

· 会议纪要 ·

第一届中国假肥大型肌营养不良症转化医学研讨会会议纪要

杨娟¹, 利婧¹, 冯善伟^{1,2}, 操基清¹, 李亚勤¹, 张成¹

1. 中山大学附属第一医院神经科, 广东省广州市 510080

2. 广州市人口和计划生育科学研究所, 广东省广州市 510630

由广东省中西医结合学会、欧洲神经肌肉病治疗协会 (TREAT-NMD)、中山大学和天津医科大学主办的“第一届中国假肥大型肌营养不良症转化医学研讨会”于 2011 年 4 月 7 日至 2011 年 4 月 9 日在广东省广州市召开, 英国纽卡斯尔大学的 Volker Straub 教授和广东省中西医结合学会神经科专业委员会主任委员、中山大学附属第一医院张成教授担任大会主席。来自美国、英国、加拿大、荷兰、澳大利亚、瑞典、瑞士和中国的 Duchenne 型肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 专家、65 个中国 DMD 家庭和 2 个美国 DMD 家庭共 200 多人参加了本次会议。到会专家及代表对 DMD 的基础研究、临床研究、康复训练和国际 DMD 登记系统等方面的进展及存在的问题进行了热烈的讨论, 达到了会议“进行学术交流和传达正确信息”的目的。为了更好地与国外专家进行有效的学术交流, 会议安排了同声翻译。这是我国第一次大型的 DMD 专病会议, DMD 患者和家长的积极参与和互动为本次会议的讨论注入了生机和活力。与会者受益匪浅, 会议达到了预期的效果。现将整个会议内容简介如下:

1 DMD 的发病机制

美国科学院院士、爱荷华大学的 Kevin 教授报告: DMD 基因的克隆和骨骼肌抗肌萎缩蛋白糖蛋白复合物 (dystrophin-glycoprotein complex, DGC) 的发现是 DMD 研究史上的两个里程碑。DMD 基因缺陷使肌肉不能表达抗肌萎缩蛋白, 引起肌纤维膜上 DGC 的相互作用障碍, 使细胞骨架和细胞外基质之间的连接断裂, 导致细胞变性、坏死和纤维

化, 最终导致肌萎缩无力。

中山大学附属第一医院张成教授提出 DNA 重复顺序同源重组是 DMD 基因外显子缺失的机制之一, 外显子缺失热区疏水肽段缺失可导致抗肌萎缩蛋白功能的改变。

山东大学齐鲁医院焉传祝教授提出肌肉收缩是 DMD 模型鼠 (mdx 鼠) 肌纤维坏死的始动因素。

上海交通大学医学院附属新华医院李西华教授通过分析 DMD 患者肌细胞膜上的 DGC 后指出: DGC 的表达缺陷可能在出生前就已经开始。为了防止患儿骨骼肌的进一步损伤, 建议患儿不要做离心运动和抗高阻力运动。

2 DMD 的临床研究

中山大学附属第一医院张成教授等对 388 例 DMD 患儿的分析表明: ① DMD 患儿的运动发育落后于正常小儿, 约 61% 的 DMD 患儿平均习步年龄为 1.5 岁。② DMD 患者的 CK 值在不同年龄差别很大, 通常在 2~5 岁逐渐升高, 6~7 岁达高峰, 约为 14054 U/L, 之后逐年下降, 15 岁时仍明显高于正常人, 平均值约为 3115 U/L, 不同的基因突变患者间 CK 值无明显差别。③ 在 DMD 患者中, 心电图异常不仅出现率高, 而且出现早, 心电图异常表现为窦性心动过速、左室高电压、右束支不完全传导阻滞、左束支传导阻滞及异常 Q 波。④ 在 388 例患者中共检出缺失突变 230 例, 占 59.28%; 主缺失热区位于外显子 45~54, 次缺失热区位于 5' 端的外显子 3~19; 单个外显子缺失主要分布在外显子 51 和 45; 缺失片段以外显子 45~50 最多, 其次是外显子 49~50。388 例患者中共检出重复突

基金项目: 国家自然科学基金 (30870851); “十一五” 国家支撑计划 (2006BAI05A07); NSFC-广东联合基金 (U1032004)

收稿日期: 2011-06-12; 修回日期: 2011-09-13

作者简介: 杨娟 (1983-), 博士研究生, 主要从事神经肌肉病及遗传变性病的研究。

通讯作者: 张成, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事神经肌肉病及遗传变性病的研究, E-mail: chengzhang100@hotmail.com。

变 43 例,占突变总数的 11.08%。重复突变主要位于外显子 2~43。外显子 2 和外显子 3~7 为最常见的重复片段。另外发现有 2 例患者为两段非连续重复突变。⑤DMD 患者的肌肉 MRI 具有一定的规律性。刚出现上楼困难的患者仅为单纯的臀肌受累,随年龄增长及病情加重,肌肉受累范围扩大,受累程度加重。患者于 6~7 岁后出现典型的肌肉受累的改变,臀大肌、大收肌、股四头肌、股直肌和股二头肌依次受累,而半膜肌、半腱肌、缝匠肌、股薄肌和闭孔肌选择性受累,受累程度依次降低。萎缩常见于病变严重的肌肉,假肥大常发生于受累较轻的部位。⑥在 DMD 基因缺失突变的病例中检出携带者的比例为 48.2%,而在重复突变中携带者比例高达 80.49%。⑦在国内首次报告成功完成了 DMD 的种植前诊断。

北京大学第一医院袁云教授等对 DMD、Becker 型肌营养不良症(Becker muscular dystrophy, BMD)和 X 连锁的心肌病(X-linked cardiomyopathy, X-C)的临床、基因和病理进行了研究,结果表明:DMD 患者的运动发育延迟,BMD 和 X-C 患者的运动发育较少受影响。他们认为目前抗肌萎缩蛋白病的诊断主要依靠多重连接依赖式探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification assay, MLPA)方法分析 DMD 基因是否为缺失/重复突变,不能明确小片段的突变,且难以区分各种抗肌萎缩蛋白病的亚型,即使常规的组织病理改变也难鉴别 DMD、BMD 和 X-C。免疫组化染色可鉴别不同类型之间的差异,可协助确定抗肌萎缩蛋白病的各个亚型。因此,为了疾病分型的需要,应当对基因检查确诊的抗肌萎缩蛋白病患者进行肌肉活检。

3 DMD 的治疗进展

3.1 激素的治疗

有研究表明:服用激素可以增加 DMD 患者的肌力,延缓患者肌无力和脊柱侧凸的发生,有利于维持心肺功能。多伦多大学 Doug Biggar 教授建议患者尚保持行走能力时即开始用药,尽可能保证每天用药 1 次,但在决定是否服药时需要权衡激素的利弊。目前用于治疗 DMD 的激素有强的松、泼尼松龙和地夫可特。强的松和地夫可特的推荐剂量分别为每日 0.75 mg/kg 和每日 0.9 mg/kg,晨服。当患者的体重达 40 kg 左右时,强的松的剂量改为 30~40 mg/d,地夫可特的剂量改为 36~39 mg/d。当患者丧失行走能力后,如果患者的体重 ≥ 40 kg,

推荐按每日 0.3~0.6 mg/kg 的剂量长期使用强的松和地夫可特。服用激素应注意以下事项:如果患者服药前就存在 Cushing 综合征、多毛症和生长迟滞等,则服用激素的风险增加,此时使用激素应慎重;服用激素前,应完成国内推荐的免疫接种和水痘疫苗的接种;激素会影响 DMD 患者运动功能的发育,不主张 4~6 岁以内的患者使用激素,尤其是年龄小于 2 岁的患者;4~8 岁后,如果患者无服用激素的危险因素,临床医生应该建议患者开始服用激素;推荐运动功能下降期和运动功能衰退期的患者也服用激素;长期服用激素需要征求家人的同意。

3.2 外显子跳跃治疗

外显子跳跃策略是指将疾病状态从重症转为轻症的选择性剪接治疗方法,如 DMD 经外显子跳跃治疗后转为临床表型较轻的 BMD。莱顿大学医学中心 Annemieke Aartsma-Rus 教授、牛津大学 Matthew JA Wood 教授和天津医科大学尹海芳教授、美国 Babli 教授对外显子跳跃治疗 DMD 的基础和临床研究表明:经尾静脉单次给予 mdx 鼠富含氨精氨酸的肽共轭 PMO(P007-PMO),3 周后免疫荧光结果显示所有骨骼肌均有抗肌萎缩蛋白表达,均匀地分布在 mdx 鼠的四肢肌、腹肌及膈肌。RT-PCR 的结果显示:在所有受分析的骨骼肌中,DMD 基因外显子 23 的跳跃效率几乎达 100%,在心肌约为 50%。Western blot 的结果显示:抗肌萎缩蛋白在全身骨骼肌的表达量达正常水平的 25%~100%,在心肌为 10%~20%。在 25 mg/kg 的剂量下,P007-PMO 对 mdx 鼠无明显的肝毒性和肾毒性。Annemieke Aartsma-Rus 教授还综述了外显子跳跃治疗 DMD 的研究进展,并讨论了用于治疗 DMD 的其它策略,以及这些疗法用于临床所面临的挑战。

3.3 干细胞移植治疗

中山大学附属第一医院张成教授与参会者分享了他们研究小组在干细胞移植取得的成就和经验,移植后的植入鉴定显示患儿 DMD 基因检测正常,随植入时间延长,抗肌萎缩蛋白表达逐渐增多,移植后患者的运动功能改善,目前患者 19 岁,心肺功能良好,搀扶下可移步行走。广东省中西医结合学会秘书长金世明教授提出了 DMD 患儿的中医药治疗及注意事项。

3.4 康复训练方法及注意事项

通过一些物理的手段来保护和维持肢体的功能是物理疗法的主要目的。英国纽卡斯尔大学人

类遗传研究所 Michelle Eagle 教授讲述了牵伸、水疗、体育运动、坐姿和呼吸功能管理等对 DMD 患者的重要性。坚持每天做主动/被动牵伸活动(包括夜间使用夹板)有利于延缓患者的关节挛缩,长期维持患者的肢体功能,减少脊柱侧凸的发生。Michelle Eagle 教授强调:良好的运动应该是患者自愿参与和能耐受的活動。活動中感觉到累即停止运动,此时的运动量较为合适。关于康复训练,需要注意以下事项:明确实施物理治疗的目的和项目;保证实施的项目有趣,且能充分调动患者的积极性;运动量的大小必须合乎个人需求;前瞻性地进行治疗,有意延缓或阻止已知或未知并发症的发生。

4 DMD 的护理

实践证明,良好的护理对策和家庭对护理对策的依从性可延缓患者的病情,改善患者的生活质量,英国纽卡斯尔大学 Michelle Eagle 教授介绍了心脏护理、呼吸护理和心理支持方面的经验。

4.1 心脏的护理

临床上有 25% 的 DMD 患者合并心脏损害的表现,但在疾病早期患者通常没有主观症状,因此,及早、定期监察患者的心功能是心脏护理的重点。建议:确诊后即时或 6 岁前须做心电图和超声心动图等基本心脏检查;10 岁前,患者应最少每两年做 1 次心脏评估;10 岁后,或发现有心功能受损的表现时,应至少每年进行 1 次心功能评估,甚至及时使用药物干预。疾病过程中,为了预防心功能衰竭,患者可早期应用 ACEI 类药物。

4.2 呼吸的护理

疾病早期,患者的呼吸功能通常不受影响,随病情进展,患者逐渐出现呼吸费力、咳嗽困难等症状,此时患者容易患肺炎,建议:当孩子保持行走能力时,每年应至少进行 1 次肺功能评估;当孩子丧失行走能力后,每半年应至少进行 1 次肺功能评估。两岁或以上患者可注射防疫针预防肺炎。如孩子患上肺炎,除了辅助咳嗽,还应考虑服用抗生素。治疗的形式要合乎疾病的阶段。当 DMD 病情恶化,出现咳嗽困难时,辅助咳嗽会有帮助。随着肺功能减弱,建议患者夜间使用呼吸辅助器,甚至日间也需要呼吸辅助器。如突然发现患者精神状态改变,则需立即就诊。

4.3 心理的支持

DMD 患者经常因心理困扰而影响社交及学习。

在处理患者的心理障碍时,预防胜于治疗。建议:早期预防;以开放和接纳的态度,视患者的年纪和成熟程度,有技巧地解答患者的心理问题;必要时向心理医师求助。

当患者被确诊为 DMD 时,多数患者家庭并不能接受这一现实,伴随着孩子的成长,患者逐渐出现语言发育迟缓、学习能力差和步态异常等问题,家庭的心理压力与日俱增,关注 DMD 家庭的心理健康也应成为社会工作中不可忽视的一方面。

5 DMD 的预防

中山大学附属第一医院张成教授陈述了中国政府对 DMD 遗传咨询和产前诊断的投入情况。为了降低出生缺陷,政府加大了遗传咨询和产前诊断的力度。他指出:中国地域辽阔,多数医生对 DMD 的认识不足,不少患者在求诊过程中走了不少弯路,DMD 患儿在家庭中再次出生的情况也不少见,因此,提高医生对 DMD 的认识,加强科普宣传,重视和配合遗传咨询和产前诊断是当前尚待解决的问题。

6 患方在疾病研究和护理方面的心声

作为两个 DMD 患者的母亲,肌营养不良症家长协会(Parent Project Muscular Dystrophy, PPMD)的创始人和首席执行官 Pat Furlong 亲历了自己的孩子与疾病斗争的整个过程,Pat 与大家分享了她的经验。她强调:获取正确信息、享用专业的护理、参加临床研究和临床试验、制定服务公众的方案对患者及家庭帮助最大。

7 DMD 临床试验

悉尼大学悉尼威斯米儿童医院 Kathryn North 教授分析了 DMD 的自然病史和一些干预措施对 DMD 病程的影响,他认为,一些好的医疗措施可以延长患者的生存期,改善患者的生活质量,疾病的不同阶段应采用不同的检测指标来评估干预措施的效果,除了运动功能的评价指标外,也需要一些反映呼吸功能、心功能和生活质量等非骨骼肌功能的评价指标。

费城儿童医院 Richard Finkel 教授从一般的临床试验课题、人们关注的 DMD 临床试验的焦点和当今 DMD 临床试验的开展情况展开了讨论。神经肌肉病的病因各异,但均以肌无力为临床特征。在实施临床试验过程中,我们应捕捉来自患者、医生和临床试验管理者的一些有意义的临床信息,用可信赖的、安全的和有效的特异性指标来评估干预措

施的效果。在准备临床试验方面,他建议建立由训练有素的临床医生、试验结果评估者和多中心协作参与者参与的网络;与患者团队的主要人员合作;登记有意义的患者信息(基因型、临床信息);搜集患者的自然病史资料;使用统一的护理标准;建立生物信息库;与边缘学科的科学家合作;和制药企业合作。

剑桥大学 Cristina Csimma 教授和瑞士巴塞尔大学 Markus Ruegg 教授也主张临床试验需要全球的患者和研究人员共同协作。当今人们关注的 DMD 临床试验的焦点主要体现在下面几方面:①DMD 的诊断:通常我们将 13 岁丧失行走能力的患者诊断为 DMD,但年幼患者的诊断较为困难,糖皮质激素的使用也为正确诊断 DMD 带来了困难。②当前研究关注的疾病阶段:研究关注行走能力尚保持的孩子还是行走能力已丧失的孩子或二者兼顾;如何真实地获取幼龄患者的信息;DMD 患者出现运动功能下降的时间。③干预措施能否改善或延缓患者的运动功能下降。④何时给予干预措施最为合适。

瑞典 Karolinska 妇女和儿童健康中心 Thomas Sejersen 教授指出:建立国际通用的诊断和护理 DMD 或其它神经肌肉病的指南很重要,这样可以使医疗工作者获取这方面的必要信息,让身处各地的患者得到有根据的治疗和指导意见。如果没有标准化的诊断和护理指南,即使实施了新的治疗 DMD 的临床试验,我们也将难于判断结果的有效性。

8 DMD 的转化医学研究

英国纽卡斯尔大学 Volker Straub 教授认为 DMD

的诊断、治疗、护理、康复、预后等问题经常困扰着患者(家庭),制定 DMD 的诊断标准、理解 DMD 的发病机制、熟悉 DMD 的病史、获悉药物的开发研究中需要解决的问题、进行必要的临床试验研究和建立患者登记资料库等就成为了我们医生义不容辞的责任。世界范围内有超过 3 亿的罕见病患者,其中,神经肌肉病的患者达 224000 人。建立网站,设立患者信息数据库,在网络上交流和分享信息不仅能引导患者进行正确的诊疗和护理,也将为转化医学的研究打下基础。他认为:转化医学研究需要健康护理专家、科学家、产业、资金来源主体、仲调人员和支持工作的患者群体参与,一项治疗措施的转化医学研究可以分三步走:第一步,对疾病进行基因定位和病理生理学的研究,找出该病的生物学标志、建立疾病的动物模型、认识药物的转运机制,然后通过动物实验提出客观的研究证据;第二步,进行临床试验研究,设立纳入研究对象的诊断和护理标准,登记患者的病史,进行靶向的临床试验和评估治疗措施的有效性;第三步,实现转化治疗措施。包括汇总和评估前期工作、征求伦理委员会的同意和进行健康经济学的评估三方面的内容。当前,参与的人员结构之间存在着的动机、学识、经验、语言交流、文化背景、期望值和不信任等问题是转化医学研究中所面临的挑战。

荷兰莱顿大学 Jan Verschuuren 教授从 DMD 的流行病学、病程和 TREAT-NMD 登记体系所取得的成就讲述了成立国际间 DMD 登记系统的必要性。