

论著·临床研究

成年晚发型糖原贮积症Ⅱ型临床特征及基因突变分析

祖娟*, 钱方媛*, 吴迪, 谢新欣, 任庆国, 张志珺

东南大学附属中大医院神经内科, 南京 210009

[摘要] **目的**·探讨成年晚发型糖原贮积症Ⅱ型 (glycogen storage disease type II, GSD II) 先证者及家系的临床和基因突变特点。**方法**·分析 1 例成年晚发型 GSD II 型先证者的临床资料并追踪其家族史, 分析肌肉核磁共振 (magnetic resonance imaging, MRI) 及肌肉病理特点。提取先证者及其父亲外周血 DNA, 进行基因检测分析。**结果**·先证者表现为渐进性肌无力 7 年, 活动后气喘 2 年。父母为近亲婚配 (表兄妹), 家系 5 代 18 名成员中仅先证者 1 名存在临床表型。患者肌酸激酶中度升高, 双下肢肌肉 MRI 显示肌肉萎缩严重, 脂肪成分增多。肌肉活检病理提示肌肉空泡样变性, 酸性磷酸酶活性增高。基因测序确定先证者致病突变为酸性 α -葡萄糖苷酶 (acid α -glucosidase, *GAA*) 基因 c.1634C>T 纯合突变, 其父亲为 c.1634C>T 杂合突变。**结论**·*GAA* 基因 c.1634C>T 纯合突变可导致晚发型 GSD II 型。

[关键词] 晚发型糖原贮积症Ⅱ型; 基因型; 临床特征

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.08.018 **[中图分类号]** R746.9 **[文献标志码]** A

Clinical characteristics and genetic analysis of adult late-onset glycogen storage disease type II

ZU Juan*, QIAN Fang-yuan*, WU Di, XIE Xin-xin, REN Qing-guo, ZHANG Zhi-jun

Department of Neurology, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210009, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the clinical and genetic characteristics of adult late-onset glycogen storage disease type II (GSD II). **Methods**·The clinical data, muscular magnetic resonance imaging (MRI) and muscle pathological characteristics of a patient with late-onset GSD II were retrospectively analyzed and his family history was investigated. Peripheral blood DNAs of the proband and his father were extracted for genetic testing. **Results**·The proband presented progressive limb weakness for 7 years and short of breath after activities for 2 years. His parents were inbred, but he was the only one among the 18 members of 5 generations who had clinical phenotype. The blood creatine kinase moderately increased. The muscle MRI of both lower limbs showed that muscles were severely atrophied, and the fat component increased significantly. The pathological findings of muscle biopsy indicated vacuolar degeneration and increased activity of acid phosphatase. Gene sequencing confirmed that the pathogenicity was a homozygous mutation of acid α -glucosidase (*GAA*) gene c.1634C>T, and his father was a heterozygous mutation of c.1634C>T. **Conclusion**·Homozygous mutations of *GAA* gene c.1634C>T may lead to late-onset GSD II.

[Key words] late-onset glycogen storage disease type II (GSD II); genotype; clinical characteristic

糖原贮积症 (glycogen storage disease, GSD) 是一种先天性糖原代谢酶缺陷导致的遗传代谢性疾病, 糖原在肌肉、肝细胞、心肌细胞等的溶酶体和胞质中累积, 造成肌肉萎缩, 最后导致多脏器功能障碍。按照缺陷的葡萄糖代谢酶的不同并根据得到确认的年代顺序进行编号, 可将 GSD 分为 13 种类型^[1], 其中最常见的是 GSD II 型。GSD II 型又称酸性麦芽糖酶缺乏症 (acid maltase deficiency, acid α -glucosidase deficiency), 也称 Pompe 病, 为一种常染色体隐性遗传病。依据基因型的不同, 酶缺乏越严重、起病年龄越早, 则临床

症状越重。根据起病年龄, 可分为婴儿型及晚发型。婴儿型常在出生后不久发生, 由于体内几乎没有酸性 α -葡萄糖苷酶 (acid α -glucosidase, *GAA*), 表现为广泛的肌肉无力, 快速进展的心肌肥厚、舌大、肝大及运动发育迟缓, 患儿生存期一般不超过 1 年。晚发型又分为青少年型和成年型, 表现为缓慢进展的近端肌无力, 常有肌病步态、爬楼费力、脊柱侧凸, 一般无心肌受累, 进展后影响呼吸肌, 出现呼吸困难, 需辅助通气, 直至呼吸衰竭死亡^[2]。成年型临床表现形式多样, 无明显特异性, 易漏诊。本文报道 1 例成年晚发型

[基金项目] 江苏省医学杰出人才基金 (JCRC2016006)。

[作者简介] 祖娟 (1995—), 女, 住院医师, 硕士; 电子信箱: 18795887773@163.com。钱方媛 (1985—), 女, 主治医师, 博士; 电子信箱: 13913035786@163.com。
* 为共同第一作者。

[通信作者] 张志珺, 电子信箱: janemengzhang@vip.163.com。

[Funding Information] Medical Outstanding Scholars Foundation of Jiangsu Province of China (JCRC2016006)。

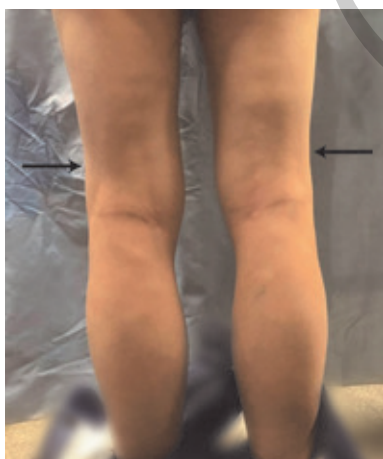
[Corresponding Author] ZHANG Zhi-jun, E-mail: janemengzhang@vip.163.com。

GSD II 型先证者及其家系, 分析其临床特征及治疗进展, 检测先证者及其父亲的基因突变特征, 以期进一步提高对晚发型 GSD II 型的临床诊疗水平。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入于东南大学附属中大医院神经内科就诊, 临床诊断为成年晚发型 GSD II 型的 1 例先证者以及家系。先证者: 男性, 47 岁, 因“渐进性四肢乏力 7 年, 加重伴活动后气喘 2 年”于 2018 年 11 月 21 日入医院神经内科就诊。患者 7 年前无明显诱因, 逐渐出现上楼费力, 举重物不能, 无肢体麻木、疼痛及肉跳感, 未予重视。2 年前, 患者上述症状加重, 下蹲站起费力, 伴快速步行后双下肢酸痛, 休息后稍好转, 并感唱歌时气力不足, 爬 2 层楼即出现气喘。病程中, 患者神志清, 精神可, 饮食睡眠正常, 二便正常, 体质量无明显变化。患者既往健康情况良好, 否认高血压、糖尿病、冠状动脉粥样硬化性心脏病等病史, 否认传染病病史, 20 年前曾行阑尾切除术, 否认输血史、食物药物过敏史, 否认疫区疫水接触史, 无烟酒等不良嗜好。患者足月顺产, 从小发育、体育活动与同龄人无差异。父母近亲结婚, 家族中无类似患者。查体: 身高 180 cm, 体质量 74 kg, 生命体征平稳, 全身未扪及肿大淋巴结, 心、肺、腹未查及明显异常。颅神经检查未见明显异常; 臀大肌步态, 双下肢近端肌群轻度萎缩 (图 1), 肌张力正常, 颈屈肌及颈伸肌肌力 5 级, 四肢近端肌力 4 级, 远端肌力 5 级; 6 min 步行 750 m。四肢腱反射 (+), 病理征阴性; 深浅感觉正常; 共济运动试验正常, 脑膜刺激征阴性。



Note: Muscle atrophy in the proximal part of both legs (arrows).

图 1 GSD II 型先证者双下肢临床像

Fig 1 Clinical image of lower limbs of proband with GSD II

1.2 研究方法

1.2.1 临床资料收集 对先证者完善检查, 包括肝肾功能、血清肌酸激酶、心脏彩超、肝脏 B 超、双下肢肌肉核磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)、肌电图 (electromyography, EMG)。

1.2.2 肌肉活检 患者签署知情同意后, 对其行左侧肱二头肌活体组织检查术。将骨骼肌标本放入经液氮冷却的异戊烷中快速冰冻, 后于恒温冰冻切片机中连续切片, 行苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, H-E) 染色 (上海生工生物工程有限公司, 上海)、酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP) 染色 [阿法埃莎 (中国) 化学有限公司, 上海]、过碘酸-雪夫 (periodic acid-Schiff, PAS) 染色 (天津市大茂化学试剂公司, 天津)、琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 染色 (北京鼎国有限责任公司, 北京)、细胞色素氧化酶 (cytochrome oxidase, CCO) 染色 (郑州市宝信化工有限公司, 郑州) 及苏丹黑 B (Sudan black B, SBB) 染色 (Sigma 公司, 美国), 于光学显微镜下观察。

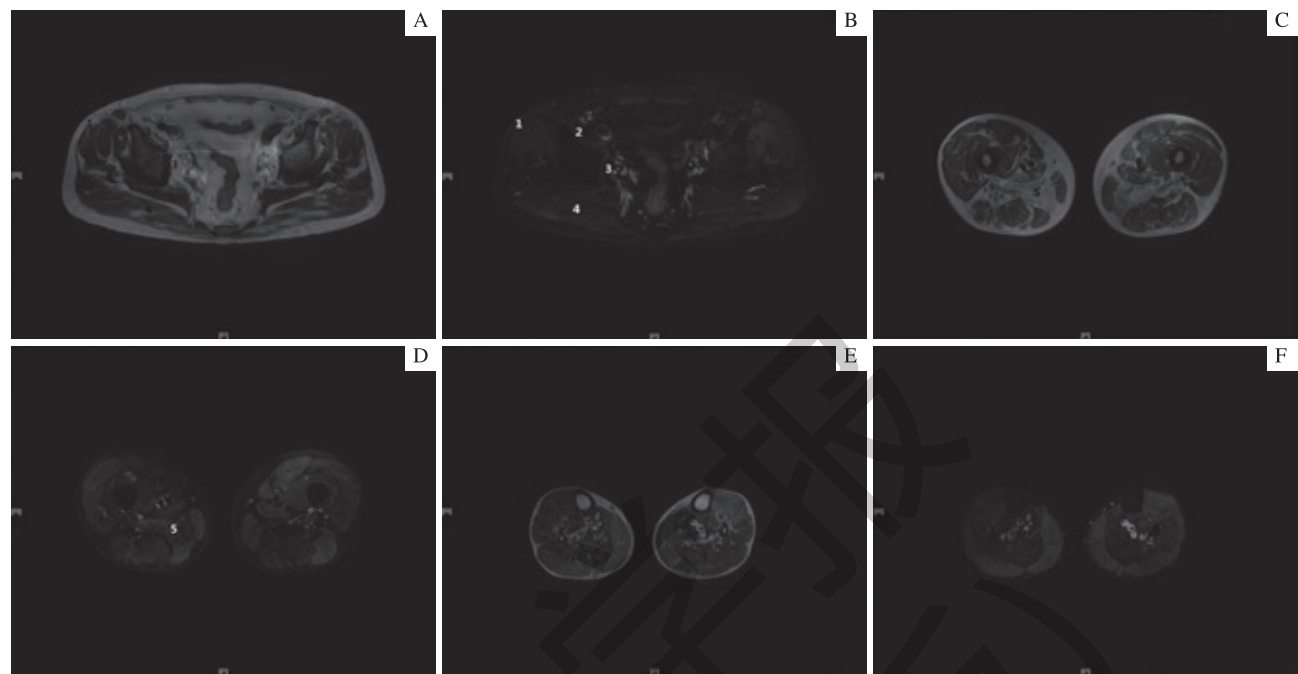
1.2.3 基因检测 患者签署知情同意后, 提取其外周血 DNA, 行目标区序列捕获二代测序 (北京金准基因科技有限公司, 北京)。采用生物信息学分析致病变异后, 提取先证者及其父亲外周血 DNA, 进行 Sanger 测序明确及验证变异位点。

2 结果

2.1 临床检查结果

先证者血清肌酸激酶为 723 U/L (正常值 <145 U/L), 乳酸脱氢酶为 231 U/L (正常值 120 ~ 222 U/L)、谷丙转氨酶为 87 U/L (正常值 5 ~ 44 U/L), 谷草转氨酶为 67 U/L (正常值 5 ~ 40 U/L), 肾功能正常。心脏彩超: 射血分数 (ejection fraction, EF) 为 0.61, 左心室舒张功能减弱。肝脏 B 超: 脂肪肝。肺功能 (坐位): 用力肺活量 (forced vital capacity, FVC) 为 57% Pred, 第 1 秒用力呼气容积 (first second forced expiration volume, FEV₁) 为 60% Pred, FEV₁/FVC 为 85.6%; 中度混合性通气功能障碍 (以限制性为主), 弥散功能轻度下降。双下肢肌肉 MRI 平扫 T2 加权像 (T2 weighted image, T2WI) 及 T2 压脂像 (T2 fat suppression, T2FS) 见图 2, 提示患者骨盆带肌中阔筋膜张肌、闭孔内肌、髂腰肌萎缩, 脂肪浸润明显, 臀大肌呈“花岗岩”征, 大腿肌中大收肌萎缩明显、脂肪浸润, 半膜肌、半腱肌、股二头肌长头等肌肉受累轻微, 余肌群基本正常。肌电图发现: 右侧股四头肌、右侧三角肌安静时

可见自发电位, 右侧三角肌可见肌强直放电, 小力收缩运动单位动作电位 (motor unit action potential, MUAP) 时限缩短, 大力收缩募集呈病理干扰相。余被检肌肉及运动、感觉神经传导均未见异常 (表 1)。



Note: A. T2 weighted image of pelvic muscles. B.T2 fat suppression of pelvic muscles. C.T2 weighted image of thigh muscles. D. T2 fat suppression of thigh muscles. E. T2 weighted image of shank muscles. F. T2 fat suppression of shank muscles. 1—tensor fasciae latae; 2—iliopsoas; 3—obturator internus; 4—gluteus maximus; 5—adductor magnus.

图 2 GSD II 型先证者双下肢肌肉核磁共振影像
Fig 2 MRI of the lower limbs of proband with GSD II

表 1 GSD II 型先证者肌电图
Tab 1 EMG of the proband with GSD II

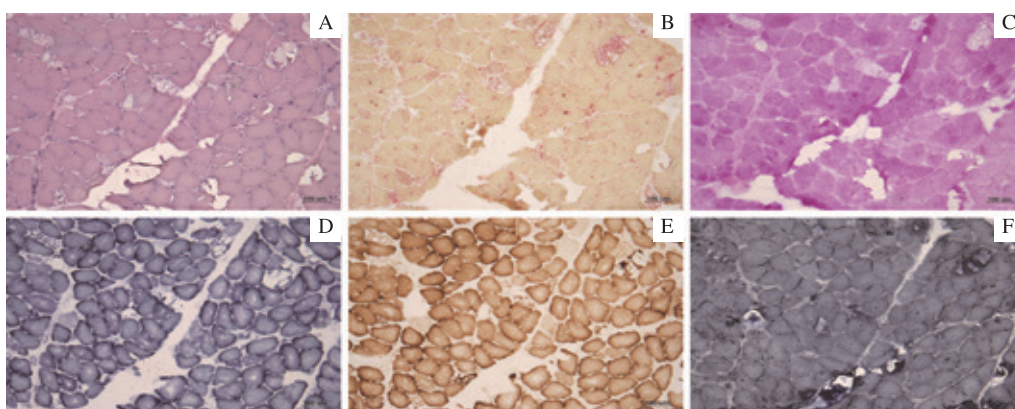
Muscle	Spontaneous potential			MUAP						Interference pattern	
	Fibrillation potential	Positive sharp wave	Others	Polyphasic MUAP				Non-polyphasic MUAP		Description	Amplitude / μ V
				Polyphasic wave/%	Duration /ms	Amplitude / μ V	Phase	Duration /ms	Amplitude / μ V		
Vastus medialis (R)	++++	++++	—	81.8	9.4 ↓	633	3.4	8.4	650	Pathological interference patterns/early recruitment	2 622
Deltoid (R)	++++	++++	Myotonic discharges	62.5	8.6 ↓	469	4.5	8.2	412	Pathological interference patterns/early recruitment	4 245
Abductor pollicis brevis (R)	—	—	—	63.6	10.9	843	3.7	10.7	722	Interference patterns	8 613
Gastrocnemius (Medial head) (L)	—	—	—	0	—	—	—	—	—	Noncooperation	—

Note: R—right; L—left; ↓ —shorter than standard duration.

2.2 肌肉病理检查

先证者肌肉活检 (左侧肱二头肌) 经染色后在光学显微镜下观察: H-E 染色见肌纤维内大量大小不一的空泡;

ACP 染色见肌纤维内酶活性明显增强; PAS 染色见肌纤维胞质空泡化; SDH 和 CCO 染色在空泡部位缺失, 余肌纤维酶活性无明显异常; SBB 染色未见明显异常 (图 3)。



Note: A. H-E staining. B. ACP staining. C. PAS staining. D. SDH staining. E. CCO staining. F. SBB staining.

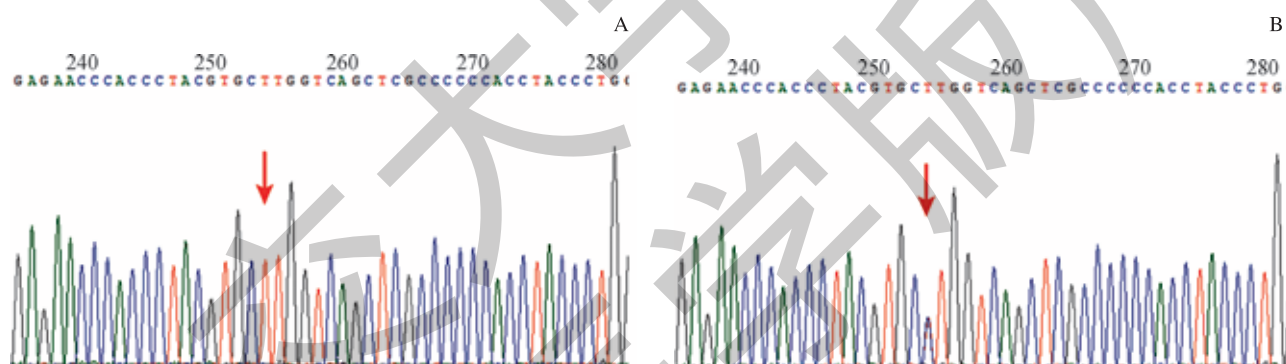
图3 先证者肌肉活检 (×100)

Fig 3 The proband's muscle pathology (×100)

2.3 基因突变分析

目标区序列捕获二代测序发现先证者 *GAA* 基因第 11 号外显子区域 1 个纯合突变, c.1634C>T (胞嘧啶 > 胸腺嘧啶), chr-17-78084822, 导致氨基酸改变 p.P545L (脯

氨酸 > 亮氨酸)。进一步对患者及其父亲进行该位点的 Sanger 验证, 证实先证者 c.1634C>T 纯合突变, 发现其父亲存在 c.1634C>T 杂合突变 (图 4)。



Note: A. The proband was homozygous for c.1634C>T mutation (arrow). B. The proband's father was heterozygous for c.1634C>T mutation (arrow).

图4 先证者及其父的 Sanger 测序图

Fig 4 Sanger sequencing results of the proband and his father

3 讨论

1932 年, 荷兰病理学家 Pompe^[3] 报道了第 1 例死于心脏肥大的 GSD II 型病例; 该病例为一名 7 月龄婴儿, 尸检发现组织中糖原贮存。1963 年, Hers^[4] 发现溶酶体中糖原降解酶 *GAA* 缺乏导致 GSD II 型, 首次提出溶酶体酶缺乏病的概念。据统计, GSD II 型发病率具有人种及地理异质性, 美国纽约州及荷兰的发病率均约为 1/40 000^[5], 而中国台湾的发病率为 1/40 000 ~ 1/20 000^[6]。随着基因测序技术的发展, 越来越多的致病位点及临床表型将被发现。

成年晚发型 GSD II 型临床表现形式多样, 患者常表现为逐渐进展的肌肉无力, 以近端为主, 严重者出现呼吸

肌受累, 血清肌酸激酶轻至中度增高, 部分患者可正常, 肌电图常见纤颤电位、复合性重复放电及肌强直放电, 肌肉病理提示肌纤维颗粒-空泡样改变, 病理学检查阴性也不能排除诊断, *GAA* 酶活性明显减低, 基因检测可发现 *GAA* 基因致病性突变^[2]。2009—2019 年, 笔者共检索到 9 篇关于 GSD II 型的诊断共识及指南^[2, 7-14]。结合本例患者情况: 成年起病, 进展性肌肉无力; 查体提示骨盆带及下肢肌肉轻度萎缩, 四肢近端肌力 4 级; 肌酸激酶轻度升高; 肌电图可见纤颤、正锐波、肌强直放电和早募集, 提示肌源性损害; 肌肉 MRI 提示下肢近端肌肉萎缩、脂肪浸润; 肌肉病理学检查可见肌纤维空泡样改变; 基因检测证实 *GAA* 基因致病性纯合突变。虽未行 *GAA* 酶活性检测, 但根据巴西^[7]和加拿大^[9]的诊断标准, 本例患者可确诊为

GSD II 型。

目前在 GSD II 型中已发现 634 种 *GAA* 基因突变^[15]。不同类型的人种常见突变类型不同,且不同突变位点导致的临床表型也不同;中国人热点突变为 c.1935C>A 及 c.2238G>C^[16]。*GAA* 基因定位于染色体 17q25.3 上,蛋白质由 952 个氨基酸组成,其前体经过翻译及修饰成熟后参与催化糖原的 α -1,4- 和 α -1,6- 葡萄糖苷键的水解,产生葡萄糖^[17]。*GAA* 基因突变可影响 *GAA* 的转录、翻译、转运、修饰及分泌的某些环节,从而影响其成熟。本例患者为 *GAA* 基因 c.1634C>T 纯合突变,该基因型在 1994 年由 Hermans 等^[18]首次报道,并发现该位点(L545)对 *GAA* 前体合成的数量无影响,但延迟了其转运至溶酶体中,并可能由于突变前体折叠不当而造成 *GAA* 的成熟缺陷,从而影响其活性,使得糖原分解受阻,导致发病。

酶替代治疗(enzyme replacement therapy, ERT)是针对 GSD II 型最主要的治疗方法,重组人酸性 α -葡萄糖苷酶(recombinant human acid α -glucosidase, rhGAA)是

目前唯一被批准的临床治疗药物。一项多中心、随机、安慰剂对照临床试验提示,与安慰剂组对比,接受 ERT 的患者步行距离提高,肺功能更稳定;通过进一步亚组分析,在基线临床状态较好的患者中,治疗效果更明显,这提示早期治疗可能使患者获益^[19]。Schoser 等^[20]研究提示经过 ERT 的患者运动功能得到改善,呼吸功能及生活质量稳定或改善。治疗相关的不良反应常见有发热、皮疹等过敏反应,一般经抗过敏治疗后均可好转,严重不良反应罕见,偶有心力衰竭、急性肾衰竭。此外,除了 ERT, GSD II 型新型治疗方式,如底物还原疗法、自噬抑制、刺激溶酶体胞吐、基因疗法等,还在进一步探索中^[21]。

本研究中报道的 GSD 患者的基因型在亚洲人群中为首次报道,丰富了亚洲人群晚发型 GSD II 型的基因型。由于成年晚发型 GSD II 型临床表现不具有特异性,详细的体格检查、家族史询问、肌肉 MRI 和肌肉病理检查分析有助寻找临床诊断的线索,为进行进一步的二代测序提供方向,为早期治疗争取机会。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Oldfors A, Di Mauro S. New insights in the field of muscle glycogenoses[J]. Curr Opin Neurol, 2013, 26(5): 544-553.
- [2] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会神经肌肉病学组,中华医学会神经病学分会心电图与临床神经生理学组.中国肌病型糖原累积病诊治指南[J].中华神经科杂志,2016,49(1): 8-16.
- [3] Pompe JC. Over idiopatische hypertrophie van het hart[J]. Ned Tijdschr Geneesk, 1932, 76: 304-311.
- [4] Hers HG. α -Glucosidase deficiency in generalized glycogenstorage disease (Pompe's disease)[J]. Biochem J, 1963, 86: 11-16.
- [5] Ausems MG, Verbiest J, Hermans MP, et al. Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling[J]. Eur J Hum Genet, 1999, 7(6): 713-716.
- [6] Chien YH, Chiang SC, Zhang XK, 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.
- [7] Llerena Junior JC, Nascimento OJ, Oliveira AS, 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.
- [8] MENA Pompe Working Group, Al Jasmi F, Al Jumah M, et al. Diagnosis and treatment of late-onset Pompe disease in the Middle East and North Africa region: consensus recommendations from an expert group[J]. BMC Neurol, 2015, 15: 205.
- [9] Tarnopolsky M, Katzberg H, Petrof BJ, et al. Pompe disease: diagnosis and management. Evidence-based guidelines from a Canadian expert panel[J]. Can J Neurol Sci, 2016, 43(4): 472-485.
- [10] van der Ploeg AT, Kruijshaar ME, Toscano A, et al. European consensus for starting and stopping enzyme replacement therapy in adult patients with Pompe disease: a 10-year experience[J]. Eur J Neurol, 2017, 24(6): 768-e31.
- [11] Wang RY, Bodamer OA, Watson MS, et al. Lysosomal storage diseases: diagnostic confirmation and management of presymptomatic individuals[J]. Genet Med, 2011, 13(5): 457-484.
- [12] American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine. Diagnostic criteria for late-onset (childhood and adult) Pompe disease[J]. Muscle Nerve, 2009, 40(1): 149-160.
- [13] Bhengu L, Davidson A, du Toit P, et al. Diagnosis and management of Pompe disease[J]. S Afr Med J, 2014, 104(4): 273-274.
- [14] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中华医学会儿科学分会神经学组,中华医学会神经病学分会心电图与临床神经生理学组,等.糖原贮积病 II 型诊断及治疗专家共识[J].发育医学电子杂志,2013,1(3): 185-189.
- [15] Institute of Medical Genetics in Cardiff. The human gene mutation database[EB/OL]. [2020-04-26]. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=GAA>.
- [16] Momosaki K, Kido J, Yoshida S, et al. Newborn screening for Pompe disease in Japan: report and literature review of mutations in the *GAA* gene in Japanese and Asian patients[J]. J Hum Genet, 2019, 64(8): 741-755.
- [17] Sugawara K, Saito S, Sekijima M, et al. Structural modeling of mutant α -glucosidases resulting in a processing/transport defect in Pompe disease[J]. J Hum Genet, 2009, 54(6): 324-330.
- [18] Hermans MM, De Graaff E, Kroos MA, et al. The effect of a single base pair deletion (Δ T525) and a C1634T missense mutation (pro545leu) on the expression of lysosomal α -glucosidase in patients with glycogen storage disease type II [J]. Hum Mol Genet, 1994, 3(12): 2213-2218.
- [19] van der Ploeg AT, Clemens PR, Corzo D, et al. A randomized study of α -glucosidase α in late-onset Pompe's disease[J]. N Engl J Med, 2010, 362(15): 1396-1406.
- [20] Schoser B, Stewart A, Kanter S, et al. Survival and long-term outcomes in late-onset Pompe disease following α -glucosidase α treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. J Neurol, 2017, 264(4): 621-630.
- [21] Kohler L, Puertollano R, Raben N. Pompe disease: from basic science to therapy[J]. Neurotherapeutics, 2018, 15(4): 928-942.

[收稿日期] 2019-09-09

[本文编辑] 徐 敏

