

婴儿型庞贝病的诊治进展

傅立军 陈茜

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心心血管内科, 上海 200127)

[摘要] 庞贝病亦称为糖原累积病Ⅱ型,是由于先天性酸性 α -葡萄糖苷酶(GAA)缺陷所致的常染色体隐性遗传性疾病,婴儿型庞贝病病儿的GAA酶活性完全或几乎完全丧失,生后数月即出现进行性的心肌肥厚和肌无力,未经治疗的病儿多于1岁内死于心肺功能衰竭;采用重组人GAA(rhGAA)替代治疗可改善婴儿型庞贝病病儿的预后,早期诊断和早期治疗是取得最佳疗效的关键;新生儿筛查有助于该病的早期诊断和早期治疗,从而获得更好的治疗效果。产前诊断对于预防庞贝病的再发生具有重要意义。

[关键词] 糖原贮积病Ⅱ型;婴儿;诊断;产前诊断;基因检测;治疗

[中图分类号] R725.891 **[文献标志码]** A

庞贝病亦称为糖原累积病Ⅱ型(GSDⅡ)或者酸性麦芽糖酶缺乏症,是由于先天性酸性 α -葡萄糖苷酶(GAA)缺陷所导致的常染色体隐性遗传性疾病,发病率约为1/40 000~1/50 000活婴,但存在种族及地区差异。庞贝病的起病早晚及病情严重程度主要取决于残留GAA酶的活性,依据发病年龄可分为婴儿型(IOPD)和迟发型(LOPD),其中IOPD病儿又根据病情进展的速度和心肌受累的程度分为典型性和非典型性IOPD。典型性IOPD病儿的GAA活性完全或几乎完全丧失,生后数月即出现严重的心功能不全、呼吸衰竭等表现,绝大多数病儿于1岁以内死亡^[1-3]。采用重组人GAA(rhGAA)替代治疗(ERT)可取得一定的效果,早期诊断和早期治疗是取得最佳疗效的关键^[4]。本文就近年来国内外IOPD的诊治进展进行阐述,从而为该病的早期诊断、早期治疗以及预防提供基础。

1 临床特点

GAA是溶酶体中糖原降解所必需的酶,该酶缺乏时糖原不能被有效分解而堆积在溶酶体中,从而引起骨骼肌、心肌等多种组织的损伤。糖原在心肌细胞中贮积可导致心肌肥厚和心功能损害,进行性心肌肥厚和心功能不全是IOPD的突出表现之一,早期主要表现为心肌肥厚,晚期可出现心脏扩大和心功能不全;糖原在骨骼肌细胞中贮积可导致骨骼肌细胞结构和功能的损害,进行性肌无力和肌张力减退也是IOPD的突出表现之一;IOPD病儿的全

身肌无力还可引起吞咽功能的减退,从而导致喂养困难和体质量不增;吞咽困难所致的咽部分泌物存积以及呼吸肌无力可导致病儿呼吸困难和反复呼吸道感染,甚至呼吸衰竭。此外,由于糖原贮积对骨骼肌、心肌和肝细胞的损害,可以导致CK、LDH、ALT及AST的升高;在心电图上,短PR间期、高QRS波和广泛的T波倒置是IOPD特征性的表现^[5-6]。

IOPD是一种快速致死性疾病,未经ERT者多于1岁内死亡。在我院确诊的45例典型性IOPD病人中,首发症状年龄中位数为3.4个月,确诊年龄中位数为4.9个月,未接受ERT的44例病儿中已有43例死亡,存活时间中位数仅为8.3个月^[7-8]。

2 遗传学特点

庞贝病是由于GAA基因突变所致的常染色体隐性遗传疾病,GAA基因位于17q25.2~q25.3,全长约28 000 bp,包含20个外显子,其中外显子1不翻译,并与外显子2相距约2 700 bp的内含子。迄今为止共发现400多种致病性突变分布在该基因不同区域,包含错义突变、无义突变、剪切异常、缺失突变和插入突变。GAA基因突变存在明显的种族特异性,研究表明,我国南方地区IOPD病儿最常见突变为c.1935C>A(p.Asp645Glu),北方地区IOPD病儿最常见突变为c.2662G>T(p.Glu888X)^[8]。

3 诊断

3.1 筛查

肥厚型心肌病是绝大多数IOPD的就诊原因,对于婴儿期肥厚型心肌病的病儿,尤其是合并有肌力和肌张力低下、肝酶和肌酶升高、心电图上有短

PR 间期的病儿,应高度重视 IOPD 的筛查。在庞贝病病人中,糖原可以在淋巴细胞中贮积,通过光学显微镜可以观察到淋巴细胞胞浆内特征性的 PAS 染色阳性的异常空泡,该方法简单、易行而且经济,可用于 IOPD 的筛查,适合于在广大基层医院进行推广应用^[9]。

3.2 酶学检测

庞贝病是由于先天性 GAA 缺乏所致,所以检测 GAA 活性是诊断该病最直接和有效的方法。皮肤成纤维细胞和肌肉组织均可用于准确测定 GAA 活性,被认为是庞贝病酶学诊断的金标准,但两者都有一定局限性^[10]。皮肤活检相对安全,但细胞培养需要专门的设备和技术,给临床推广带来一定难度;从皮肤活检、细胞培养到酶活性测定,至少需要 4~6 周,因此明显延迟了诊断。肌肉活检为有创性检查,对 IOPD 病人进行肌肉活检时存在麻醉风险,尤其是严重心功能不全的病儿。以往外周血标本不能用于 GAA 活性检测,因为中性粒细胞中所含有的麦芽糖苷酶(MGA)是 GAA 的同工酶,易对 GAA 活性检测产生干扰。即使采用纯化的淋巴细胞,也不能完全排除中性粒细胞的污染,容易出现假阴性的结果。近年来采用阿卡波糖抑制 MGA 活性后进行外周血 GAA 活性的测定,使其准确性和特异性有了显著提高^[11-12];尤其是采用干血滤纸片法进行 GAA 活性检测,具有相对无创、快速、样本便于运输和保存等优点,近年来在国外得到广泛应用,成为筛查和诊断庞贝病的重要方法^[13]。但在部分健康人群中由于假性缺陷等位基因的存在,尤其是在亚洲人群中发生率较高,可导致 GAA 活性测值偏低,从而出现假阳性结果^[14]。

3.3 基因检测

庞贝病是由于 GAA 基因突变所导致的常染色体隐性遗传性疾病,GAA 基因检测也可用于庞贝病的诊断,但也存在一定局限性。要诊断庞贝病必须找到 2 个致病基因突变位点,常规的外显子测序方法有时不一定能找到 2 个致病基因突变位点。如果发现新的基因突变位点,还要做功能分析,技术难度更大,耗时更长。但基因检测可以排除假性缺陷等位基因所致的 GAA 活性检测值偏低。因此,外周血 GAA 活性的检测和基因检测联合应用,可更及时、有效地确诊庞贝病。基因检测包括 Sanger 测序和高通量测序两种方法,由于高通量测序的时间周期长,对于临床疑似庞贝病病人建议行 Sanger 测序,有利于该病的早期诊断。

4 治疗

采用 rhGAA 进行 ERT 是目前庞贝病的唯一有效的治疗方法^[15-16]。注射用的阿糖苷酶 α 属于 rhGAA 类药物,已在欧盟、美国、加拿大、日本、韩国、澳大利亚及中国台湾地区批准上市。迄今为止,全球已有 1 000 余例庞贝病病人使用该药治疗。

对于 IOPD 病人,注射用阿糖苷酶 α 可延缓病程进展,较好地维持病人最大肺活量,延长 6 min 步行试验(6MWT)距离,有效改善病人生活质量,降低死亡风险,提高整体生存期;还可改善 IOPD 病儿心肌肥厚程度和心脏功能以及病儿的生长和运动发育。ERT 对 IOPD 的疗效,一方面取决于治疗的早晚,另一方面取决于交叉反应免疫物质(CRIM)状态,CRIM 阳性的病人,治疗后机体产生的 IgG 抗体滴度较低,可获得较好的疗效;CRIM 阴性病人,由于机体内完全缺乏 GAA,治疗后可产生高滴度的 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进行免疫耐受诱导,从而改善 ERT 的效果。

我院曾对 2 例典型性 IOPD 病儿进行 ERT,分别从 5 个月和 10 个月开始接受每 2 周 1 次的阿糖苷酶 α 静脉输注,目前分别随访 3 年和 8 个月,2 例病儿的左心室质量指数和左心室后壁厚度显著降低,运动发育亦取得显著提高,并拥有正常水平的认知能力^[8]。

2015 年 10 月,注射用阿糖苷酶 α 被我国国家食品药品监督管理局批准应用于临床。目前中国大陆地区庞贝病 ERT 尚处于起步阶段,仅能覆盖少数病人。昂贵的治疗费用制约了注射用阿糖苷酶 α 在我国的推广应用。

5 新生儿筛查和产前诊断

5.1 新生儿筛查

此方法是对先天性代谢性疾病进行早期诊断的重要方法,目前可采用干血滤纸片法进行 GAA 酶学测定作为庞贝病新生儿初筛的基本手段,但由于假性缺陷等位基因的存在可致 GAA 活性测值偏低,从而出现假阳性结果。因此,对于干血滤纸片法筛查阳性者都需要经基因检测来确诊^[17-18]。

据中国台湾地区 2014 年新生儿庞贝病筛查资料显示,在 402 281 例新生儿中用于干血滤纸片法共检测出 321 例病儿的 GAA 活性低于正常值,后经基因学诊断,7 例确诊为 IOPD,20 例考虑为可疑

LOPD, 294 例证实为假性缺陷等位基因。因此,干血滤纸片法和基因检测联合应用进行新生儿庞贝病的筛查和诊断,有利于早期发现无症状的庞贝病病人^[19]。中国台湾地区已进行新生儿庞贝病筛查 10 余年,通过早期筛查和早期治疗明显改善了庞贝病病人的预后,但在中国大陆地区目前尚未有大规模的新生儿庞贝病筛查。

5.2 产前诊断

鉴于庞贝病极高的病死率和昂贵的治疗费用,产前诊断对于预防庞贝病再发生具有重要意义^[20]。对于已有庞贝病生育史的夫妻,现行实验室产前诊断方法主要有两种:一是在妊娠 15~18 周行羊膜腔穿刺术抽取羊水,分离胎儿细胞行 GAA 基因突变分析及 GAA 活性测定;二是在妊娠 10~20 周行绒毛膜绒毛取样,直接进行 GAA 基因突变分析以及 GAA 活性测定。此外,目前还可采用胚胎植入前遗传学诊断来指导生育。由于假性缺陷等位基因的原因,GAA 基因分析应作为亚洲人群庞贝病产前诊断的常规手段。通过 GAA 基因分析结合 GAA 活性检测能有效地对庞贝病家系进行产前诊断,目前国内已有少数医院开展此项技术。

6 展望

中国大陆地区开展庞贝病诊治工作较晚,由于检测条件和技术的限制以及对该病认识程度不够,迄今为止,中国大陆地区所报道的庞贝病病例有限,且大多数病人确诊时年龄较晚,从而可能有相当数量的病人并未能得到及时的诊断和治疗。此外,目前中国大陆地区仅有少数单位可以开展 GAA 活性检测,所以,积极推广 GAA 酶学检测将有助于提高我国庞贝病诊断水平。

目前采用的荧光法 GAA 酶学检测技术存在其局限,积极寻找一种高灵敏性、高特异性的快速检测技术对进一步提高庞贝病的诊断效率具有重要的意义。目前,国内外学者正在积极探索串联质谱技术(tandem mass spectrometry)用于包括庞贝病在内的多种溶酶体贮积病的筛查,与传统的荧光法酶学检测技术相比,串联质谱具有灵敏度高、准确性好等优点,有望成为庞贝病诊断和新生儿筛查的重要手段^[21]。

注射用阿糖苷酶 α 对于庞贝病治疗具有里程碑的意义,但有些病人长期疗效并不理想^[22]。目前,对于骨骼肌具有更好靶向性的第二代 ERT 药物 NeoGAA 正在进行 III 期临床试验,该药可通过增加

对肌肉细胞上 6-磷酸甘露糖(M6P)受体的亲和力来增强受体靶向性和酶摄取,从而增加糖原清除,改善临床疗效。ERT 庞贝病的安全性和有效性已被大量临床研究证实,但仍存在终生用药、费用昂贵等诸多问题。基因治疗被认为是取代 ERT 的可行方法。国外在动物实验的基础上,采用腺相关病毒介导的 GAA 基因治疗已进行了 I/II 期临床试验,有望为庞贝病治疗带来新希望。

综上,庞贝病是一种危害性极大、但在我国还认识不足的罕见代谢性疾病。我国庞贝病病人是一个亟待社会关注的弱势群体,广泛提高公众对该病的认知度和积极推广 GAA 酶学诊断是当务之急。虽然 ERT 在我国已批准用于庞贝病治疗,但对于大多数病人而言,面临的重大问题还在于“用不起药”,这就需要政府主导、社会参与,切实降低病人经济负担,从而使更多庞贝病病人能得到早期诊断和早期治疗。

【参考文献】

- [1] VAN DER PLOEG A T, REUSER A J. Pompe's disease[J]. Lancet, 2008,372(9646):1432-1453.
- [2] AUSEMS M G, VERBIEST J, HERMANS M P, et al. Frequency of glycogen storage disease type II in the Netherlands: Implications for diagnosis and genetic counseling[J]. Eur J Hum Genet, 1999,7(6):713-716.
- [3] KISHNANI P S, STEINER R D, BALI D, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline[J]. Genet Med, 2006,8(5):267-288.
- [4] CHIEN Y H, CHIANG S C, ZHANG X K, et al. Early detection of Pompe disease by newborn screening is feasible: Results from the Taiwan screening program[J]. Pediatrics, 2008,122(1):e39-e45.
- [5] 傅立军, 陈树宝, 邱文娟, 等. 婴儿型糖原贮积病 II 型的临床特点及其转归[J]. 中华医学杂志, 2013,93(20):1567-1570
- [6] 傅立军, 窦薇, 周爱卿, 等. 糖原累积病 II 型的临床分析和基因学检测[J]. 临床儿科杂志, 2006,24(12):962-965.
- [7] FU L, QIU W, YU Y, et al. Clinical and molecular genetic study of infantile-onset Pompe disease in Chinese patients: Identification of 6 novel mutations[J]. Gene, 2014,535(1):53-59.
- [8] CHEN X, LIU T, HUANG M, et al. Clinical and molecular characterization of infantile-onset Pompe disease in mainland Chinese patients: Identification of two common mutations[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2017,21(6):391-396.
- [9] 陈茜, 傅立军. 糖原贮积症 II 型实验室检测方法的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2016,43(11):880-883.
- [10] POMPE DISEASE DIAGNOSTIC WORKING GROUP, WINCHESTER B, BALI D, et al. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of (下转第 291 页)

[27] CHACE D H, DIPERNA J C, MITCHELL B L, et al. Electrospray tandem mass spectrometry for analysis of acylcarnitines in dried postmortem blood specimens collected at autopsy from infants with unexplained cause of death[J]. Clin Chem, 2001,47(7):1166-1182.

[28] WATKINS H, ASHRAFIAN H, REDWOOD C. Inherited cardiomyopathies[J]. N Engl J Med, 2011,364(17):1643-1656.

[29] SKRZYŃIA C, BERG J S, WILLIS M S, et al. Genetics and heart failure: A concise guide for the clinician[J]. Curr Cardiol Rev, 2015,11(1):10-17.

[30] ACKERMAN M J, PRIORI S G, WILLEMS S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) [J]. Heart Rhythm, 2011,8(8):1308-1339.

[31] 中华医学会心血管病学分会,《中华心血管病杂志》编辑委员会. 遗传性心脏离子通道病与心肌病基因检测中国专家共识[J]. 中华心血管病杂志, 2011,39(12):1073-1082.

[32] 中华医学会儿科学分会心血管学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童心肌病基因检测建议[J]. 中华儿科杂志, 2013,51(8):595-597.

[33] TARIQ M, WARE S M. Importance of genetic evaluation and testing in pediatric cardiomyopathy[J]. World J Cardiol, 2014,6(11):1156-1165.

[34] HO C Y, CHARRON P, RICHARD P, et al. Genetic advances in sarcomeric cardiomyopathies: State of the art[J]. Cardiovasc Res, 2015,105(4):397-408.

[35] KANTOR P F, KLEINMAN J A, RYAN T D, et al. Preventing pediatric cardiomyopathy: A 2015 outlook[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2016,14(3):321-339.

[36] KIMURA A. Molecular genetics and pathogenesis of cardiomyopathy[J]. J Hum Genet, 2016,61(1):41-50.

[37] BIAGINI E, OLIVOTTO I, IASCONI M, et al. Significance of sarcomere gene mutations analysis in the end-stage phase of hypertrophic cardiomyopathy [J]. Am J Cardiol, 2014,114(5):769-776.

[38] PARBHUDAYAL R Y, GARRA A R, GÖTTE M J W, et al. Variable cardiac myosin binding protein-C expression in the myofilaments due to MYBPC3 mutations in hypertrophic cardiomyopathy[J]. J Mol Cell Cardiol, 2018,123:59-63.

[39] 杨世伟,秦玉明. 儿童心肌病遗传学进展和精准诊断展望[J]. 中国实用儿科杂志, 2016,31(8):574-578.

[40] MONSERRAT L, ORTIZ-GENGA M, LESENDE I, et al. Genetics of cardiomyopathies: Novel perspectives with next generation sequencing[J]. Curr Pharm Des, 2015,21(4):418-430.

[41] 刘雯,刘文玲. 心肌病的遗传学研究进展[J]. 心血管病学进展, 2014,35(1):109-114

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 285 页)

Pompe disease: Report from an international consensus meeting[J]. Mol Genet Metab, 2008,93(3):275-281.

[11] CHAMOLEN N A, NIIZAWA G, BLANCO M, et al. Glycogen storage disease type II: Enzymatic screening in dried blood spots on filter paper[J]. Clin Chim Acta, 2004,327(1-2):97-102.

[12] KISHNANI P S, HWU W L, MANDEL H, et al. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease[J]. J Pediatr, 2006,148(5):671-676.

[13] GOLDSTEIN J L, YOUNG S P, CHANGELA M, et al. Screening for Pompe disease using a rapid dried blood spot method: Experience of a clinical diagnostic laboratory[J]. Muscle Nerve, 2009,40(1):32-36.

[14] LABROUSSE P, CHIEN Y H, POMPONIO R J, et al. Genetic heterozygosity and pseudodeficiency in the Pompe disease newborn screening pilot program[J]. Mol Genet Metab, 2010,99(4):379-383.

[15] KISHNANI P S, NICOLINO M, VOIT T, et al. Chinese hamster ovary cell-derived recombinant human acid alpha-glucosidase in infantile-onset Pompe disease[J]. J Pediatr, 2006,149(1):89-97.

[16] SLONIM A E, BULONE L, RITZ S, et al. Identification of two subtypes of infantile acid maltase deficiency[J]. J Pediatr, 2000,137(2):283-285.

[17] TAGLIA A, PICILLO E, D'AMBROSIO P, et al. Genetic counseling in Pompe disease[J]. Acta Myol, 2011,30(3):179-181.

[18] VAN E C, RIGTER T, REUSER A J, et al. Newborn screening for pompe disease? A qualitative study exploring professional views[J]. BMC Pediatr, 2014,14(1):1-10.

[19] YANG C F, LIU H C, HSU T R, et al. A large-scale nationwide newborn screening program for Pompe disease in Taiwan: Towards effective diagnosis and treatment[J]. Am J Med Genet A, 2014,164A(1):54-61.

[20] KARABUL N, BERNDT J, KORNBLUM C, et al. Pregnancy and delivery in women with Pompe disease[J]. Mol Genet Metab, 2014,112(2):148-153.

[21] LIN N, HUANG J, VIOLANTE S, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay of leukocyte acid α -glucosidase for post-newborn screening evaluation of Pompe disease[J]. Clin Chem, 2017,63(4):842-851.

[22] CASE L E, BJARTMAR C, MORGAN C, et al. Safety and efficacy of alternative alglucosidase alfa regimens in Pompe disease[J]. Neuromuscul Disord, 2015,25(4):321-332.

(本文编辑 厉建强)