或判断预后时,应结合临床病史、酸性 α -葡糖苷酶活性检测和 GAA 基因突变分析。糖原贮积病 II 型之临床表型具有异质性,在 GAA 基因型相同的情况下,同一家系的不同个体间可存在疾病进程和严重程度之差异。

【关键词】 糖原贮积病 II 型; α 葡糖苷酶类; 基因; 突变

Clinical features and genetic analysis of 7 patients with late-onset glycogen storage disease type II

YANG Juan¹, CAO Ji-qing², LIU Zhen-hua¹, ZHAN Yi-xin³, LIANG Ying-yin², MO Gui-ling³, LI Ya-qin², SUN Yi-ming⁴, LI Min-zi¹, LI Jing², ZHANG Cheng²

¹Department of Neurology, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong, China

²Department of Neurology, ⁴Department of Health, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

³Guangzhou Kingmed Diagnostic Center Co. Ltd, Guangzhou 510330, Guangdong, China

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

【Abstract】 Objective In order to make a well understanding on glycogen storage disease type II (GSD II), this paper explored clinical features and genetic analysis of 7 patients with late-onset glycogen storage disease type II. **Methods** Clinical data of 7 patients with late-onset glycogen storage disease type II were collected and acid α -glucosidase (GAA) gene sequencing was performed. **Results** Seven patients who belong to 4 families were at the age of 13–31 years old. The first symptom occurred at 6–17 years old, and the age at first and definitive diagnosis was 12–29 and 12–30 years old, respectively. The initial symptoms were mostly related to limb girdle muscular atrophy and weakness. The GAA activity ranged from 0 to 5.27 nmol/(mg·h). Sequencing analysis revealed 14 sequence variants, including 2 novel

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2014.05.008

基金项目:国家自然科学基金-广东省联合基金资助项目(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:510282 广州,南方医科大学珠江医院神经内科(杨娟,刘振华,李敏子);510080 广州,中山大学附属第一医院神经内科(操基清、梁颖茵、李亚勤、利婧、张成),保健科(孙毅明);510330 广州金域医学检验中心有限公司(詹益鑫,莫桂玲)

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

mutations (Q81X and c.1355_1356delC), 2 pseudodeficiency alleles (G576S and E689K), 8 polymorphic loci, and 2 sequence variants previously related with glycogen storage disease type II pathogenesis (W746C and D645E). **Conclusions** Due to the apparently diagnostic delay, prognosis of patients with glycogen storage disease type II could be improved by increasing the clinician's awareness of the disease. It is essential to combine clinical history with GAA activity and GAA gene analysis when we make a definitive diagnosis of glycogen storage disease type II. Though siblings share the same set of GAA mutations, the phenotype regarding the course and severity of disease could vary substantially.

【Key words】 Glycogen storage disease type II; Alpha-glucosidases; Genes; Mutation

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 (GSD II) 又称 Pompe 病或酸性麦芽糖酶缺乏症 (AMD)。目前业已明确, 酸性 α -葡糖苷酶 (GAA) 基因突变引起的酸性 α -葡糖苷酶活性下降或缺乏, 导致糖原在溶酶体内贮积为其发病原因^[1]。从某种意义上说, GAA 基因型决定临床表型。能够引起酸性 α -葡糖苷酶活性完全缺乏的重型 GAA 基因突变与经典婴儿型糖原贮积病 II 型有关, 患儿出生后不久即发病, 表现为全身肌张力下降、扩张型心肌病、喂养困难和呼吸衰竭, 若不及时治疗, 患儿多于 1 岁之内死亡。若 GAA 基因上 2 个等位基因发生突变后, 组织细胞仍能合成部分具有功能的酸性 α -葡糖苷酶, 则其临床表型为晚发型糖原贮积病 II 型, 患者可于 1 岁后的任何年龄阶段发病, 以缓慢进行性加重的肢带肌无力和呼吸困难为主要临床表现^[2-5]。关于 GAA 基因型特点及其与临床表型之间的相关性, 已有相关分析和总结见诸文献报道。荷兰糖原贮积病 II 型患者一个等位基因上 c.-32-13T>G 突变常与另一个等位基因上的重型突变以复合杂合突变形式存在, 这种突变方式可见于 68% 以上的晚发型患者。c.-32-13T>G 是荷兰糖原贮积病 II 型患者最常见的突变, 可引起剪接效率改变, 携带此种复合杂合突变的患者, 其酸性 α -葡糖苷酶活性为正常参照值的 5%~15%, 故临床表现具有明显异质性^[6]。而包括日本和我国台湾地区在内的亚洲人群则以假缺陷等位基因 G576S 常见^[7], 常影响诊断和判断预后。据文献报道, 糖原贮积病 II 型患者临床表现具有明显的异质性, 基因型相同, 但临床表现各异, 这种现象不仅见于非亲缘个

体间, 也存在于同一家系个体中, 某些修饰因素可能在其中发挥作用^[8]。为了解我国大陆地区糖原贮积病 II 型患者临床和基因突变特点, 提高对该病的认识以及早期、及时和准确诊断之能力, 本研究对来自 4 个家系共 7 例晚发型糖原贮积病 II 型患者的临床资料和 GAA 基因突变分析结果进行总结。

对象与方法

一、研究对象

经患者及其家属知情同意, 并获得中山大学附属第一医院伦理委员会批准, 收集来自 4 个家系共计 7 例晚发型糖原贮积病 II 型患者的临床资料, 并以乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝管采集患者及其部分家系成员外周静脉血 2 ml, 用于 GAA 基因突变分析。糖原贮积病 II 型的诊断基于典型临床病史和酸性 α -葡糖苷酶活性检测。患者分别来自我国广东省、山东省和浙江省, 男性 2 例, 女性 5 例; 年龄 13~31 岁, 发病年龄 6~17 岁, 初诊年龄 12~29 岁, 明确诊断年龄 12~30 岁; 大部分患者首发症状均表现为肢带肌萎缩、无力 (表 1), 其中例 1、例 2、例 3 以及例 4、例 5 分属同一家系。为识别每例患者 GAA 基因突变来源, 7 例患者之父母也被纳入本研究。所有患者之父母均非近亲婚配。

二、GAA 基因突变分析

1. 外周血 DNA 制备 本研究所用 DNA 检测试剂盒购自德国 QIA-GEN 公司, 实验步骤严格按照试剂盒说明书操作。

2. 引物设计 自行设计 GAA 基因分析引物, 扩

表 1 7 例患者的临床资料和基因型

Table 1. Clinical data and genotype of 7 patients

Case	Sex	Age (year)	Onset age (year)	Age at first medical consultation (year)	Age at definite diagnosis (year)	First symptom	Case description	GAA activity [nmol/(mg·h)]	Allele 1	Allele 2
1	Male	24	17	20	22	Difficulty in walking and climbing stairs	Non-ambulant and ventilator dependent for more than 2 years	0	Q81X*#	W746C#
2	Female	31	16	29	29	Difficulty in walking and climbing stairs	Dyspnea at night, weakness after meals and scoliosis	0.20	Q81X*#	W746C#
3	Female	29	17	25	27	Difficulty in climbing stairs; palpitation and polypnea induced by physical activities	Progressive difficulty in climbing stairs and standing from squatting; non-invasive ventilator dependent at night; weakness after meals and scoliosis	0	Q81X*#	W746C#
4	Male	14	6	18	18	Getting tired easily	Progressive difficulty in standing from squatting and speaking, scoliosis, dyspnea and assisted ventilator dependent	0	IVS2-4C/G, H199R, R223H, IVS4 + 7insCAGCGGG, G576S ^Δ , E689K ^Δ , V780I, W746C#	IVS2-4C/G, H199R, R223H, IVS4 + 7insCAGCGGG, G576S ^Δ , D645E#, E689K ^Δ , V780I
5	Female	13	12	12	12	Abnormal posture when walking	Abnormal posture when walking	0	IVS4 + 7insCAGCGGG, G576S ^Δ , D645E, E689K ^Δ	IVS4 + insCAGCGGG, G576S ^Δ , D645E#, E689K ^Δ
6	Female	24	6	18.50	22.50	Difficulty in running fast	Difficulty in standing from squatting and climbing stairs at 13 years of age; mechanical ventilator dependent since 2009; Myozyme infusion at 20 mg/kg for 6 times between November 2012 and March 2013; extended ventilator-free period and increased muscle strength observed after Myozyme treatment	0	c.324T/C, IVS2-4C>G, H199R, R223H, IVS4 + 7insCAGCGGG, c.1203G/A, c.1355_1356delC*#, G576S ^Δ , E689K ^Δ , c.2133A/G, V780I	c.324T/C, IVS2-4C>G, H199R, R223H, IVS4 + 7insCAGCGGG, c.1203G/A, G576S ^Δ , E689K ^Δ , c.2133A/G, V780I
7	Female	31	14	20	30	Weakness of lower limbs	Difficulty in climbing stairs and standing from squatting, non-invasive ventilator dependent at night	5.27	D645E#	W746C#

*new mutations, #pathogenic mutations, ^Δpseudodeficiency alleles, others are polymorphic loci. GAA, acid α-glucosidase, 酸性α-葡萄糖苷酶

增 GAA 基因外显子 2~20, 以及邻近外显子的部分内含子序列。引物序列由上海 Invitrogen 生命技术公司合成(表 2)。

3. 聚合酶链反应 采用两种反应体系和两种退火温度在 ABI-9700 聚合酶链反应(PCR)仪上进行扩增。外显子 4~9、16、18、20 由于 GC 含量高, 采用 GC-RICH PCR System (美国 Roche 公司) 进行扩增。扩增体系为 20 μl, 含 dH₂O 6.30 μl、GC-rich v3 3.80 μl、GC-rich v2 3.80 μl、10 mmol/L dNTP 0.70 μl、3.20 pmol/L 引物各 2 μl、Enzyme mix v1 0.40 μl 和 DNA 1 μl。扩增条件为: 94 °C 4 min; 94 °C 30 s、56.6 °C 30 s、72 °C 2.50 min, 共计 10 个循环; 94 °C 30 s、56.6 °C 30 s、72 °C 第 1 个循环 2.50 min, 此后每一循环在前一循环基础上增加 5 s, 共 25 个循环; 72 °C 10 min, 于 25 °C 冷却保存。其他外显子均采用 ActiQ DNA 聚合酶(美国 Roche 公司) 进行扩增。扩增体系为 20 μl, 含 dH₂O 10.10 μl、10 × PCR 缓冲液 2 μl、25 mmol/L MgCl₂ 2 μl、10 mmol/L

dNTP 0.70 μl、5~5.60 U/μl ActiQ DNA 聚合酶 0.20 μl、3.20 pmol/L 引物各 2 μl 和 DNA 1 μl。扩增条件为: 94 °C 12 min; 94 °C 1 min、55 °C 1 min、72 °C 1 min, 共 35 个循环; 72 °C 7 min, 于 25 °C 冷却保存。

4. 基因突变分析 采用 ABI3130xl 全自动测序仪(美国应用生物系统公司)对 PCR 扩增产物进行测序, 并将 GAA 基因测序结果与标准参考序列(NG_009822.1 和 NM_000152.3) 进行比对。

结 果

共发现 14 种 GAA 基因突变位点, 除 Q81X 和 c.1355_1356delC 为新突变外, 其余 12 种均为既往报道过的突变, 包括 8 种多态性位点(c.1203G>A、c.2133A/G、c.324T>C、H199R、IVS2-4C/G、R223H、V780I、IVS4 + 7insCAGCGGG); 2 种假缺陷等位基因位点(G576S 和 E689K); 2 种已知的致病突变位点(W746C 和 D645E)。其中, IVS4 + 7insCAGCGGG、

表 2 GAA 基因引物序列

Table 2. GAA primer sequences

Exon primer	Sequence (5'→3')	Size (bp)	SNP	Exon primer	Sequence (5'→3')	Size (bp)	SNP
GAA2F	CGCGGTTGATGTCTCAGAGCTGC	749	rs78686444: G/T	GAA14F	ACTTGGCCTGAGCTGGCTCTGC	277	NA
GAA2R	ACCCACCCCTTGAGGTGC		rs71753033: large deletion	GAA14R	TTCCAGGGGAGAGTCTTGGGT		NA
GAA3F	TGTCCTTGCCGTGCGGTTGTTT	264	rs8069491: C/G; rs71753033: large deletion	GAA15F	TGAGAACTGCAGCTCTCCCG	312	NA
GAA3R	GGTCGCCCTCCCATCATGCTG	490	rs2304848: A/G	GAA15R	GACAGGGTGCCTGGGAGTTACG	332	NA
GAA4-5F	GGTGCTCTCTGGGTGCTCTCAGG		NA	GAA16F	ATTCAGCCTCTTCTGTGCCCC		NA
GAA4-5R	CATCGGACCTCCAATCTCCAGG		NA	GAA16R	TTCCGCCCTGGTCAACCAAC		NA
GAA6F	CGCCTGTGATTGGCCATCTGTGG	280	NA	GAA17F	GGGAGATGGAGAGCGTGGTTCC	313	NA
GAA6R	CAGCCAACGCCGACTTCATGAG		NA	GAA17R	CTCCCCACCATCTCCCTGTGC		NA
GAA7-8F	TTGTGGGTAGGGCTGCTCCCTG	518	NA	GAA18F	TGCTGTACCAGCCTAGCATTCCC	357	NA
GAA7-8R	CCACACAGGCACGAGGATGACCG		NA	GAA18R	ACTGGCAGGTAGCCATCGTG		NA
GAA9F	GCTGTACACACGCATGATGTC	318	NA	GAA19F	CCAGCTGTCTGCTGACACCT	289	NA
GAA9R	TCAAATCCCACCGTCTTCTT		NA	GAA19R	CAGGACGCCAGCACCTTCTGC		NA
GAA10-11F	CTCACTGGGGCTTCCATGCAG	443	NA	GAA20F	TCTGACTCGCTGGGTCTCACTGC	289	NA
GAA10-11R	GTGCTAAGTCTCCAGGCCAGA		NA	GAA20R	TGGATACATCTCCCTGCCCTG		NA
GAA12F	AGGGAGGGCACCTTGGAGCCTG	250	NA	GAA20SR	GAGGTGGAAACAAGCGATGCG	NA	NA
GAA12R	GCAGAGGCCCAACCTTGTAGG		NA				
GAA13F	TGCCCTGCTGCTGACAGGTTCC	273	NA				
GAA13R	CCGGCAAGCCTCCCATAGAGGCC		NA				

SNP, single nucleotide polymorphism, 单核苷酸多态性; NA, not applicable, 无多态性位点

G576S、E689 分布频率达 42.86% (6/14), W746C 为 35.71% (5/14), H199R、IVS2-4C/G、R223H、V780I 为 28.57% (4/14, 表 1)。

讨 论

糖原贮积病 II 型是一种以骨骼肌萎缩、无力为主要临床特征的疾病, 患者多预后不良。其致病基因和酶学基础均已明确, 在我国台湾地区, 以及日本、澳大利亚和美国均已将糖原贮积病 II 型列为新生儿筛查项目, 一旦明确诊断, 即可在疾病早期获得有针对性的酶替代治疗 (ERT), 治疗后大部分患儿预后改善^[9-12]。目前, 糖原贮积病 II 型尚不是我国大陆地区新生儿筛查的病种。此外, 该病为临床罕见的代谢性肌病, 许多临床医师对其认识不足, 我国大部分地区的医疗中心尚不能及时明确诊断该病。本组患者从出现首发症状至首次就诊时间为 0~13 年, 首次就诊至明确诊断时间为 0~10 年, 其中例 1、例 2 和例 6 在依赖呼吸机辅助通气后很长一段时间方得以明确诊断。此前, 他们曾在各级医疗中心就诊, 接诊医师中有中医, 也有西医, 既有普通医师, 亦有专家教授。由于未能及时明确诊断,

使患者错过了早期进行有针对性治疗和护理的时机, 也为优生优育工作的开展留下了隐患。

Myozyme 是目前唯一针对糖原贮积病 II 型的特异性治疗药物, 2006 年经欧洲和美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准应用于临床, 早期用药可获得较好疗效, 显著改善或稳定运动功能和肺功能^[10, 13]。本研究例 6 曾接受 Myozyme 治疗, 给药剂量为 20 mg/kg (1 次/2~4 周), 连续治疗 6 次。由于患者治疗前已依赖呼吸机辅助通气 3 年余, 尽管治疗后肌力增加和脱机时间延长, 但停药后 4 个月症状进行性恶化, 疗效不及早期和长期治疗者。因此, 加强对糖原贮积病 II 型的科普宣传、提高医务人员对该病的认识和理解, 对改善患者预后, 乃至终止其在家系中的遗传链, 均具有重大现实意义。

自 GAA 基因被克隆以来, 根据 Pompe 病中心 (www.pompecenter.nl) 统计, 迄今已有 468 种 GAA 基因突变 (数据更新至 2013 年 8 月 7 日)。Kroos 等^[14]于细胞水平对该数据库的大部分突变位点进行功能验证, 根据酸性 α-葡萄糖苷酶合成过程中不同阶段产生亚型体的质和量, 将 GAA 基因突变严重程度分为 A、B、C、D、E、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。本研究发现的突变位点多多为多态性位点,两种已知的致病突变位点 W746C 和 D645E 分别为 D 和 B 级。GAA 基因突变具有种族和地域差异性。美国黑人以 c.2560C>T (R854X) 常见^[15];包括我国台湾地区和日本在内的亚洲人群则以 G576S 和 E689K 分布频率较高,均为假缺陷等位基因,对酸性 α -葡糖苷酶活性和临床病程的修饰作用较大,与酸性 α -葡糖苷酶活性下降有关^[7]。当 G576S 与其他突变并存时,酸性 α -葡糖苷酶活性下降得更明显^[16],因此,G576S 和 E689K 的存在往往干扰疾病诊断和预后判断。本研究例 4、例 5 和例 6 均携带这两种假缺陷等位基因,且为纯合突变,可以解释这些患者酸性 α -葡糖苷酶活性为零而临床表型却为晚发型的现象;例 1、例 2 和例 3 均携带相同的复合杂合突变(W746C/Q81X),业已明确 W746C 突变可以使酸性 α -葡糖苷酶活性残留 5%~30%,但该家系中 3 例患者酸性 α -葡糖苷酶活性均极低[0 或 0.20 nmol/(mg·h)],可能与另一等位基因上的无义突变 Q81X 介导 mRNA 或异常多肽链降解有关^[17];例 7 携带的 D645E/W746C 突变均可使酸性 α -葡糖苷酶活性下降,但尚能检测到残留酶活性,因此其临床表型为晚发型。糖原贮积病 II 型患者的 GAA 基因型以复合杂合突变多见。本研究例 1、例 2、例 3、例 4 和例 7 均为复合杂合突变,尽管例 5 和例 6 已明确诊断,但目前仅发现其中一个等位基因携带致病突变,尚待扩大基因测序范围或寻找影响临床表型的其他修饰因素。糖原贮积病 II 型的临床表型具有明显异质性,这种现象不仅见于无亲缘关系的个体间,亦可发生在具有相同遗传背景的同一家系个体中^[6]。本研究例 1、例 2 和例 3 属同一家系,3 例患者基因型相同,均于近似年龄阶段以下肢无力首发,但病程进展和严重程度却有较大差异:例 1 病情进展十分迅速,病情危重,自 22 岁起即需 24 小时持续呼吸机辅助通气;例 3 次之,27 岁时曾因呼吸衰竭需 24 小时持续呼吸机辅助通气,经对症支持治疗 1 个月后改为夜间无创性呼吸机辅助通气,至今白天能坚持工作;例 2 目前仍坚持工作,虽伴夜间呼吸困难,但能依靠自主呼吸维持通气需要。表明除 GAA 基因外,环境因素或其他修饰因素也可能是影响糖原贮积病 II 型临床表型异质性的因素。

综上所述,糖原贮积病 II 型为临床罕见的代谢性肌病,在我国大陆地区明确诊断该病存在明显的

时间延误,提高医务人员对该病的认识和理解将有助于改善患者预后。由于假缺陷等位基因的修饰作用,或者无义突变介导的 mRNA 或异常蛋白质降解,使酸性 α -葡糖苷酶活性为零的患者也可能呈晚发型临床表型。因此,临床医师在明确诊断糖原贮积病 II 型和判断预后时,应结合临床病史、酸性 α -葡糖苷酶活性检测和 GAA 基因突变分析结果综合考虑。糖原贮积病 II 型临床表型具有异质性,在 GAA 基因型相同的情况下,即使是同一家系的不同个体间亦可存在病程进展和严重程度的差异性,除 GAA 基因外,环境因素或其他修饰因素也可能发挥作用,基因型与临床表型的相关性尚待进一步探讨。

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] van der Ploeg AT, Reuser AJ. Pompe's disease. Lancet, 2008, 372:1342-1353.
- [3] 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.
- [4] Palmer RE, Amartino HM, Niizawa G, Blanco M, Pomponio RJ, Chamoles NA. Pompe disease (glycogen storage disease type II) in Argentines: clinical manifestations and identification of 9 novel mutations. Neuromuscul Disord, 2007, 17:16-22.
- [5] 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.
- [6] Wens SC, van Gelder CM, Kruishaar ME, de Vries JM, van der Beek NA, Reuser AJ, van Doorn PA, van der Ploeg AT, Brusse E. Phenotypical variation within 22 families with Pompe disease. Orphanet J Rare Dis, 2013, 8:182.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Yang CF, Liu HC, Hsu TR, Tsai FC, Chiang SF, Chiang CC, Ho HC, Lai CJ, Yang TF, Chuang SY, Lin CY, Niu DM. A large-scale nationwide newborn screening program for Pompe disease in Taiwan: towards effective diagnosis and treatment. Am J Med Genet A, 2014, 164A:54-61.
- [10] Chien YH, Hwu WL, Lee NC. Pompe disease: early diagnosis

- and early treatment make a difference. *Pediatr Neonatol*, 2013, 54:219-227.
- [11] Wittmann J, Karg E, Turi S, Legnini E, Wittmann G, Giese AK, Lukas J, Gölntz U, Klingenhäger M, Bodamer O, Mühl A, Rolfs A. Newborn screening for lysosomal storage disorders in hungary. *JIMD Rep*, 2012, 6:117-125.
- [12] Burton BK. Newborn screening for Pompe disease: an update, 2011. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2012, 160C:8-12.
- [13] Toscano A, Schoser B. Enzyme replacement therapy in late-onset Pompe disease: a systematic literature review. *J Neurol*, 2013, 260:951-959.
- [14] 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.
- [15] Becker JA, Vlach J, Raben N, Nagaraju K, Adams EM, Hermans MM, Reuser AJ, Brooks SS, Tift 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.
- [16] Boerkoel CF, Exelbert R, Nicastrì 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.
- [17] Zeng MH, Qiu WJ, Gu XF, Wang Y, Zhou JD, Ye J, Han LS, Zhang HW, Gao XL. A novel nonsense mutation p.W738X of GAA gene identified in a Chinese patient with infantile glycogen storage disease type II. *Lin Chuang Er Ke Za Zhi*, 2011, 29:401-406. [曾敏慧, 邱文娟, 顾学范, 王瑜, 周建德, 叶军, 韩连书, 张惠文, 高晓岚. 1例糖原累积病患儿酸性- α -葡萄糖苷酶基因的新无义突变 p.W738X. *临床儿科杂志*, 2011, 29:401-406.]

(收稿日期:2014-04-17)

中华医学会神经病学分会第七届全国中青年神经病学学术大会暨第十届全国神经系统感染性疾病与脑脊液细胞学学术大会征文通知

由中华医学会、中华医学会神经病学分会主办,第四军医大学西京医院协办的中华医学会神经病学分会第七届全国中青年神经病学学术大会暨第十届全国神经系统感染性疾病与脑脊液细胞学学术大会拟定于2014年8月15-17日在陕西省西安市召开。届时将邀请国内外知名专家进行专题报告,介绍近年来神经病学基础与临床研究领域的最新进展,并就神经系统感染性疾病及脑脊液细胞学等热点问题进行讨论。与会者将授予国家级继续医学教育 I 类学分。

1. 征文内容 神经系统疾病基础与临床研究,包括脑血管病、癫痫与脑电图、神经变性病、肌肉病和周围神经病、神经危重症、神经系统感染性疾病和免疫性疾病、遗传代谢性疾病、神经康复,以及相关神经系统疾病的诊断与治疗新进展。

2. 征文要求 尚未在国内外学术会议和公开刊物上发表的论著摘要 1 份,字数不少于 500 字,要求内容科学性强、重点突出、数据可靠、结论恰当、文字通顺精炼。请按照目的、材料与方法、结果、结论四部分格式书写,并于文题下注明作者姓名、工作单位、邮政编码、联系方式 and Email 地址。

3. 投稿方式 会议仅接受网络投稿,请登录大会网站 www.cmancn.org.cn 在线注册提交。

4. 联系方式 北京市东四西大街 42 号中华医学会学术会务部。邮政编码:100710。联系人:张悦,高毓敏(网络投稿咨询)。联系电话:(010)85158559,89292552-104。传真:(010)65123754。Email:zhangyue@cma.org.cn, cmancn@126.com。详情请登录大会网站 www.cmancn.org.cn。

中华医学会第十三次神经外科学学术会议征文通知

由中华医学会神经外科学分会主办的“中华医学会第十三次神经外科学学术会议”拟定于2014年11月6-8日在福建省厦门市国际会议展览中心举行,届时将邀请国内外著名专家学者进行大会报告,并开设多个专题会场。欢迎广大同仁积极参会,踊跃投稿。

1. 征文内容 中枢神经系统肿瘤、脑血管病、神经创伤、功能神经外科、脊柱脊髓疾病、神经介入、神经内镜、小儿神经外科、神经电生理学监测、护理、转化医学相关基础与临床研究。

2. 征文要求 尚未在国内公开发表、800 字的论文摘要 1 份,请按照目的、方法、结果、结论格式书写,并于文题下注明作者姓名、工作单位、邮政编码、联系方式 and Email 地址。优秀论文将在闭幕仪式上颁奖。

3. 投稿方式 大会仅接受网络投稿,请登录会议网站(www.cnsmeeting.com)在线注册后投稿,已注册过(参加过 2013 年年会)的代表,可直接以原用户名和密码登录后投稿。

4. 截稿日期 2014 年 7 月 31 日。

5. 联系方式 北京市东四西大街 42 号中华医学会学术会务部。联系人:陈晨。邮政编码:100710。联系电话:(010)85158148,13693016750。Email 地址:cnsmeeting@126.com。详情请登录大会网站 www.cnsmeeting.com。