

杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy)

一．杜氏肌营养不良症 (DMD) 及诊断

杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 是以进行性肌肉退化和无力为特征的遗传性疾病。Dystrophin 是帮助肌细胞保持完整的蛋白质。DMD 患者体内由于编码 Dystrophin 蛋白的基因发生突变，导致 Dystrophin 蛋白缺失而致病。肌无力症状多发生在儿童早期，通常在 3 至 5 岁之间。DMD 具有 X 连锁的隐性遗传模式，突变基因由母亲传递给下一代。这种疾病主要影响男孩，但少数情况下会影响女孩。

DMD 的诊断方法主要有以下三种：

1) CK (creatine kinase) 含量

在诊断过程早期，医生经常会进行一个称为 CK 含量的血液检查。CK 代表肌酸激酶，一种会从受损肌肉中渗出的酶。当在血液样本中发现 CK 水平升高时，通常意味着肌肉组织正在被一些疾病所破坏，如肌营养不良或炎症。一个非常高的 CK 水平表明，肌肉本身（而不是控制它们的神经）是可能致病的原因，但不能确切地诊断具体是哪一种肌肉障碍。

2) 基因检测

基因检测包括分析任何细胞的 DNA（通常使用血细胞）来观察 Dystrophin 蛋白基因是否存在突变。如果有，突变的确切位置在哪里。目前正在研发的用于治疗 DMD 的几种实验药物都需要精确的基因突变信息。因此，基因检测不仅对于诊断，而且对未来的治疗都很重要。

3) 肌肉组织活检

为了获得更多信息，医生会进行肌肉活组织检查，从病人的肌肉组织内切取少量肌肉样本。通过检查这个样本，医生可以详细了解肌肉内实际的病变情况。活组织检查不仅可以用来区分肌营养不良与炎症及其他疾病，还可区分不同形式的肌营养不良。例如在肌肉活组织检查样品中发现的功能性 Dystrophin 蛋白的量，可以用来揭示某种形式的肌营养不良究竟是 DMD（没有 Dystrophin 蛋白存在）还是温和的贝克型肌营养不良症（Dystrophin 蛋白依然存在部分功能）。

二．常见治疗方法

DMD 的出生发病率大约 1/5000。它是肌营养不良病症中最常见的一种类型，平均预期寿命为 26 岁。但是，经过精心照顾与治疗，有些患者的寿命可以达到 30 或 40 岁。

目前 DMD 还没有有效的治疗方法，但相关的研究在持续进行。多种治疗方法旨在控制症状，来最大限度地提高生活质量。扩张型心肌病（心脏变大和变弱）在罹患 DMD 的个体中十分常见，在严重的情况下可能需要心脏移植。同时在夜间可能需要辅助装置来帮助解决呼吸困难问题。

DMD 患者应进行适当的体力活动并参与物理治疗来维持肌肉的力量和功能。长时间卧床休息，身体不活动将使肌肉情况恶化。各种矫形装置（如腕带和轮椅等）可帮助提高行动力，使病人可以具有照顾自己的能力。

通常使用类固醇（皮质类固醇）药物来治疗患有杜氏肌营养不良症的个体，以帮助提高肌肉的力量和功能。以下列出了几种可用于治疗 DMD 的不同类固醇。

1. 泼尼松 (**Prednisone**) 已被证明可以延长 2 至 5 年的行走能力。然而, 泼尼松可能的副作用包括体重增加, 高血压, 行为改变和延迟生长。
2. **Deflazacort** (另一种形式的泼尼松) 被认为具有较少的副作用, 已在欧洲使用。最近被美国食品和药物管理局 (FDA) 批准在美使用。
3. 尚处于研究阶段的药物 **Oxandrolone** 也具有与泼尼松相似的益处, 并且副作用较少。
4. 环孢素 (**Cyclosporine**) 也被用作 DMD 的治疗, 治疗数据显示其可以改善儿童的肌肉功能。但由于它可以导致肌肉无力, 广泛的使用依然存在争议。
5. 还有其他几种可能的治疗方法也尚在在研究中, 包括外显子跳过药物, 辅酶 Q10, 艾地苯醌 (**idebenone**), 谷氨酰胺 (**glutamine**) 和己酮可可碱 (**pentoxifyline**)。

三 . FDA 批准药物

以下列出的药物已被美国 (FDA) 批准为用于治疗 DMD 的孤儿药品 (针对罕见病的药物被称为“孤儿药”)。

1. **Eteplirsen** (药物销售名: Exondys 51), 由 Sarepta Therapeutics, Inc. 制造
2016 年 9 月 19 日, 美国 FDA 批准了 eteplirsen。该药物现在以品牌名称 Exondys 51 上市, 用于治疗某些形式的 DMD。Exondys 51 是一种外显子跳过药物, 专门针对 dystrophin 基因中一段名为外显子 51 的遗传密码。如果患者在这段序列中或附近存在突变, 那么使用外显子跳过药物使得该外显子下游的蛋白翻译序列被修正, 患者体内便有可能产生具备部分正常功能的 Dystrophin 蛋白质。据估计, 13% 的 DMD 男孩可以从该药物中受益。除该药外, 针对外显子 44, 45, 50, 52, 53, 55 的药物中也正在研发中。另一方面, 支持该药物批准的临床试验是在 7-13 岁的男孩中进行。Sarepta Therapeutics 目前正在进行另一些临床试验, 以确定 Exondys 51 在 4 至 21 岁年轻男孩和成年男子中的功效。
2. **Deflazacort** (品牌: Emflaza), 由 Marathon Pharmaceuticals 制造
2017 年 2 月 9 日, FDA 批准 Emflaza 用于治疗 5 岁及以上的 DMD 患者, 具有不同突变的患者均可使用。Emflaza 作为一种皮质类固醇, 用作抗炎症反应以及免疫抑制。研究显示它可以减慢肌肉力量和功能的丧失, 保持心脏和呼吸功能, 并减少 DMD 患者脊柱 (脊柱侧凸) 曲率发生率。同时与其他类固醇相比, Emflaza 带来的副作用更少。

四 . 新兴疗法——干细胞修复及移植

DMD 患者由于缺乏 Dystrophin 蛋白, 肌肉较常人更容易受到损伤。虽然肌肉组织可以不断地进行损伤修复, 但最终由于修复的速度落后于损伤的发生, 使得损伤不断积累。因此, 科学家希望通过将干细胞移植到 DMD 患者肌肉组织中来加速修复。

干细胞通常存在于人体各种组织中, 在修复和维持组织运转中起关键作用。干细胞可以被认为处于未分化状态、发育早期的细胞。它们可以是特定细胞类型 (如肌肉或神经细胞) 的前体, 或者它们仍然保留有多能性 (pluripotency) ——即发展成许多不同细胞类型中的任何一种的能力。在成人和儿童中, 干细胞驻留在肌肉组织中, 保持着休眠状态。当组织受到损失, 干细胞会被激活并分化, 以补充受损组织。研究者们希望可以通过移植来自健康供体的干细胞或修复 DMD 患者体内受损的干细胞来重塑他们的分化功能, 帮助患者形成新的健康肌肉组织。

目前美国第一例被批准接受异体干细胞治疗的 DMD 患者 Ryan Benton 庆祝了他几乎是里程碑的 30 岁的生日。Ryan 在三岁时被诊断患有 DMD, 预期寿命只有 20 几岁。2009 年身体情况开始恶化的 Ryan 前往巴拿马接受脐带组织来源间充质干细胞移植疗法。间充质干细胞 (MSC) 是成纤维细胞样多能干细胞, 可以分化成多种细胞类型, 包括成骨细胞 (骨细胞), 软骨细胞 (软骨细胞), 肌细胞 (肌肉细胞) 和脂肪细胞。活力最高, 最原始的 MSC 可以从脐带组织中获得, 同时来自脐带组织的 MSC 具有免疫抑制作用或免疫原性降低, 使得异体移植更易操作。由于在美国限制成人干细胞治疗的法律, Ryan 前往巴拿马接受他的第一次治疗。幸运的是, 由于治疗结果理想, 五年之后, 美国 FDA 批准该疗法作为研究性新药 (IND) 用于人道主义治疗, 但仅仅可以用于 Ryan 一个人。2016 年, FDA 批准了另一位 6 岁的 DMD 患者在美国境内接受用于人道主义治疗的间充质干细胞移植疗法。

更令人兴奋的研究成果来自新型基因修改技术 CRISPR/Cas9 与干细胞移植技术的结合。这一方法旨在利用 CRISPR/Cas9 技术来纠正引发 DMD 的基因突变, 获得含有正确 dystrophin 基因的诱导多能干细胞 (iPS 细胞)。iPS 细胞是多能干细胞的一种, 可直接从体细胞产生。多能干细胞由于可以无限增殖, 并且分化成为人体内的其他所有细胞类型 (如神经元, 心脏, 胰腺和肝细胞等) 而在再生医学领域具有很大的应用前景。它们代表了一个单一的细胞来源, 可以用来替换在疾病中被损失的细胞。最着名的多能干细胞类型是胚胎干细胞。然而, 由于胚胎干细胞的提取涉及破坏胚胎着床前阶段, 围绕它们的使用已引起很多争议。此外, 由于胚胎干细胞只能从胚胎中获得, 所以迄今为止不可能建立与患者匹配的胚胎干细胞系。而 iPS 细胞由于可以直接从成人组织中获得, 不仅可以绕过对胚胎的需求, 而且可以与患者匹配的方式制造, 这意味着每个人都可以拥有自己的多能干细胞系, 用于没有免疫排斥风险的移植。

来自加州大学洛杉矶分校 DMD 中心, 由 Melissa Spencer 教授领导的研究小组已经证明, 由 DMD 患者皮肤衍生的 iPS 细胞能够分化成肌肉细胞, 并可以被成功地移植到含有 dystrophin 基因突变的小鼠模型中。小鼠受体能够接受新细胞, 并翻译出具有正常功能的 Dystrophin 蛋白。研究人员们现正在制定进一步的策略, 试用 DMD 特异性 CRISPR / Cas9 平台来治疗其他动物, 以完善这一潜在的可以用于治疗人类 DMD 的基因疗法。

Reference:

1. <https://www.mda.org/disease/duchenne-muscular-dystrophy>
2. <https://www.mda.org/disease/duchenne-muscular-dystrophy/diagnosis>
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Duchenne_muscular_dystrophy
4. https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/6291/duchenne-muscular-dystrophy#ref_891
5. <https://strongly.mda.org/eteplirsen-exondys-51-dmd-treatment-top-5-frequently-asked-questions/>
6. <https://strongly.mda.org/fda-approves-emflaza-for-treatment-of-duchenne-muscular-dystrophy/>
7. Ihn Han et al. Umbilical cord tissue-derived mesenchymal stem cells induce apoptosis in PC-3 prostate cancer cells through activation of JNK and downregulation of PI3K/AKT signaling. Stem Cell Research & Therapy, 2014, 5:54.
8. <https://www.rmclinic.com/news/us-fda-green-lights-second-duchenne-muscular-dystrophy-patient-to-receive-human-umbilical-cord-stem-cells-in-us/>
9. https://en.wikipedia.org/wiki/Induced_pluripotent_stem_cell
10. <https://muscardystrophynews.com/2016/05/20/stem-cell-gene-therapy-could-be-key-to-treating-duchenne-muscular-dystrophy/>