

这两种药物联合使用,并以雾化吸入的方式给药,临床疗效比单用一种药物效果好,且操作简单,未见明显不良反应,尤其适合婴幼儿,值得临床推广应用。

参考文献:

- [1] 许莉. α -干扰素联合普米克令舒雾化吸入治疗毛细支气管炎疗效分析[J]. 安徽医药, 2010, 14(4): 456-457.
- [2] 齐军龙. 吸入布地奈德、盐酸氨溴索佐治小儿毛细支气管炎[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(7): 1105-1106.
- [3] 许芳. 布地奈德和盐酸氨溴索合用雾化吸入治疗小儿毛细支气管炎的临床疗效观察[J]. 中国现代医生, 2014, 52(6): 66-67.
- [4] 殷爱霞. 氨溴索用于小儿毛细支气管炎疗效研究[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(5): 810-811.
- [5] 张晓芬. 布地奈德、特布他林雾化液联合雾化吸入治疗小儿毛细支气管炎疗效研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(29):

4609-4610.

- [6] 屈晓婷. 孟鲁司特辅助治疗小儿毛细支气管炎的临床观察[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(16): 1290-1291.
- [7] 饶正良, 余小汉. 盐酸氨溴索佐治小儿毛细支气管炎临床观察[J]. 中国药师, 2010, 13(10): 1498-1499.
- [8] 黄涛, 王丽君, 任志鹏, 等. 氨溴索与硫酸镁联用方案治疗小儿毛细支气管炎的疗效观察[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(9): 1721-1722.
- [9] 孙文清. 盐酸氨溴索治疗小儿毛细支气管炎的效果观察[J]. 中国当代医药, 2014, 21(26): 89-91.
- [10] 方识进. 布地奈德联合盐酸肾上腺素雾化吸入治疗小儿急性感染性喉炎的疗效观察[J]. 安徽医药, 2014, 18(4): 738-740.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2016-05-14)

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2017. 09. 009

• 论 著 •

糖原累积病Ⅱ型 1 例的临床特点及基因突变分析

甘川, 许红梅 (重庆医科大学附属儿童医院, 重庆 400014)

[摘要] 目的:分析 1 例儿童糖原累积病Ⅱ型的临床特点及基因突变位点。方法:对重庆医科大学附属儿童医院收治的 1 例通过基因测序明确诊断的糖原累积病Ⅱ型患儿的临床资料如临床特点、实验室检查、基因突变进行分析。结果:本例患儿起病隐匿,以乏力、肝功能异常为主要表现,临床表现不十分典型。通过基因测序发现 2 个基因突变位点,包括 c. 2238G>C (p. W746C) 及 c. 2608C>T (p. R870X), 2 个突变位点既往均被证实与糖原累积病Ⅱ型相关。本例患儿未给予酶替代治疗,治疗结局需要继续随访。结论:糖原累积病Ⅱ型是由 GAA 基因突变引起的 GAA 活性降低所致, GAA 基因检测是可行、有效的诊断方法。

[关键词] 糖原累积病Ⅱ型;临床特点;基因突变

[中图分类号] R725. 8

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2017)09-0025-03

Clinical Characteristics and Gene Mutation Analysis of a Child with Glycogen Storage Disease Type II

Gan Chuan, Xu Hongmei (Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

[Abstract] **Objective:** To analysis the clinical features and gene mutation of a child with glycogen storage disease type II. **Methods:** We selected the clinical data such as clinical features, laboratory examination and gene mutation, which were diagnosed glycogen storage disease type II with gene sequencing in the Children's Hospital of Chongqing Medical University. **Results:** This child with atypia clinical manifestation and the clinical features were increasing gradually which were characterized by fatigue and abnormal liver function. Gene detection revealed 2 compound heterozygous mutations in the child, included c. 2238G>C (p. W746C) and c. 2608C>T (p. R870X). The two gene mutations had been proved pathogenic with glycogen storage disease type II. This child with no enzyme replacement therapy and the follow-up of treatment results was necessary. **Conclusion:** Glycogen storage disease type II is caused by deficiency of GAA activity resulting from mutation of GAA gene. The detection of GAA gene sequencing is effective and feasible method for diagnosis of glycogen storage disease type II.

[Keywords] glycogen storage disease type II; clinical features; gene mutation

Ⅱ型糖原累积病 (glycogen storage disease, type II, GSD II) 是一种由于酸性 α -葡萄糖苷酶 (acid α -glucosidase, GAA) 基因突变导致的常染色体隐性遗传性

代谢性疾病,也称为 Pompe 病,1932 年由荷兰病理学家提出^[1]。GSD II 发病率低,目前国内尚无相关全国流行病学报道,国外报道该病发病率为 1/40 000^[2],其发病

作者简介:甘川(1987.05~),男,硕士,住院医师,主要从事儿童感染性疾病研究,E-mail: 514349239@qq.com。

通讯作者:许红梅(1965~),女,博士,教授,主任医师,主要从事儿童感染性疾病研究,E-mail: xuhongm0095@sina.com。

主要是因为编码该酶的 GAA 基因突变所致^[3],文献报道 GSD II 突变位点可遍布整个基因^[4]。GAA 基因突变造成酶活性下降或缺陷,导致进入溶酶体的糖原无法被分解而持续堆积,溶酶体增生或破坏,导致细胞结构及功能损害^[5],从而导致心肌、骨骼肌及肝脏病变。临床上根据发病年龄主要分为 3 型,婴儿型(<1 岁)、青少年型(1~19 岁)、成人型(≥20 岁)。本文通过对重庆医科大学附属儿童医院收治的 1 例基因测序明确诊断的 GSD II 患儿临床特点及基因突变结果进行分析,以期为该病的临床诊治提供参考。

1 资料和方法

1.1 一般资料

患儿男,3 岁,因“行走乏力、肝功能异常 4 个月”入院,入院前 4 个月患儿家属发现患儿行走乏力、步态摇摆、上楼梯困难于当地医院就诊,发现转氨酶偏高,口服阿拓莫兰治疗 1 个月,半月前院外复查肝功能提示丙氨酸氨基转移酶(ALT)96 U/L,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)103 U/L,碱性磷酸酶(ALP)268 U/L,无明显好转。2016 年 3 月 21 日于我院门诊检测肝功能:ALT 84.4 U/L,AST 83.7 U/L,乳酸脱氢酶(LDH)346.4 U/L;转氨酶持续异常,无明显好转,为进一步诊治入院。追问病史患儿有大运动发育落后病史,1 岁 3 个月开始行走,上楼梯较困难,平素行走后乏力。患儿系 G2P2,孕 40 周,出生体质量 3.4 kg。否认母亲有流产、家族中有早夭、肌病等病史。G1P1,女,10 岁,体健。

2016 年 4 月 3 日行辅助检查,肝功能和心肌酶谱:ALT 82.2 U/L,AST 81.1 U/L,LDH 479.0 U/L,肌红蛋白 117.5 μg/L,肌酸激酶同工酶(CK-MB)10.2 μg/L。腹部彩超示肝脏稍肿大,其内结构未见明显异常,脾脏未见明显异常。粗大运动评价:实际运动年龄相当于 21 月龄,精细运动评价相当于 30 月龄小儿水平,心电图正常。入院后查体:肝肋下 3 cm,剑突下 3 cm,质中,边缘锐,表面光滑,腓肠肌无明显肿大,四肢肌力、肌张力未见异常。

1.2 基因组测序

抽取患儿及其父母外周静脉血外送北京迈基诺基因公司行全基因组测序检测,使用 QIAamp DNA 提取试剂盒(Qiagen,德国)提取外周血淋巴细胞的基因组 DNA,然后使用 Covaris 超声波破碎仪(Covaris S2,美国)将 3 μg 基因组 DNA 分解为 150~300 bp 大小的片段,并进行纯化。采用含 8 bp 的标签 PE 引物通过 7 个循环的 PCRs 扩增产物。将上述含有 3 μg DNA 的纯化 PCR 产物与 Gen Cap TM 探针进行杂交,65℃反应 22 h,然后采用激活的 Dynal Myone 链霉亲和素 C1 磁珠在室温下将上述产物耦合至转子,再将其纯化洗脱。DNA 文库通过 15 个循环的 PCR 进行扩增,纯化,最后将其洗脱在 30 μL 的溶液里,使用 Agilent 2100 生物分析仪和定量 PCR 对富集 DNA 进行定量。根据制造商的使用说明书

及方法,使用 Illumina HiSeq 2500 DNA 测序仪对捕获的 DNA 文库进行测序,每个样品的平均测序覆盖深度均在 100×以上。通过 Illumina 缺省参数进行图像分析,误差评估及基准制定。利用索引引物对原始数据中的各种样本进行识别。使用局部动态规划算法去除所有低质量的数据(包括接头数据,长度超过且平均质量低于 10 的 10% 核苷酸,或质量值低于 5 的 50% 碱基),把剩余短序列用 Burrows-Wheeler Alignment(BWA-0.7.12-r1044)软件定位到人类基因组数据相应的位置上,利用推荐参数使用 GATK 3.4-46 版本软件对 SNP 及缺失进行注释。使用公司数据库以及公共数据库(dbSNP 144, HapMap 数据库,ESP 6500,EXAC,千人基因组数据库,以及本地正常对照数据库)提供的突变信息对突变进行功能注释,确定错义突变,无义突变,剪切位点,插入,缺失,同义突变或非编码序列的突变。序列图谱采用 Chromas 软件进行解读分析,应用 DNAMAN 软件将测序结果与 Genbank 公布的序列进行比对。对患儿测序异常片段重新进行 PCR 扩增和测序,并进行反向测序验证。同时对其父母进行测序。

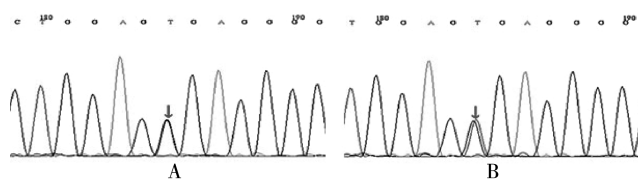
2 结果

2.1 临床资料

患儿有行走乏力,无心血管疾病相关表现,随访肝功能提示患儿近 4 个月转氨酶持续异常,腹部影像学检查提示肝脏稍肿大,脾脏无明显异常。运动功能评价提示运动落后。

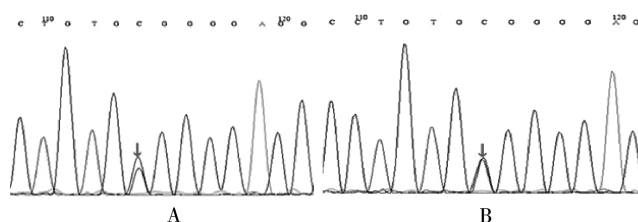
2.2 基因检测结果

本例患儿检测到 2 个基因突变位点,包括 c.2238G>C(p.W746C)及 c.2608C>T(p.R870X)。其中 c.2238G>C 突变来源于其父亲,突变位点位于 16 外显子;c.2608C>T 突变来源于患儿母亲,突变位点位于 18 外显子。见图 1、图 2。



A. 患儿 c.2608C>T 杂合突变;B. 患儿母亲 c.2608C>T 突变

图 1 患儿及其母亲基因测序结果



A. 患儿 c.2238G>C 突变;B. 患儿父亲 c.2238G>C 突变

图 2 患儿及其父亲基因测序结果

3 讨论

糖原累积病(glycogen storage disease, GSD)是一组

糖原分解或合成代谢功能障碍引起的疾病。主要是相关酶缺乏引起。根据酶缺乏的不同,目前主要分为 12 型。GSD II 是由先天性酸性 α -葡萄糖苷酶 (GAA) 缺陷所导致,主要是 GAA 基因突变导致溶酶体糖原累积导致相关组织损伤,如骨骼肌、心脏、肝脏等,该病发病率低。本例患儿开始行走时间较晚,且能开始行走后容易出现乏力、步态不稳及 3 岁左右仍有上楼梯困难等骨骼肌受累表现,且有运动发育迟缓表现,与既往报道大部分病例临床表现类似,但本例患儿并无肌力减退或近端对称性肌无力表现,无心脏增大表现,无呼吸肌受累相关表现,考虑患儿为晚发型 GSD II,目前临床病程可能处于早期,心脏及骨骼肌受累程度不严重,临床表现不突出。研究发现 GSD II 临床症状轻重主要与患者体内的 GAA 残余酶活性有关,GAA 活性在婴儿型患者通常完全缺失或小于正常值的 1%,在晚发型患者体内残余的 GAA 活性较高,但多小于正常值的 30% (2% ~ 30%),而对于酶活性大于正常值的 40% 患者临床上多无相关临床表现^[2]。该患儿属于晚发型,考虑机体残余 GAA 活性可能较高,而暂无心血管疾病等相关表现,但机体具体酶含量未查,可进一步行皮肤成纤维细胞酶活性测定法或肌活体组织检查测定酶活性评估患儿目前疾病程度及判断患儿该病预后情况^[6]。该患儿虽然无心血管疾病相关表现,但患儿心肌损伤标志物检查提示 CK-MB 等出现异常,提示该患儿随着病情的进展可能会出现心脏受累表现。患儿因肝功异常就诊,经阿拓莫兰保肝治疗 4 个月随访发现转氨酶持续异常,提示经阿拓莫兰等保肝治疗临床未见确切疗效。目前临床对于 GSD II 治疗主要包括低糖高蛋白或支链氨基酸饮食、心肺功能支持、康复训练等方式,研究证实以上诊治措施对该病进展均无阻止作用^[7]。国内对于该病尚无有效治疗方案,而国外对于该病进行了大量研究,有研究发现 α -葡萄糖苷酶在晚发型 GSD II 具有临床疗效^[8-9],具有延缓、阻止病情进展,改善运动、呼吸功能等作用,且该药已在外国上市^[10]。但本病例患儿基因确诊后由于经济原因未再入院复诊和行酶替代等进一步治疗,患儿具体病情演变及结局需在今后进一步随访观察。

基因突变的性质及突变不同片段的组合决定了 GAA 的水平,影响患儿病情及病程^[11]。本例患儿通过基因检测手段,通过全外显子基因测序发现 2 个基因突变位点,包括 c. 2238G > C (p. W746C) 及 c. 2608C > T (p. R870X)。其中 c. 2238G > C 突变来源于其父亲,突变位点位于 16 外显子;c. 2238G > C (编码区第 2 238 号核苷酸由鸟嘌呤变异为胞嘧啶) 导致氨基酸改变 p. W746C (第 746 号氨基酸由色氨酸变异为半胱氨酸),为错义突变,在人群中发生频率极低,HGMD 专业版数据库已报道与 GSD II 相关^[12]。c. 2608C > T 突变来源于患儿母亲,突变位点位于 18 外显子;c. 2608C > T (编码区第 2608 号核苷酸由胞嘧啶变异为胸腺嘧啶) 导致氨基酸改变 p. R870X (无义突变),在人群中发生频率极低,HGMD

专业版数据库已报道与 GSD II 相关^[13]。

综上所述,本例患儿以乏力、肝功能异常为首发表现,通过基因组测序发现患儿有来源于其父亲及母亲 GAA 基因突变,进而确诊为 GSD II。该患儿起病隐匿,病程迁延,临床表现不十分典型,临床容易出现误诊或延误诊治等情况,对于早期行全基因检测可能对疾病早期诊断及治疗具有一定帮助。同时对于该病治疗,目前常规治疗方案无明确疗效,国外批准上市的 α -葡萄糖苷酶具有一定的临床疗效,但在我国患病人群中的疗效需要进一步进行相关临床研究。

参考文献:

- [1] VAN GIJN J, GIJSELHART J P. Pompe and his disease [J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2011, 155: A2878.
- [2] VAN DER PLOEG A T, REUSER A J. Pompe's disease [J]. Lancet, 2008, 372(9646): 1342-1353.
- [3] American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine. Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) Pompe disease [J]. Muscle Nerve, 2009, 40(1): 149-160.
- [4] 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.
- [5] 刘祺, 赵娟, 王朝霞, 等. 糖原累积病 II 型七例的临床表现及基因突变分析[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(25): 1981-1985.
- [6] KISHNANI P S, STEINER R D, BALI D, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline [J]. Genet Med, 2006, 8(5): 267-288.
- [7] KATZIN L W, AMATO A A. Pompe disease; a review of the current diagnosis and treatment recommendations in the era of enzyme replacement therapy [J]. J Clin Neuromuscul Dis, 2008, 9(4): 421-431.
- [8] BEMBI B, PISA F E, CONFALONIERI M, et al. Long-term observational, non-randomized study of enzyme replacement therapy in late-onset glycogenosis type II [J]. J Inher Metab Dis, 2010, 33(6): 727-735.
- [9] VAN DER PLOEG A T, CLEMENS P R, CORZO D, et al. A randomized study of alglucosidase alfa in late-onset Pompe's disease [J]. N Engl J Med, 2010, 362(15): 1396-1406.
- [10] LLERENA JUNIOR J C, NASCIMENTO O J, OLIVEIRA A S, et al. Guidelines for the diagnosis, treatment and clinical monitoring of patients with juvenile and adult Pompe disease [J]. Arq Neuropsiquiatr, 2016, 74(2): 166-176.
- [11] 金梅花, 金正勇. Pompe's 病的研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2014(33): 5541-5544.
- [12] WAN L, LEE C C, HSU C M, et al. Identification of eight novel mutations of the acid alpha-glucosidase gene causing the infantile or juvenile form of glycogen storage disease type II [J]. J Neurol, 2008, 255(6): 831-838.
- [13] PALMER R E, AMARTINO H M, NIIZAWA G, et al. Pompe disease (glycogen storage disease type II) in Argentines: clinical manifestations and identification of 9 novel mutations [J]. Neuromuscul Disord, 2007, 17(1): 16-22.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2017-06-19 修回日期:2017-07-03)