

问题进行性加重。此外，国外文献报道，合并肥胖、脊柱侧弯及丧失行走能力均为患儿呼吸功能恶化的危险因素<sup>[23]</sup>。而呼吸并发症干预可有效延长患儿生存时间、提高生活质量<sup>[24]</sup>。因此，有必要对 SRBD 行定期监测。

2011 年，Aurora 等<sup>[25]</sup>对儿童应用多导睡眠监测（PSG）检查指征进行系统综述：推荐（Guideline）神经肌肉病如 DMD 患儿应用 PSG 监测 SRBD。ATS 关于 DMD 患儿呼吸管理的指南中也建议 DMD 患儿最好每年行 PSG 和持续 CO<sub>2</sub> 浓度监测<sup>[26]</sup>。目前，国内尚无关于 DMD 儿童 SRBD 相关研究。

本研究对 22 例患儿行 PSG 检查，年龄 3-10 岁，结果示符合阻塞型睡眠呼吸暂停/低通气综合征占 22.73%，平均年龄 7.40±2.41 岁，与既往研究结果大致相符，即 10 岁前 DMD 患儿睡眠相关呼吸问题以阻塞性改变为主。其次，1 例存脊柱侧弯患儿，3 例合并肥胖患儿已出现 SRBD 问题，支持脊柱侧弯、肥胖为呼吸功能恶化因素。此外，本组患儿年龄较小，尚无严重低通气。

Duchenne<sup>[27]</sup>最早描述了 DMD 患儿的认知功能障碍，之后多项文献研究一致认为，DMD 患儿精神心理发育情况为：平均 FSIQ 比正常人群低 1 个标准差；从精神心理位于临界到严重智能受损。FSIQ<70 的患儿在 DMD 患儿中占 19-35%，3% 患儿存中-重度智能受损（FSIQ<50）<sup>[28]</sup>。一些研究对比了操作智商（PIQ）和言语智商（VIQ）。绝大部分认为 VIQ 受损较 PIQ 严重，2 者平均值相差 5-8 分<sup>[29,30]</sup>。但也有学者认为，智能整体受损<sup>[31]</sup>。国内目前仅麻宏伟等<sup>[32]</sup>曾对 102 例患儿行智力测查，智力低下占 29.4%，且患儿操作智商、言语智商间不存在发育不平衡现象。

本研究对 18 例患儿行智能方面测查，存不同程度智力受损/智能发育落后的患儿占 88.89%（16/18）。比例明显高于国内外研究，考虑与本组患儿中，突变位于致病基因远端患儿比例较高有关（下文详述）。

比较患儿智力不同方面受损情况：行 C\_WISC 智力测查的患儿 PIQ 与 VIQ 无显著差异。行 Gesell 智能发育的患儿，精细运动 DQ 明显高于大运动、言语 DQ，而大运动与言语 DQ 无明显差异，提示存在一定的发育不平衡。但此研究仍需扩大样本量，进一步统计分析。

### 4.3. 基因型与临床表现型关系

绝大部分患儿基因型与临床表现型关系符合 Monaco 等提出的阅读框法则，即如果突变后分子重排影响开放阅读框架，产生截短的无功能蛋白，则临床表现为 DMD。如分子重排后阅读框不变，产生蛋白仅长度改变，而主要功能区域未改变，临床表现为 BMD<sup>[33]</sup>。

根据阅读框法则，本组患儿中整码突变 9 例，移码突变 76 例。因部分患儿年龄较小或未行病理检查，无法确定其临床表现型及其与基因型的关系。仅将整码突变/移码突变分为在年龄上具有可比性 ( $p=0.228$ ) 的两组，对发育、起病、病程进展等方面进行比较。验证应用阅读框法则对于判断预后的可行性。结果显示整码突变组患儿学会跑、跳的时间明显早于移码突变组 ( $P_{\text{会跑}}=0.02$ ,  $P_{\text{双脚跳}}=0.001$ )，发育状况较好；移码突变组中出现运动能力倒退的患儿比例明显多于整码突变组 ( $p=0.012$ )；其次，整码突变组中因无症状 CK 升高就诊比例较高 ( $p=0.046$ )，而因肢体无力等症状就诊患儿不仅较少，且就诊年龄较晚 ( $p=0.01$ )。就诊原因方面的差异提示：整码突变患儿起病明显较晚。比较两组患儿 CK 水平显示，移码突变组 CK 水平明显高于整码突变组，一定程度上提示移码突变组患儿肌纤维破坏程度较严重，但 CK 变化较快，受多种因素影响，以 CK 水平区分临床表现型不甚可靠。

本组大部分患儿基因型与表现型关系符合阅读框法则，国内外研究显示，阅读框法则预测患者临床表现型准确性约 91-92%<sup>[34]</sup>。因此大多数病例不需经肌活检鉴别临床表现型，可根据阅读框法则初步鉴别 DMD 及 BMD。但仍有少部分例外，不符合阅读框法则，考虑可能与外显子跳跃及突变的位置、片段大小有关<sup>[13]</sup>。

Dystrophin 基因产生至少 7 种 Dystrophin 蛋白亚型，3 种全长型 (Dp427c、Dp427m、Dp427p)，4 种较短类型 (Dp260、Dp140、Dp116、Dp71)。源于 7 种不同的启动子。这些蛋白亚型在发育期、位置和细胞类型上存在特异性。其中，Dp140 在胎儿脑中含量丰富，认为很可能与患儿认知功能受损相关。Dp140 亚型

(图 2) 启动子位于内含子 44, 外显子 45-50 及部分外显子 51 为 UTR 区, 从外显子 51 中 c.7381 位置开始编码<sup>[35]</sup>。

2010 年, Taylor 等对 62 例患儿受累蛋白亚型与 IQ 关系进行研究, 结果示: Dp140 未受累组患儿智力优于受累组 ( $p=0.0155$ ), 仅 Dp140UTR 区受累组患儿智力优于 Dp140 编码区及启动子区受累组 ( $0.0005$ ) (如图 13)。国内目前仅麻宏伟曾对患儿智力与基因突变位置进行研究, 结果示突变位于远端患儿智力受损较重, 但尚无智力与蛋白亚型关系的相关研究。

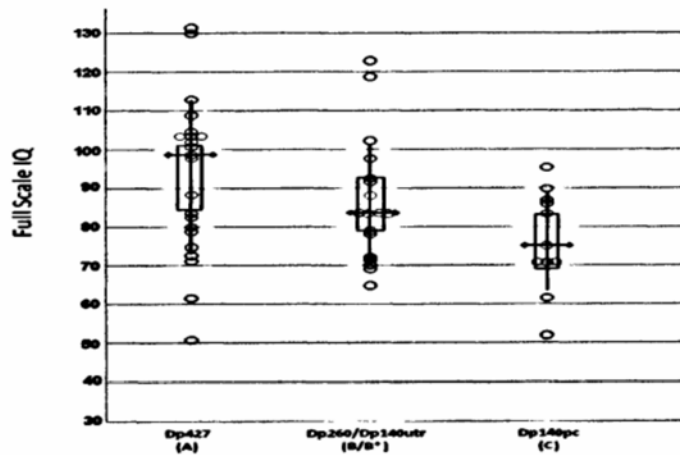


图 3-10. 从左至右柱形依次代表仅 Dp427 受累、Dp140UTR 区受累、Dp140 编码区受累患儿智力情况。

本组患儿中, C\_WISC 智力测查组: Dp140 未受累组 FIQ、VIQ、PIQ 均优于 Dp140 受累组社会生活适应性及注意力两组无明显差异。Dp140UTR 区受累组平均 FIQ ( $61.67\pm 8.08$ ) 高于 Dp140pc 区受累组 ( $48.5\pm 6.36$ ), 因例数较少, 未行统计学分析。Gesell 智能发育检查组全部存在 DP140 受累, 均为发育轻-中度迟滞。Dp140UTR 组综合 DQ、大运动、言语、个人-社交方面发育均优于 Dp140pc 组, 但两组患儿在精细运动、适应性方面发育无明显差异。可见, 本组患儿结果也证实智力受损情况与 Dp140 蛋白亚型有关, 进一步探讨发现, 不同智能发育方面受累程度可能存在差异, 待扩大样本量进一步研究。

## 第五章 结 论

1. Dystrophin 基因突变特征：拷贝数异常为主，呈非均匀分布；点突变并不少见；应首先行 MLPA，结果阴性者有必要行直接测序。
2. Dystrophin 相关病（DMD/BMD）临床特点：大部分 2-5 岁前起病，主要表现为双下肢无力、大运动发育落后，Gower's 征及腓肠肌肥大，6 岁后渐出现运动倒退。所有患儿 CK 升高，部分患儿存智力受损。
3. 大部分患儿心肺功能在 10 岁前正常，无需定期监测。10 岁前患儿睡眠相关呼吸问题以阻塞性改变为主，建议定期监测 PSG 情况。
4. 大部分患儿基因型与表现型符合阅读框法则，智力受损与 Dp140 蛋白亚型有关。

### 本研究的优点及不足

1. 本课题对入组 123 例临床拟诊 Dystrophin 相关病患者行基因突变检测，突变检出率 97.56%，其中拷贝数异常 75.00%，致病点突变占 18.33% (22/120)，与国内外报道发病率基本相符，提示 MLPA 及直接测序技术为 Dystrophin 基因突变有效的无创诊断方法。但大部分病人未行肌活检免疫组化/蛋白印迹检查，无法对患儿进行确切分型，并进一步探讨各型临床特征及其与基因型关系。
2. 本课题对 Dystrophin 相关病患者临床特点进行分析，包括患儿起病年龄、主要症状、运动发育、病情进展、体征、CK 等情况。但部分信息主观性较强，如能进行量表评估将更为客观。
3. 本课题对患儿心肺并发症进行评价，初步探讨 10 岁前患儿肺功能及 SRBD 情况，但仍需延长随访时间，全面分析不同年龄段患儿心肺功能并发症情况。
4. 本课题对患儿智力情况进行评价，初步探讨患儿智力受损情况及其与 Dp140 蛋白亚型关系。但仍需扩大样本量，探讨整个基因不同位置突变与智力相关性。这些将在今后的研究中进一步完善。

## 第六章 参考文献

- [1]. Darras., B.T., Dystrophinopathies, GeneReviews. 2011..
- [2]. Emery, A.E., The muscular dystrophies. *Lancet*, 2002. 359(9307): p. 687-95.
- [3]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol*, 2010. 9(2): p. 177-89.
- [4]. BECKER, P.E. and F. KIENER, [A new x-chromosomal muscular dystrophy]. *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr*, 1955. 193(4): p. 427-48.
- [5]. Abbs, S., et al., Best practice guidelines on molecular diagnostics in Duchenne/Becker muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord*, 2010. 20(6): p. 422-7.
- [6]. Ferlini, A., M. Neri and F. Gualandi, The medical genetics of dystrophinopathies: molecular genetic diagnosis and its impact on clinical practice. *Neuromuscul Disord*, 2013. 23(1): p. 4-14.
- [7]. Muntoni, F., S. Torelli and A. Ferlini, Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol*, 2003. 2(12): p. 731-40.
- [8]. Petrof, B.J., Molecular pathophysiology of myofiber injury in deficiencies of the dystrophin-glycoprotein complex. *Am J Phys Med Rehabil*, 2002. 81(11 Suppl): p. S162-74.
- [9]. Cunniff, C., et al., Mutation analysis in a population-based cohort of boys with Duchenne or Becker muscular dystrophy. *J Child Neurol*, 2009. 24(4): p. 425-30.
- [10]. Jennekens, F.G., et al., Diagnostic criteria for Duchenne and Becker muscular dystrophy and myotonic dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 1991. 1(6): p. 389-91.
- [11]. 胡亚美, 实用儿科学 第7版, 2012.
- [12]. Florence, J.M., et al., Clinical trials in Duchenne dystrophy. Standardization

- and reliability of evaluation procedures. *Phys Ther*, 1984. 64(1): p. 41-5.
- [13]. Aartsma-Rus, A., et al., Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule. *Muscle Nerve*, 2006. 34(2): p. 135-44.
- [14]. Muntoni, F., S. Torelli and A. Ferlini, Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol*, 2003. 2(12): p. 731-40.
- [15]. Tuffery-Giraud, S., et al., Genotype-phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase. *Hum Mutat*, 2009. 30(6): p. 934-45.
- [16]. Norwood, F.L., et al., The structure of the N-terminal actin-binding domain of human dystrophin and how mutations in this domain may cause Duchenne or Becker muscular dystrophy. *Structure*, 2000. 8(5): p. 481-91.
- [17]. Abbs, S., et al., Best practice guidelines on molecular diagnostics in Duchenne/Becker muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord*, 2010. 20(6): p. 422-7.
- [18]. Schwartz, M., et al., LGMD2I presenting with a characteristic Duchenne or Becker muscular dystrophy phenotype. *Neurology*, 2005. 64(9): p. 1635-7.
- [19]. 冯善伟等. Duchenne型假肥大肌营养不良症患者主要生活事件发生规律. *实用儿科临床杂志*, 2012. 27(24): p. 1866-1868.
- [20]. Nigro, G., et al., The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. *Int J Cardiol*, 1990. 26(3): p. 271-7.
- [21]. Tangsrud, S., et al., Lung function in children with Duchenne's muscular dystrophy. *Respir Med*, 2001. 95(11): p. 898-903.
- [22]. Suresh, S., et al., Sleep-related breathing disorder in Duchenne muscular dystrophy: disease spectrum in the paediatric population. *J Paediatr Child Health*, 2005. 41(9-10): p. 500-3.
- [23]. Polat, M., et al., Assessment of sleep-related breathing disorders in patients with duchenne muscular dystrophy. *J Clin Med Res*, 2012. 4(5): p. 332-7.
- [24]. Rall, S. and T. Grimm, Survival in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*, 2012. 31(2): p. 117-20.
- [25]. Aurora, R.N., et al., Practice parameters for the respiratory indications for

- polysomnography in children. *Sleep*, 2011. 34(3): p. 379-88.
- [26]. Finder, J.D., et al., Respiratory care of the patient with Duchenne muscular dystrophy: ATS consensus statement. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004. 170(4): p. 456-65.
- [27]. Duchenne, G.B., Studies on pseudohypertrophic muscular paralysis or myosclerotic paralysis. *Arch Neurol*, 1968. 19(6): p. 629-36.
- [28]. Cotton, S., N.J. Voudouris and K.M. Greenwood, Intelligence and Duchenne muscular dystrophy: full-scale, verbal, and performance intelligence quotients. *Dev Med Child Neurol*, 2001. 43(7): p. 497-501.
- [29]. Leibowitz, D. and V. Dubowitz, Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*, 1981. 23(5): p. 577-90.
- [30]. Karagan, N.J. and H.U. Zellweger, Early verbal disability in children with Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*, 1978. 20(4): p. 435-41.
- [31]. Smith, R.A., J.R. Sibert and P.S. Harper, Early development of boys with Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*, 1990. 32(6): p. 519-27.
- [32]. 麻宏伟等. Duchenne 肌营养不良患儿的智力特点及与基因突变关系初步探讨. *中国当代儿科杂志*.2011.13(10): p. 804-04.
- [33]. Monaco, A.P., et al., An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics*, 1988. 2(1): p. 90-5.
- [34]. Zhou, G.Q., et al., Current understanding of dystrophin-related muscular dystrophy and therapeutic challenges ahead. *Chin Med J (Engl)*, 2006. 119(16): p. 1381-91.
- [35]. Taylor, P.J., et al., Dystrophin gene mutation location and the risk of cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One*, 2010. 5(1): p. e8803.

## 第七章 文献综述

### 杜氏/贝克型肌营养不良的诊断与呼吸管理策略

杜氏肌营养不良 (Duchenne-type muscular dystrophy, DMD) 和贝克肌营养不良 (Becker muscular dystrophy, BMD), 是儿童中最常见肌营养不良。世界范围内, 在活产男婴中发病率分别约 1/3500 和 1/18450<sup>[1,2]</sup>。此病为 X 连锁隐性遗传, 致病基因突变致抗肌萎缩蛋白完全或部分缺失, 进而使骨骼肌、心肌、平滑肌甚至脑中的膜骨架蛋白缺乏<sup>[3]</sup>。DMD/BMD 临床主要表现为肌萎缩、肌无力进行性加重, 确诊需检测抗肌萎缩蛋白基因突变, 或肌肉组织经免疫组化和蛋白印记分析发现蛋白水平异常<sup>[4,5]</sup>。通过复习文献, 以下对 DMD/BMD 临床特点、诊断方法及呼吸评价与管理研究进展进行综述。

#### 7.1. 临床特点

##### 7.1.1. 男性患者

DMD 于 1565 年由 Duchenne 首先详细描述, 该型病情重, 5 岁前起病, 无家族史的 DMD 患儿确诊平均年龄约 4 岁 10 个月 (16 个月—8 岁)。患儿主要表现为肌肉无力, 近端为主 (图 7-1A), 进行性加重, 可合并鸭步步态、登梯困难等, 从仰卧位起立可见典型 Gower's 征 (图 7-1B), 即应用上肢辅助无力的腰带肌群。双侧腓肠肌假性肥大且触诊质地较硬, 为肌纤维破坏后, 脂肪和结缔组织替代所致, 偶有腓肠肌痛。DMD 通常病程进展迅速, 患儿在 12-13 岁左右需依靠轮椅行动<sup>[6,7]</sup>。患儿病情进展情况如表 7-1 所示。

DMD 患儿在 10 岁后, 渐出现心肺功能受累<sup>[8-11]</sup>, 通常在 20 岁左右因心肺等并发症死亡<sup>[12]</sup>错误!未找到引用源。。

部分 DMD 患儿尚存不同程度的静止性认知功能受损。其次, 在 DMD 患儿



中，孤独症谱系疾病发病率较高<sup>[13, 14]</sup>。

表 7-1.DMD/BMD 患儿病情进展及分期<sup>[20]</sup>

| 1 期                   | 2 期                      | 3 期          | 4 期               | 5 期                |
|-----------------------|--------------------------|--------------|-------------------|--------------------|
| 临床前期                  | 行走早期                     | 行走晚期         | 丧失行走能力早期          | 丧失行走能力晚期           |
| 此期如发现肌酶升高或有阳性家族史，可确诊。 | Gowers'征<br>鸭步步态<br>足尖步态 | 走路吃力<br>渐加重  | 有时仍可自行移动<br>可维持姿势 | 上肢功能丧失、姿势维持困难，且渐加重 |
| 可有发育落后，但步态正常          | 可爬楼梯                     | 不能爬楼，不能从地面爬起 | 可能合并脊柱侧弯          |                    |

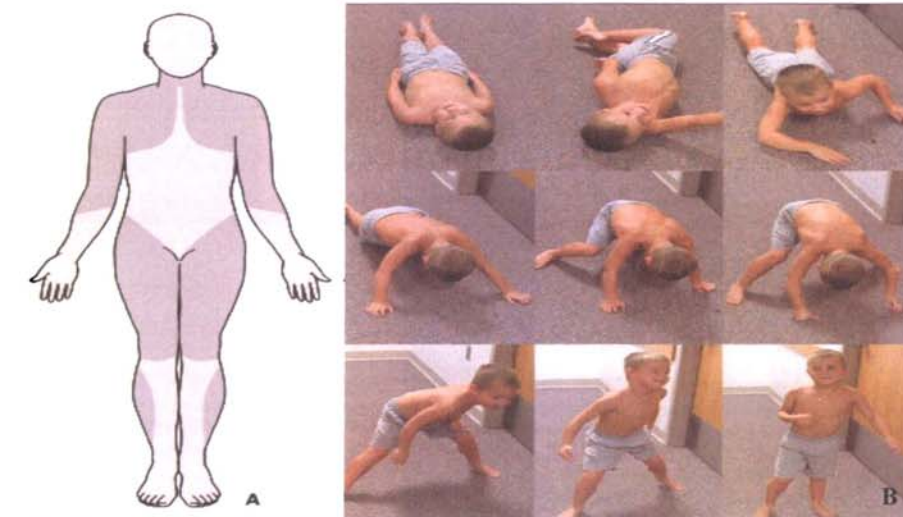


图 7-1. A. 图中深色区域示 DMD/BMD 肌肉无力主要受累区域。B. Gover's 征。

BMD 于 1957 年由 Becker 首先报道，与 DMD 相比，起病晚，病程进展缓慢，患儿至 16 岁后仍有行走能力<sup>[15, 16]</sup>。肌无力症状及受累肌群与 DMD 患儿类

似，心肌受累平均年龄为 14.6 岁，与 DMD 患儿类似（14.4 岁）。但肺功能受累较 DMD 患儿明显延后，但目前尚无具体研究<sup>[17]</sup>。平均死亡年龄约 45 岁<sup>[18]</sup>。

此外，部分病人临床症状严重程度介于 DMD 和 BMD 之间，在 13-16 岁时丧失行走能力，为中间型肌营养不良（Intermediate muscular dystrophy, IMD）<sup>[12]</sup>。

### 7.1.2. 女性患者/携带者

极少见女性 DMD/BMD 患儿，表现为典型 DMD 症状/体征，绝大部分为携带者。Hoogerwaard 等曾对 129 名致病基因女性携带者（年龄 18-60 岁）症状、体征进行分析（表 7-2）<sup>[17,19]</sup>。

表 7-2. DMD/BMD 基因突变女性携带者症状和体征

| 症状/体征   | DMD 携带者 | BMD 携带者 |
|---------|---------|---------|
| 无       | 76%     | 81%     |
| 轻到中度肌无力 | 19%     | 14%     |
| 肌痛/肌肉痉挛 | 5%      | 5%      |
| 左室扩张    | 19%     | 16%     |
| 扩张性心肌病  | 8%      | 0       |

### 7.2.1. 血清磷酸肌酸激酶改变

血清磷酸肌酸激酶(creatine kinase, CK)有 3 种同工酶：脑型 (CK-BB)，心型 (CK-MB)，肌型 (CK-MM)。占总活性比例分别为：CK-MM 占 94-96%，CK-MB<5%，CK-BB 为 0 或极少。

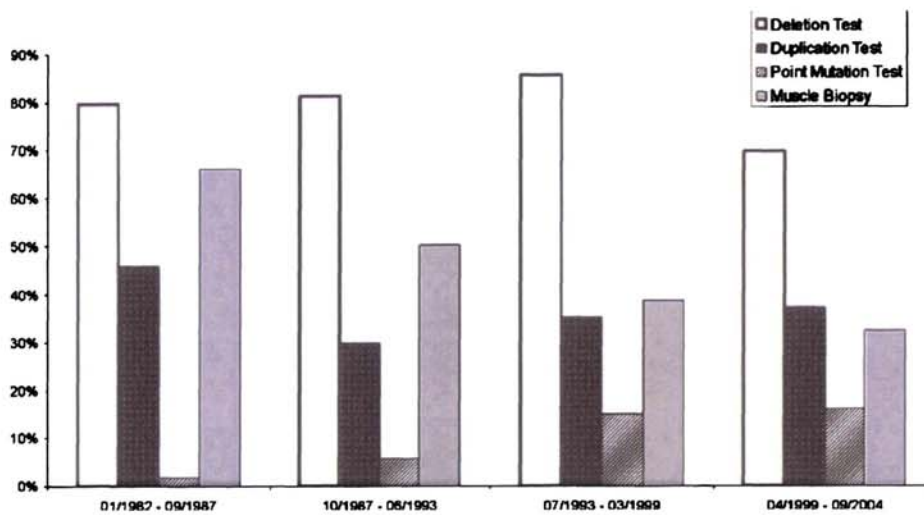
抗肌萎缩蛋白异常致肌纤维坏死，大量 CK 由肌细胞释放入血液，血 CK 值显著升高，可达正常数十至数百倍，不同表现型患儿血清 CK 水平存在差异（表 7-3）<sup>[21, 22]</sup>。患者血清 CK 值变化有一定规律，生后即开始上升，发病时多已升至接近峰值，随病程进展，剩余肌纤维数目减少，肌纤维坏死率降低，血清 CK 值逐年下降<sup>[23]</sup>。据此变化规律，可预测肌纤维坏死速率、病程进展及评估疗效<sup>[24]</sup>。若血清 CK 达峰值后下降较快，常提示肌纤维坏死较多，病程进展迅速<sup>[25]</sup>。但应注意 CK 值变化存在个体差异，且受运动量影响。此外，其他疾病亦可致 CK 升高，因此不能单靠 CK 值推断病变程度，应结合临床及其他相关检查。

**表 7-3. DMD/BMD 患儿血清 CK 浓度<sup>[6, 26]</sup>**

| 表现型   | 存在 CK 升高的患<br>儿% | 血清 CK 浓度   |
|-------|------------------|------------|
| 男孩    |                  |            |
| DMD   | 100%             | >正常值 10 倍  |
| BMD   | 100%             | >正常值 5 倍   |
| 女性携带者 |                  |            |
| DMD   | 50%              | 正常值 2-10 倍 |
| BMD   | 30%              | 正常值 2-10 倍 |

### 7.2. 基因诊断

近年，随基因诊断技术发展，基因检测逐渐成为 DMD/BMD 首选诊断方法。目前，95%以上 DMD/BMD 临床疑诊病人，可检测到致病基因突变。美国 2009 年一项多中心研究，对生于 1982-2004 年 470 名 DMD/BMD 患儿确诊模式进行回顾分析，结果示，生于 1982-1987 年的患儿中，依靠肌活检诊断比例占 66.1%，而生于 1999-2004 年的患儿，此比例降至 32.6%。与之相反，依靠各种基因突变诊断的比例逐年上升（图 7-2）<sup>[27]</sup>。



**图 7-2. 470 名 DMD/BMD 患儿确诊模式回顾分析。**

### 7.2.1. Dystrophin 基因及抗肌萎缩蛋白

DMD/BMD 是由抗肌萎缩蛋白 (Dystrophin) 基因 (图 7-3) 突变, 致其编码的肌纤维膜上抗肌萎缩蛋白完全或部分缺失, 进而导致肌肉萎缩改变。

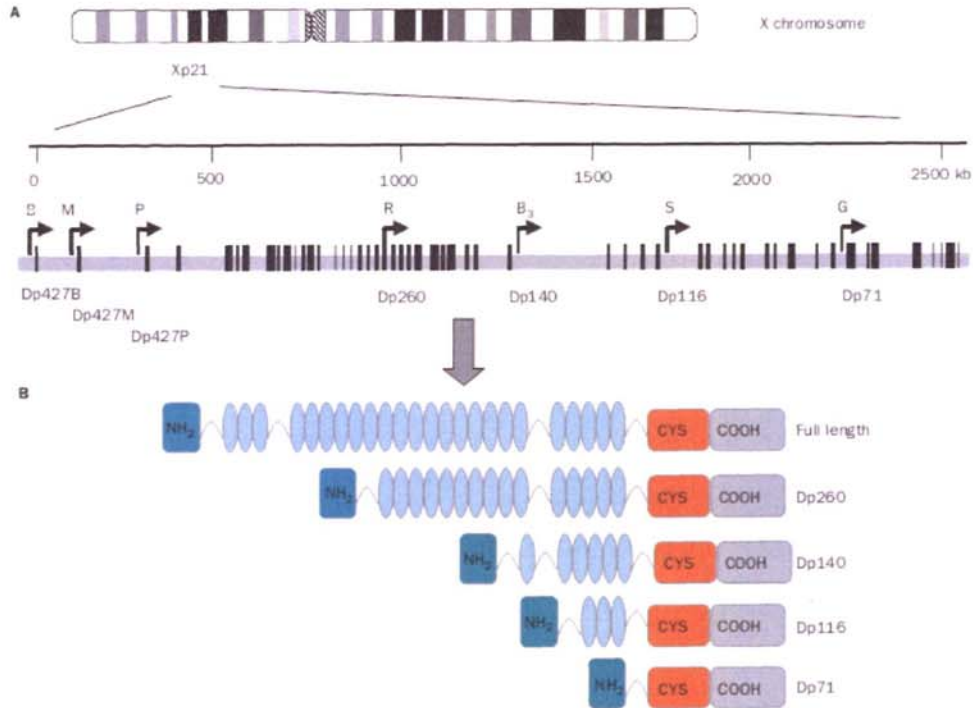


图 7-3. A 示 Dystrophin 基因模式图及 7 个组织特异性启动子位置。B 示不同 Dystrophin 蛋白亚型

#### Dystrophin 基因

Dystrophin 基因定位于人类 Xp21, 长约 2.5Mbp, 占整个基因组长度 0.1%<sup>[28]</sup>。Dystrophin 基因编码区包括 79 个外显子和 7 个组织特异性启动子, 余 99% 序列由 78 个内含子占据, 由于 Dystrophin 基因结构大, 内部复杂, 该基因突变率高, 突变类型多样, 可致一系列疾病, 统称为 Dystrophin 基因相关疾病<sup>[29, 30]</sup>。在这一系列疾病中, 最轻微的类型包括无症状血清磷酸肌酸激酶 (CK) 升高以及肌肉痉挛等。最严重的类型包括以肌无力为首发症状的 DMD/BMD 以及

心肌受累为首发症状的 DMD-基因相关性扩张性心肌病 (DMD-associated dilated cardiomyopathy, DCM) [12]。

### 抗肌萎缩蛋白

Dystrophin 基因编码的抗肌萎缩蛋白主要表达于骨骼肌、心肌,少量表达于脑组织。目前已知 3 种全长型蛋白异构体 (脑型 B、肌型 M、蒲肯野细胞型 P), 分别源于 3 个不同组织特异性启动子, 在基因外显子 1 不同位置启动转录, 并以其主要表达的组织命名<sup>[30,31]</sup>。

全长型抗肌萎缩蛋白 Dp427 是分子量 427kb 的棒状蛋白, 由 3685 个氨基酸组成, 分为 4 个区域 (图 7-4A) <sup>[32-34]</sup>: ①肌动蛋白结合域 (第 1-8 外显子): 与细胞内的肌动蛋白结合; ②中央棒状区 (第 9-63 外显子): 由 24 个三聚螺旋状重复结构组成, 其间被 4 个疏水铰链结构隔开; ③半胱氨酸富含区 (第 64-68 外显子): 与肌膜上糖蛋白复合体结合; ④羧基端区域 (第 68-79 外显子)。

Dystrophin 基因尚有 4 个内部启动子, 可启动 4 种较短形式 Dystrophin 蛋白转录。它们均保留半胱氨酸富含区和羧基末端, 因而保留与膜蛋白的结合位点。基因内部启动子分别位于 Dystrophin 基因第 29 内含子 (Dp260)、第 44 内含子 (Dp140)、第 55 内含子 (Dp116)、第 62 内含子 (Dp71), 启动转录的蛋白表达于不同组织中<sup>[30]</sup>。

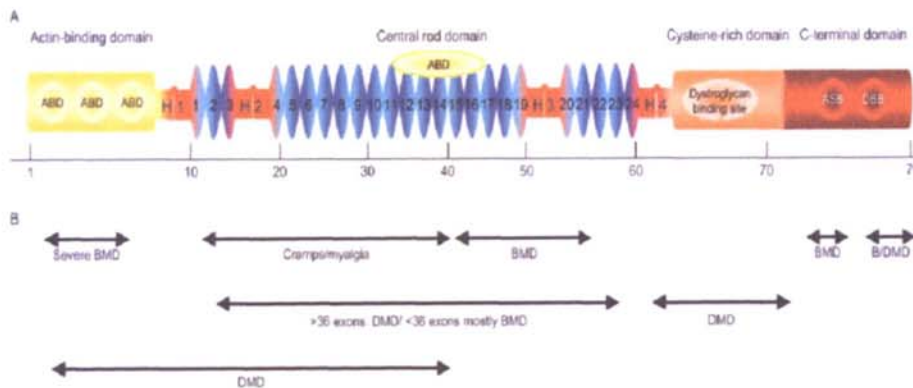


图 7-4. A. 抗肌萎缩蛋白结构模式图。B. 基因突变位置、片段大小与临床表现型关系。

在心肌和骨骼肌上，抗肌萎缩蛋白与位于肌膜上的不同蛋白（sarcoglycan, dystroglycans, syntrophin 及 dystrobrevin）互相作用，形成抗肌萎缩蛋白复合体（Dystrophin-associated glycoprotein complex, DGC），DGC 在细胞外基质和细胞骨架间形成一跨膜结构，保护肌纤维和肌膜在长期反复机械收缩过程中免受损伤，除机械保护和结构支持作用外，DGC 还参与细胞间信号转导作用<sup>[35,36]</sup>。

### 7.2.2 Dystrophin 基因突变

最常见突变类型为单个或多个外显子缺失，占有突变类型 50-65%。外显子重复，占有突变 5-10%。这两种突变可发生于抗肌萎缩蛋白任意位置；但已知有 2 个热点区带：①3'端热点区域，包含外显子 2-19，约占所有缺失突变 20%。②5'端热点区域，包含外显子 45-55，约占所有缺失突变 70%。基因 3'端热点区的断裂点通常位于 44 内含子内，而 5'端热点区的断裂点主要位于内含子 2、7 内部，这些内含子在进化上十分保守，被认为含有调控区域。其余 25-35%左右为微小突变，包括微小缺失/插入或单个碱基突变<sup>[29]</sup>。无义突变在 DMD 患儿中出现频率略高，约占 20-25%，而在 BMD 中所占比例小于 5%。剪切突变和微小插入/缺失突变在致病突变中占一定比例，而错义突变不是常见致病突变类型<sup>[12]</sup>。

（表 7-4）

表 7-4. Dystrophin 基因不同突变类型所占比例

| 基因       | 检测方法 | 突变类型  | 突变检出率 |        |        |        |    |
|----------|------|-------|-------|--------|--------|--------|----|
|          |      |       | DMD   |        | BMD    |        |    |
|          |      |       | 男性患儿  | 女性携带者  | 男性患儿   | 女性携带者  |    |
| 抗肌萎缩蛋白基因 | 突变分析 | 缺失/重复 | 缺失    | ~50-65 | ~50-65 | ~65-70 |    |
|          |      | 微小突变  | 重复    | ~5-10  | ~10-20 | ~10-20 | 未知 |
|          |      | 分析    | 序列变异  | ~25-35 | ~25-35 | ~10-20 |    |

注：对女性携带者的抗肌萎缩蛋白基因突变情况的研究较少，目前文献中仅假定其突变分布情况类似男性患儿。

### 7.2.3. 基因诊断方法

2010年, 29位来自欧洲、美国及澳大利亚等地学者制定了关于DMD/BMD分子生物学诊断指南(图7-5)<sup>[4]</sup>。指南中建议, 具有临床特征、CK显著升高的男孩, 为Dystrophin相关疾病疑诊病例。

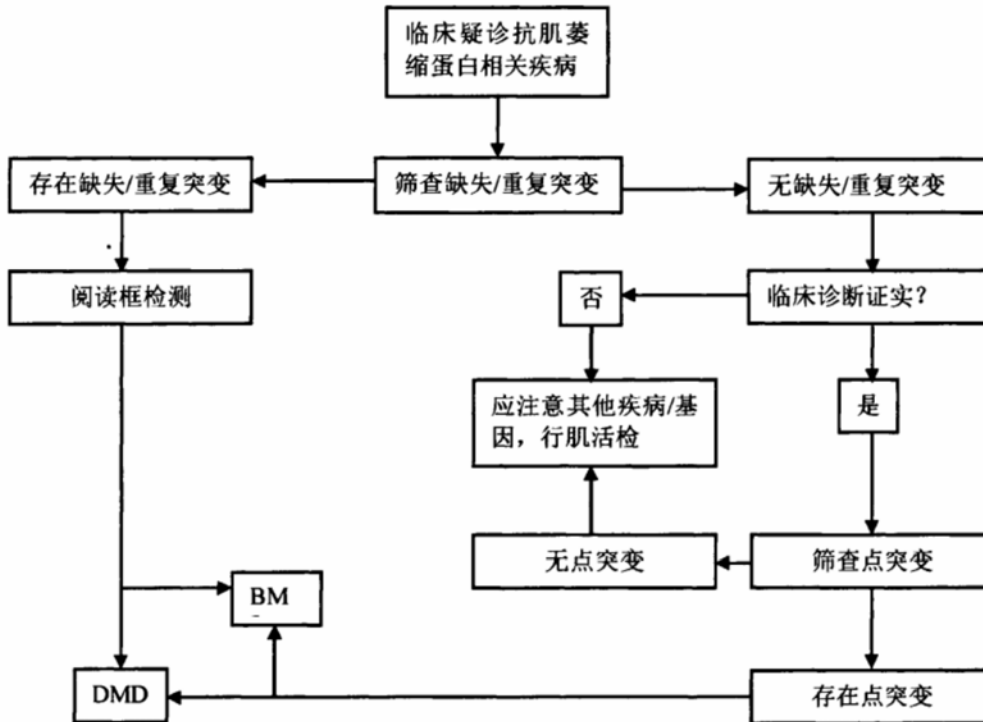


图 7-5. DMD/BMD 分子生物学诊断流程。

疑诊病例首选检测最常见的外显子缺失/重复突变。多重 PCR 技术可用于检测缺失突变, 但目前已逐渐被一些定量技术取代, 因其不仅可检测患者所有缺失和重复, 同时可检测携带者基因拷贝数异常。常用如定量 PCR、Southern 印迹杂交及微阵列-比较基因组杂交技术, 而目前应用最广泛的是多重连接依赖探针扩增技术 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)。MLPA 是一种多重 PCR 技术, 应用一对 PCR 引物, 扩增多个核苷酸序列。扩增产物经电泳分离后, 通过与参考序列比较, 反映患者靶序列相对拷贝数。

致病基因缺失/重复分析无异的患者，如临床表现、家族史等特征支持 Dystrophin 相关疾病，应进一步寻找微小突变，目前基因测序已成为首选，可发现微小缺失/重复或单个碱基改变。

基因检测到明确致病突变，即可在分子生物学上确诊 Dystrophin 相关疾病，但因仍有 2% 复杂基因重组，及内含子序列变异，无法经 DNA 测序技术检测到，基因检测结果阴性，不能完全排除诊断。必要时需骨骼肌活检，通过蛋白印迹或免疫组织化学检测了解抗肌萎缩蛋白改变情况。此外，由于 DMD/BMD 和一些肢带型肌营养不良（Limb-Girdle Muscular Dystrophies, LGMDs）在临床表现上有相似之处，临床上可在行病理检查前，首选完善 LGMD 基因检查。

#### 7.2.4. 基因突变类型与表现型关系

通过检测 Dystrophin 基因致病突变，可在分子生物学水平上确诊 Dystrophin 相关疾病。接下来需进一步通过突变类型，鉴别 DMD 和 BMD，及评价病情严重程度。

##### 阅读框法则

绝大部分患者基因型与表现型关系符合 Monaco 等<sup>[37]</sup>提出的阅读框法则，即如果突变后分子重排产生移码突变，致整个阅读框发生变化，出现新的终止密码，使蛋白翻译过程提前结束，产生截短的无功能蛋白，则临床表型为 DMD。如分子重排以整码形式移位，阅读框不变，产生蛋白仅长度改变，而主要功能区域未改变，临床表现为 BMD。以此法则预测患者临床表现型，准确性约 91-92%<sup>[38]</sup>。因此大多数病例不需经肌活检鉴别 DMD/BMD。

但仍有少部分例外。Aartsma-Rus 等<sup>[32]</sup>对 4700 例基因分析表明，9% 患者临床表型不符合此法则，其中基因型为整码突变而临床表型为 DMD 患者约占 DMD 患者总数的 7%，基因型为移码突变而临床表型为 BMD 患者约占 2%。考虑可能与外显子跳跃及突变的位置、片段大小有关。

##### 外显子跳跃

基因型为移码突变而临床表现较轻微的机制可能与此相关。外显子跳跃的机制不甚清楚，可能与多种因素相关。部分肌纤维内发生外显子跳跃事件可在



约 50%的 DMD 患者中见到<sup>[39, 40]</sup>。自发的外显子跳跃,使部分肌肉细胞因外显子异位剪接而回复为整码突变,可产生具有部分功能的抗肌萎缩蛋白。因此临床表现较轻微<sup>[41]</sup>。

### 突变位置和片段大小

基因型为整码突变而临床表型为 DMD 的机制可能与此相关。此类患者多突变范围较大,或突变位置对维持蛋白功能至关重要。

据研究,①发生在外显子 2-8(肌动蛋白结合域)的整码缺失会导致临床表现较重的 BMD<sup>[42]</sup>,而肌动蛋白结合域和部分中央棒状区联合缺失通常导致 DMD<sup>[43, 44]</sup>。此现象可解释为,中央棒状区存有肌动蛋白结合域<sup>[45]</sup>,仅前三个肌动蛋白结合域缺失时,位于中央棒状区的肌动蛋白结合域可代偿,因此临床表现为症状较重的 BMD,而四个肌动蛋白结合域均缺失则导致 DMD<sup>[46]</sup>。②中央棒状区第一部分缺失的患者,临床无明显症状或仅表现为血清 CK 水平升高、肌肉痉挛等。中央棒状区多达 35 个外显子整码缺失的患者,临床仍表现为较轻的 BMD。而更大的缺失通常表现为 DMD,提示要合成有功能的抗肌萎缩蛋白,至少需一小部分中央棒状区参与<sup>[43, 47]</sup>。棒状区内包含第三疏水铰链区的缺失突变与未累及此区域的突变相比,通常症状较重,因此铰链区有较重要功能<sup>[48]</sup>。③半胱氨酸富含区缺失的患者均表现为 DMD,提示此区域对抗肌萎缩蛋白发挥功能至关重要<sup>[46, 49]</sup>。④Syntrophin 蛋白结合域(外显子 71-74)的基因缺失通常表现为 BMD,而突变发生于外显子 74 及其远端的外显子时,临床可表现为 BMD/DMD(图 7-4B)<sup>[32]</sup>。

Dystrophin 基因突变多样,基因型与表现型影响因素较多,大多数患者符合阅读框法则,但因受外显子跳跃、突变位置、大小等因素影响,仍有部分例外,且不同个体间仍有差异,甚至同一家系中的不同个体,其临床表现型也不完全相同<sup>[41]</sup>。然而,绝大部分“例外”情况为在 DNA 水平上不符合阅读框法则,而在 RNA 水平上是符合阅读框法则的。据统计,从 RNA 水平上评估,99.5%的病例符合阅读框法则<sup>[32]</sup>。因此,建议在技术允许情况下,在 RNA 水平上应用阅读框法则对表现型进行分析。

### 7.3.呼吸管理与评价

DMD 尚无治愈方法，基因治疗仍处在试验阶段<sup>[50]</sup>。因此，针对此病的对症管理十分重要。2010 年美国疾病预防控制中心邀请 Bushby 等 84 位学者，逐步建立及完善本病在呼吸功能、心功能、康复、矫形、营养支持、语言/吞咽功能、激素治疗等多学科协作管理体系<sup>[51,52]</sup>。其中呼吸并发症备受关注，因呼吸并发症在患儿中普遍存在，随年龄增长逐渐恶化，导致患儿憋气、睡眠不安、反复呼吸道感染等，严重影响生活质量。此外呼吸功能不全也是 DMD 患儿首要死因。

自 1990 年后，各种辅助呼吸支持开始广泛应用于 DMD 患儿，使患儿生存时间明显延长。2012 年，Rall 等对出生于 1970-1980 年的 94 例 DMD 患儿进行回顾性分析得出，呼吸并发症管理是延长 DMD 患儿生存时间最有效方法<sup>[53]</sup>。2004 年美国胸科协会（American Thoracic Society,ATS）已制定针对 DMD 患儿的呼吸管理指南，提出了本病规范的呼吸功能监测和干预方法<sup>[54]</sup>。国内极少人关注 DMD 患儿的呼吸并发症，本文对国外 DMD 患儿呼吸管理进展进行综述。

#### 7.3.1.DMD 患儿呼吸并发症的发病机制

目前认为 DMD 患儿呼吸并发症包括：咳嗽无力，睡眠相关呼吸问题（sleep-related breathing disorder,SRBD），如夜间低通气、阻塞性睡眠呼吸暂停（obstructive sleep apnoea,OSA）等，病程晚期患儿均存在不同程度的呼吸功能不全<sup>[55]</sup>。

DMD 患儿合并呼吸并发症，首先，是因呼吸肌力下降<sup>[56]</sup>。在 10 岁前，因骨骼等组织生长较快，患儿肺活量可逐年增加，10 岁后经历一段平台期，胸廓等结构渐趋稳定，呼吸肌力仍进行性下降，致肺功能出现恶化趋势（图 7-6）<sup>[57-59]</sup>。其次，由于患儿存在脊柱侧弯<sup>[60]</sup>，胸廓肌肉组织纤维化、硬化<sup>[61]</sup>、微小肺不张<sup>[62]</sup>等，导致呼吸系统顺应性下降，也会不同程度影响肺功能。

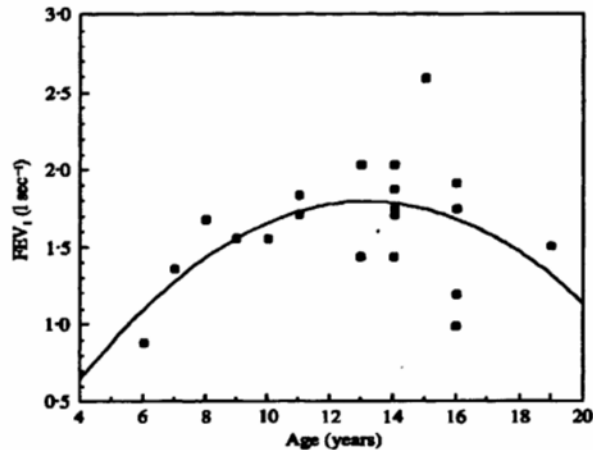


图 7-6. Tangsrud 等<sup>[59]</sup>对 25 例 DMD 患儿第一秒用力呼气容积(Forced expiratory volume in one second, FEV<sub>1</sub>)随年龄变化趋势进行研究: 图中横轴为年龄, 纵轴为 FEV<sub>1</sub>, 10 岁前患儿 FEV<sub>1</sub> 逐年增加, 10 岁后经历一段平台期, FEV<sub>1</sub> 逐年下降。

咳嗽无力为 DMD 患儿常见呼吸系统并发症。通常咳嗽分为: (刺激)-吸气相-收缩期-排出期, 患儿呼吸肌力及胸廓顺应性降低, 影响咳嗽收缩期和排出期, 导致呼气峰流速不足。合并呼吸道感染时, 不能通过咳嗽有效将分泌物排出, 分泌物粘滞、气道阻力上升, 感染进一步恶化, 出现肺炎、肺不张, 并导致严重呼吸衰竭或死亡<sup>[63, 64]</sup>。

睡眠相关呼吸问题 (SRBD) 在 DMD 患儿中占相当比重, 因患儿出现通气不足, 首先表现在睡眠中。睡眠尤其是快动眼 (REM) 睡眠, 中枢神经系统输出信号减少, 当合并吸气肌无力, 易导致二氧化碳分压升高和中枢性呼吸暂停; 且睡眠 (REM 睡眠期明显) 中, 咽扩张肌 (包括颏舌肌及腭帆张肌) 张力显著降低, 上气道萎陷, 易闭合, 阻塞风险增高。因此在 DMD 患儿睡眠 (REM 睡眠为主) 中, 中枢及阻塞型呼吸暂停事件均较常见, 并导致血氧饱和度降低<sup>[65-67]</sup>。Yasmin 等<sup>[68]</sup>对 21 例 DMD 患儿 SRBD 进行研究显示, REM 睡眠期平均血氧降低 6 次/小时, 而非 REM 睡眠期平均血氧降低 1 次/小时 (图 7-7)。此外, SRBD 造成的高碳酸血症和低氧血症可加快心肺功能恶化<sup>[63]</sup>, 应及时治疗。

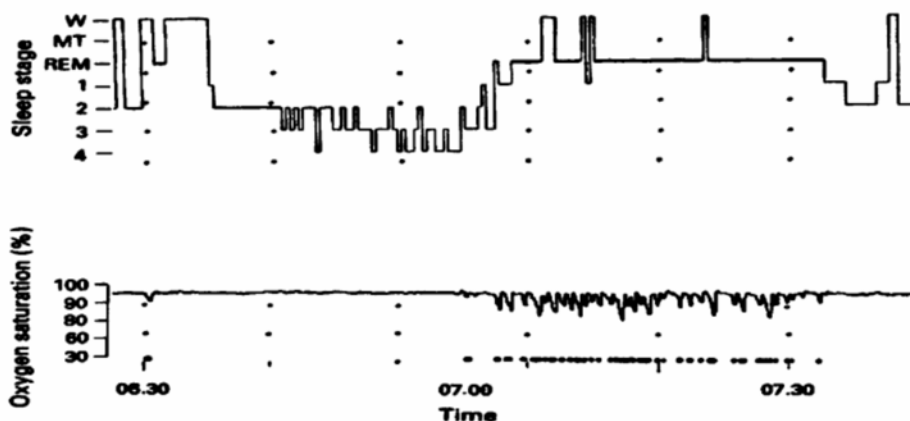


图 7-7. 示 1 例 16 岁 DMD 患儿睡眠监测 6.5 到 7.5 小时阶段：REM 睡眠期血氧频繁下降。

### 7.3.2. 呼吸功能相关评价

#### 呼吸功能评价

首先，定期评价可及时发现呼吸功能障碍。在临床症状出现前，患儿已存不同程度呼吸功能下降，但易被忽视，最终导致重症肺炎、肺不张，甚至出现呼吸衰竭危及生命<sup>[69]</sup>。而定期评估并及时治疗，可减轻呼吸肌负担，减缓呼吸功能恶化进程，预防严重呼吸并发症发生。其次，呼吸功能受损程度和血气情况，与呼吸并发症发病率和致死率相关。Phillips 等<sup>[70]</sup>对应用肺功能评价 DMD 患儿预后的作用进行研究显示，当用力肺活量（forced vital capacity, FVC）小于 1L，中位生存时间仅 3.1 年，5 年生存时间仅 8%。目前，FVC 小于 1L 依然是提示 DMD 患儿预后不良的最佳标志<sup>[54]</sup>。

ATS 在 2004 年制定了 DMD 患儿呼吸管理指南，建议不同疾病阶段患儿接受呼吸功能监测<sup>[54,55]</sup>：病程初期（4-6 岁）应行基本肺功能检查，以熟悉检查方法，获取呼吸功能检查基线，同时接受 DMD 呼吸并发症预防和治疗相关指导；而丧失行走能力后、FVC<80%预计值、接受辅助气道清理或机械通气支持的患儿，需定期到呼吸科随访。

每次呼吸功能评估内容应包括详尽的病史、查体及实验室检查。询问病史应包括与低通气、咳嗽功能、呼吸道感染等相关的问题。肺功能评估应包括：

①呼吸肌力检查: FVC、FEV1、最大中期呼气流速<sup>[57]</sup>、最大吸气压力 (maximum inspiratory pressure, MIP), 最大呼气压力 (maximum expiratory pressures, MEP)、咳嗽峰流速 (peak cough flow, PCF) 等<sup>[63]</sup>。PCF (正常值 360-960L/min) 在 DMD 患儿呼吸功能监测中较为重要<sup>[71]</sup>, 因其与呼吸道清除分泌物能力直接相关<sup>[72]</sup>, Bach 等<sup>[63]</sup>将 PCF 值 270L/min 作为 DMD 病人是否需要器械辅助咳嗽的标准。另一项研究发现确保咳嗽有效的指标为最大呼气压力 (MEP)  $\geq 60\text{cmH}_2\text{O}$ <sup>[64]</sup>。②血氧饱和度监测: 一般采用脉搏血氧测定法检测, 血氧饱和度降低可提示低通气或肺不张<sup>[73]</sup>。③二氧化碳水平监测: 动脉血气分析是最准确方法, 但操作困难, 患儿痛苦大, 不是 DMD 患儿随访的常规检查。潮气末 CO<sub>2</sub> 测定是一种简单且较准确的可反应动脉血 CO<sub>2</sub> 分压的方法, 经皮 CO<sub>2</sub> 测定在儿童中依从性较好<sup>[73]</sup>。

#### DMD 患儿的睡眠评估

SRBD 在此患儿中占相当比重, 且不同年龄组患儿睡眠问题存在差异。目前尚无大样本横断面或纵向研究对其发病率、致死率进行统计, 但据现有数据估计, 明显高于正常人群中发病率 (2%)。Suresh 等<sup>[74]</sup>对 34 例 DMD 患儿 (1-15 岁) 进行研究显示, 存在 SRBD 患儿占 56%, 其中阻塞性呼吸暂停占 30%, 发病率比正常儿童 (2-3%) 高 10 倍左右, 且绝大部分为小年龄组患儿 (中位年龄 8 岁)。这些儿童起初出现阻塞性呼吸暂停, 可无明显低通气症状。随年龄增长, 患儿低通气问题进行性恶化。

因此, SRBD 应引起临床高度重视。在 DMD 患儿复诊时, 应仔细询问是否存在睡眠片段化、多梦、夜间盗汗、白天嗜睡、晨起头痛、注意力差及情绪异常等症状, 并参考肺功能结果, 了解睡眠情况。但症状和肺功能情况预测 SRBD 的价值仍存在争议。Barbé 等<sup>[75]</sup>对 6 例 DMD 患儿 (年龄 12-22 岁) 进行研究, 结果示 SRBD 相关症状, 及 FEV1/FVC 比值, 均与睡眠呼吸暂停低通气指数 (apnea hypopnea index, AHI) 相关。但 Smith<sup>[76]</sup>及 Suresh<sup>[77]</sup>等分别对 14 例 (年龄 15-22 岁)、34 例 (1-15 岁) 患儿进行研究, 结果均提示根据临床症状、肺功能检查结果预测 SRBD 不甚可靠。

2011 年, Aurora 等<sup>[78]</sup>对儿童应用多导睡眠监测 (PSG) 检查指征进行系统

综述：推荐（Guideline）神经肌肉病如 DMD 患儿应用 PSG 监测 SRBD。但目前尚未确定 DMD 患儿行 PSG 的恰当时机。Hukins 等<sup>[79]</sup>认为，觉醒二氧化碳分压  $\geq 45\text{mmHg}$  和碱剩余  $\geq 4\text{mmol/L}$  与睡眠低通气相关。ATS 关于 DMD 患儿呼吸管理的指南中建议，如有条件，DMD 患儿应每年行 PSG 和持续  $\text{CO}_2$  浓度监测。无条件可用整夜脉搏血氧监测、持续  $\text{CO}_2$  监测、晨起末梢血血气分析替代，了解夜间气体交换情况<sup>[54]</sup>。

### 其他相关检查

患者除进行呼吸功能及 SRBD 评价外，还应关注其他系统情况。因此病所致多种并发症均影响患儿呼吸功能。如激素治疗、吞咽困难等导致的肥胖、营养不良，在 DMD 患儿中很常见，均对呼吸功能不利<sup>[54]</sup>。脊柱侧弯也可加重限制性通气功能障碍，Tangsrud 等<sup>[59]</sup>对 25 例存脊柱侧弯的 DMD 患儿（平均年龄 13 岁）进行研究显示：脊柱侧弯与用力肺活量（forced vital capacity, FVC）/预计值、FEV1/预计值均显著相关（ $r=-0.54$ ,  $p=0.006$ ,  $r=-0.58$ ,  $p=0.008$ ）。Muzaffer 等<sup>[80]</sup>对 DMD 患儿行 PSG 检查显示：存在脊柱侧弯的患儿，觉醒指数增高，睡眠效率降低，REM 睡眠时间减少，与不存在脊柱侧弯的患儿相比，差异均有统计学意义。心血管系统受累为 DMD 患儿常见并发症，扩张性心肌病累及左室，可致呼吸困难及其他充血性心衰症状<sup>[81]</sup>。心功能状况与呼吸功能密切相关，因此，对患儿心功能、营养、吞咽等多方面进行管理，有助于全面保护呼吸功能。

### 7.3.3.DMD 患儿的呼吸管理

#### 气道清理

对于咳嗽无力的 DMD 患儿，有时单纯气道清理可防止急性呼吸衰竭发生<sup>[82]</sup>。目前有多种无创辅助咳嗽方法<sup>[82]</sup>。

①肺容量补偿（lung volume recruitment, LVR）：是咳嗽吸气相的辅助措施。可增加肺容量，提高咳嗽效果，同时增加机械顺应性，减少肺不张，降低呼吸做功。

②手动辅助咳嗽（manually assisted coughing, MAC）：是咳嗽收缩期和排出期的辅助措施。常用方法如，在患儿仍存部分咳嗽能力时，通过按压上腹或胸

廓增加呼气量。

③机械辅助咳痰 (mechanical insufflation-exsufflation, MIE): 也称咳痰机, LVR 和 MAC 无法使 PCF 提高至 270L/min 以上时, 可选用 MIE, 协助松解黏稠分泌物。具体原理为: 首先向气道提供 1 次正压通气扩张肺, 后快速转变为负压, 模拟产生来自肺部的呼气流速, 即一次主动的呼气, 有效带动分泌物排出。MIE 在提高 PCF 方面的作用, 明显优于 LVR、MAC 等方式<sup>[83]</sup>。尤其是那些存在脊柱侧突, 无法行 MAC 的患者, MIE 耐受性很好。对于已行气管插管的 DMD 患儿, MIE 在清除外周气道分泌物、避免黏膜损伤, 提高病人舒适度等方面, 均优于传统的吸痰术<sup>[84]</sup>。

### 呼吸肌训练

呼吸肌训练是通过提高呼吸肌肌力和耐力, 保护肺功能。文献报道 DMD 患儿接受呼吸肌训练后效果不同, 一些研究认为训练可使呼吸功能得到实质改善, 另一些证明呼吸功能无明显变化<sup>[85-87]</sup>。Sander 等<sup>[88]</sup>认为, 肌肉运动后会释放具有保护作用的氧化亚氮, 而 DMD 患儿肌肉组织缺乏这种保护机制, 导致训练中肌肉损伤增加。所以呼吸肌训练对保护肺功能的作用仍有待进一步研究<sup>[54]</sup>。

### 辅助通气支持

目前, 多种辅助通气支持已成功应用于呼吸功能下降的 DMD 患儿。短期内, 通气支持可改善患儿睡眠质量及低通气状况。Barbe 等<sup>[89]</sup>对一组 DMD 患儿 (接受通气支持治疗平均时间 18±2 个月) 接受治疗前后行对照研究: 患儿接受治疗后, AHI 由 22±6 降至 1±1 ( $p < 0.05$ ), 睡眠效率由 59±8% 增至 83±5% ( $p < 0.05$ ), 整夜睡眠中, 血氧饱和度 < 90% 的时间由 160±53 min 降至 8±4 min ( $p < 0.05$ )。夜间平均血氧饱和度 (由 88±3 增至 95±1%;  $p < 0.05$ ) 及夜间最低血氧饱和度 (由 67±5 增至 89±1%;  $p < 0.001$ ) 也得到明显改善。

长期随访显示, 通气支持可显著提高患儿生存时间。Rall 等<sup>[53]</sup>对 94 例 DMD 患儿进行回顾性分析得出, 接受通气支持的患儿中位生存时间为 27 岁 (95%CI: 20.2-33.8 岁), 未接受通气支持的患儿中位生存时间仅 19 岁 (95%CI: 17.7-20.3 岁)。2 组患儿生存率 Kaplan-Meier's 曲线如图 7-8 所示, 采用 log-rank 检验对两组生

存率比较, 差异有显著性 ( $p < 0.001$ )。Konagaya等<sup>[90]</sup>对157名DMD患儿进行长期随访显示, 接受通气支持治疗后DMD患儿主要死因出现明显改变: 死于呼吸衰竭比例显著降低, 由59.5%降至3.5%。

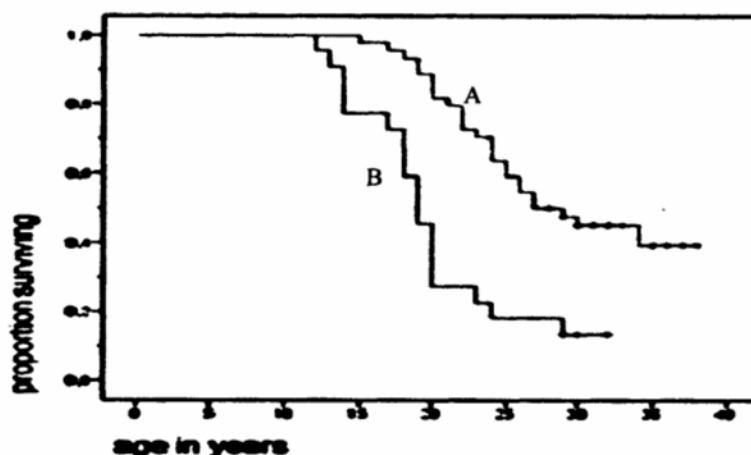


图7-8. 接受通气支持与未接受通气支持患儿生存率Kaplan-Meier's曲线。A为接受通气支持组, B为未接受通气支持组。

#### ①无创夜间辅助通气

DMD患儿合并呼吸并发症通常首先出现在夜间, 首选具有双水平气道正压发生器的夜间经鼻间歇正压通气仪(nasal intermittent positive pressure ventilation, NIPPV), <sup>[91]</sup>。但在应用前, 建议充分行肺容量补充和辅助咳嗽。应用NIPPV也存在一些副作用, 如眼睛干涩, 结膜炎, 皮肤溃疡, 鼻塞, 胃胀, 呕吐等。面部并发症可通过定期调整面罩舒适程度避免; 经鼻应用类固醇激素或湿化气道可缓解鼻塞症状。值得注意的是, 一些敏感患儿在撤离面罩后可立即出现严重低氧血症和高碳酸血症, 而绝大部分双水平器械无内设报警装置, 因此附加监测(如脉搏血氧测定)十分必要<sup>[54]</sup>。

除NIPPV外, 其余方法在DMD患儿中应用较少。经鼻持续正压通气

(continuous positive airway pressure, CPAP) 仅在患OSA但夜间通气正常的患儿中应用。负压通气应用须谨慎, 因存在上气道梗阻和低氧血症的风险, 可能与



吸气和声带外展不能同步进行有关<sup>[92, 93]</sup>。

### ②日间无创辅助通气

随病程进展，DMD患儿恶化为持续通气不足，需24小时辅助通气支持。传统方法对此类病人应用气管插管辅助通气，但目前认为也可通过无创方法实现通气支持。

最常用的无创通气方式为经口间歇正压通气。病人将定置接口置于双唇之间，有规律地吸入气体，另一端固定在轮椅上，并连接通气装置<sup>[94]</sup>。这种方法已在平均FVC值0.6L（5%预计值）的DMD患者中成功应用8年余<sup>[95]</sup>。经口通气耐受性较好，不影响进食及语言功能。

此外，还有一些其他的日间无创辅助通气方法。如通过舌咽呼吸，将小气体团“吞入”肺内，“吞咽”6次或更多而诱发潮式呼吸。此方法可用于短期脱离机械通气，在通气机故障时有一定作用<sup>[95]</sup>。另外，可采用间断腹压通气机，即病人取坐位，将可膨胀气囊放在腹部，气囊与可携带通气机相连，气囊充气时，强迫产生呼气，随后因膈肌被动下降，胸廓外展而使吸气发生。这种方法在合并脊柱侧弯或肥胖的病人中不适用<sup>[96, 97]</sup>。

### ③持续有创通气

当患者不能耐受其他类型接口时，可行持续气管插管通气支持。气管插管的优点在于，固定性好，对于有肺疾病或严重胸廓容量下降（如继发脊柱侧弯）的患儿，可提供更高的通气压，且在肺部感染时，可直接经气管插管吸痰<sup>[54]</sup>。它的一些弊端，在于易产生分泌物，影响吞咽功能、语言能力，气道分流增加感染风险，以及粘液栓阻塞气道的风险。因此当考虑气管插管通气支持时，应考虑病人依从性<sup>[98]</sup>。并且，在应用过程中加强护理和血氧监测。**3.3.4.其他方法**

对于DMD患儿，口服激素可增加肌肉质量，减缓肌肉退化。患儿丧失行走能力较晚，肺功能衰退也较慢<sup>[99]</sup>。此外，合并OSA的DMD患儿，行腺样体扁桃体切除术可使其睡眠状况显著改善，Suresh 等<sup>[74]</sup>对10例存在OSA的DMD患儿（年龄1-14岁，中位年龄8岁）行手术治疗，术后无并发症出现，术后10个月有6人复查PSG，最低血氧饱和度（由术前84.2%增至术后的89.5%， $p=0.02$ ）明显改

善, AHI、二氧化碳分压、睡眠效率等均不同程度改善<sup>[74]</sup>。但对合并脊柱侧弯的患儿行脊柱固定术, 仅能改善患儿生活质量, 对肺功能无显著改善作用, Miller等<sup>[100]</sup>对21名存脊柱侧弯的DMD患儿行手术治疗, 术后10-74个月内复查肺功能检查, 与未行手术治疗的患儿相比, 肺功能恶化速度无显著差异。

### 机械通气的预防作用

以上所述证实机械通气可改善通气状况, 但目前尚无数据显示机械通气对DMD患儿呼吸功能下降的预防作用。一项多中心前瞻性对照研究中, 一组DMD患儿, 其血二氧化碳浓度正常, FVC在预计值20-50%之间, 随机接受大于6小时的夜间无创通气或不接受通气支持。接受“预防性”通气支持的受试者生存时间降低。因此DMD患儿预防性应用通气支持需慎重。据推测, 预防性应用辅助通气过程中, 疏于监测与应用通气支持后死亡率增高有关<sup>[101]</sup>。

### 附: DMD患儿接受不同辅助通气支持指征<sup>[54]</sup>:

1. 出现以下情况时, 建议给予夜间通气支持:

1.1. 低通气症状或体征 (FVC<30%预计值时为高危)

1.2. 肺功能监测示以下情况之一: ①脉搏血氧测定法基线血氧饱和度<95%, ②清醒时血二氧化碳分压>45mmHg, ③清醒时潮气末二氧化碳分压>45mmHg。

2.3. 多导睡眠监测示以下情况之一: ①呼吸暂停低通气指数 (AHI) >10次/小时, ②SPO<sub>2</sub>低于92%发作频率≥4次/小时, ③SpO<sub>2</sub>下降≥4%出现频率≥4次/小时。

此外, 建议在应用无创通气前, 须充分行肺容量补充和辅助咳嗽。

2. 对已应用夜间辅助通气的患儿, 在以下情况时可应用日间无创通气:

① 自行将夜间通气支持延长至清醒后数小时

② 因呼吸困难导致吞咽异常, 并且可通过辅助通气缓解

③ 因气喘不能说成句话

④ 存在低通气症状, 并且合并以下情况之一: ①基线血氧饱和度<95%, ②清醒时血二氧化碳分压>45mmHg, ③清醒时潮气末二氧化碳分压>45mmHg。

此外, 因急性感染或麻醉行气管插管的患儿, 拔管后可应用持续无创通气(同

时进行MAC) 辅助, 如果情况允许, 可进一步降为夜间无创通气支持。

### 3. 气管插管指征:

3.1. 病人或医生要求

3.2. 患儿应用无创通气失败

3.3. 当地医疗条件有限, 无法开展无创通气

3.4. 在充分应用无创通气和MAC情况下, 3次试验性拔管失败。

3.5. 通过无创辅助咳嗽方法, 不能使深部分泌物充分排出, 血氧饱和度降至95%以下, 需频繁经气管插管口吸痰。

## 参考文献:

- [1]. Bushby, K.M., M. Thambyayah and D. Gardner-Medwin, Prevalence and incidence of Becker muscular dystrophy. *Lancet*, 1991. 337(8748): p. 1022-4.
- [2]. Emery, A.E., The muscular dystrophies. *Lancet*, 2002. 359(9307): p. 687-95.
- [3]. Lidov, H.G., et al., Localization of dystrophin to postsynaptic regions of central nervous system cortical neurons. *Nature*, 1990. 348(6303): p. 725-8.
- [4]. Abbs, S., et al., Best practice guidelines on molecular diagnostics in Duchenne/Becker muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord*, 2010. 20(6): p. 422-7.
- [5]. Emery AEH, M.F., Duchenne muscular dystrophy. 2003, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press.
- [6]. Zalaudek, I., et al., Early diagnosis in Duchenne muscular dystrophy. *Lancet*, 1999. 353(9168): p. 1975.
- [7]. Bushby, K.M., The limb-girdle muscular dystrophies-multiple genes, multiple mechanisms. *Hum Mol Genet*, 1999. 8(10): p. 1875-82.
- [8]. Tangsrud, S., et al., Lung function in children with Duchenne's muscular dystrophy. *Respir Med*, 2001. 95(11): p. 898-903.
- [9]. Rideau, Y., L.W. Jankowski and J. Grellet, Respiratory function in the muscular dystrophies. *Muscle Nerve*, 1981. 4(2): p. 155-64.

- [10]. Hahn, A., et al., Clinical implications of maximal respiratory pressure determinations for individuals with Duchenne muscular dystrophy. *Arch Phys Med Rehabil*, 1997. 78(1): p. 1-6.
- [11]. Nigro, G., et al., The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. *Int J Cardiol*, 1990. 26(3): p. 271-7.
- [12]. Darras BT, M.D.U.D., *Dystrophinopathies*. Gene Reviews. 2011.
- [13]. Wu, J.Y., et al., Association of Duchenne muscular dystrophy with autism spectrum disorder. *J Child Neurol*, 2005. 20(10): p. 790-5.
- [14]. Hendriksen, J.G. and J.S. Vles, Neuropsychiatric disorders in males with duchenne muscular dystrophy: frequency rate of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder, and obsessive--compulsive disorder. *J Child Neurol*, 2008. 23(5): p. 477-81.
- [15]. BECKER, P.E. and F. KIENER, [A new x-chromosomal muscular dystrophy]. *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr*, 1955. 193(4): p. 427-48.
- [16]. BECKER, P.E., Two families of benign sex-linked recessive muscular dystrophy. *Rev Can Biol*, 1962. 21: p. 551-66.
- [17]. Hoogerwaard, E.M., et al., Cardiac involvement in carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 1999. 9(5): p. 347-51.
- [18]. Cox, G.F. and L.M. Kunkel, Dystrophies and heart disease. *Curr Opin Cardiol*, 1997. 12(3): p. 329-43.
- [19]. Hoogerwaard, E.M., et al., Signs and symptoms of Duchenne muscular dystrophy and Becker muscular dystrophy among carriers in The Netherlands: a cohort study. *Lancet*, 1999. 353(9170): p. 2116-9.
- [20]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*, 2010. 9(1): p. 77-93.
- [21]. Hoogerwaard, E.M., et al., Dystrophin analysis in carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neurology*, 2005. 65(12): p. 1984-6.
- [22]. Nakae, Y., et al., Early onset of lipofuscin accumulation in

dystrophin-deficient skeletal muscles of DMD patients and mdx mice. *J Mol Histol*, 2004. 35(5): p. 489-99.

[23]. Schwartz, M. and M. Duno, Multiplex ligation-dependent probe amplification is superior for detecting deletions/duplications in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet*, 2005. 67(2): p. 189-91.

[24]. Griggs, R.C. and K. Bushby, Continued need for caution in the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*, 2005. 64(9): p. 1498-9.

[25]. Daftary, A.S., et al., Effect of long-term steroids on cough efficiency and respiratory muscle strength in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Pediatrics*, 2007. 119(2): p. e320-4.

[26]. Sumita, D.R., et al., Absence of correlation between skewed X inactivation in blood and serum creatine-kinase levels in Duchenne/Becker female carriers. *Am J Med Genet*, 1998. 80(4): p. 356-61.

[27]. Cunniff, C., et al., Mutation analysis in a population-based cohort of boys with Duchenne or Becker muscular dystrophy. *J Child Neurol*, 2009. 24(4): p. 425-30.

[28]. Lander, E.S., et al., Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 2001. 409(6822): p. 860-921.

[29]. Ferlini, A., M. Neri and F. Gualandi, The medical genetics of dystrophinopathies: molecular genetic diagnosis and its impact on clinical practice. *Neuromuscul Disord*, 2013. 23(1): p. 4-14.

[30]. Muntoni, F., S. Torelli and A. Ferlini, Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol*, 2003. 2(12): p. 731-40.

[31]. Torelli, S., et al., Expression, regulation and localisation of dystrophin isoforms in human foetal skeletal and cardiac muscle. *Neuromuscul Disord*, 1999. 9(8): p. 541-51.

[32]. Aartsma-Rus, A., et al., Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule. *Muscle Nerve*, 2006. 34(2): p. 135-44.

[33]. Koenig, M., A.P. Monaco and L.M. Kunkel, The complete sequence of

- dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell*, 1988. 53(2): p. 219-28.
- [34]. Hoffman, E.P., R.J. Brown and L.M. Kunkel, Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*, 1987. 51(6): p. 919-28.
- [35]. Petrof, B.J., Molecular pathophysiology of myofiber injury in deficiencies of the dystrophin-glycoprotein complex. *Am J Phys Med Rehabil*, 2002. 81(11 Suppl): p. S162-74.
- [36]. Rando, T.A., The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of cell survival in the muscular dystrophies. *Muscle Nerve*, 2001. 24(12): p. 1575-94.
- [37]. Monaco, A.P., et al., An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics*, 1988. 2(1): p. 90-5.
- [38]. Zhou, G.Q., et al., Current understanding of dystrophin-related muscular dystrophy and therapeutic challenges ahead. *Chin Med J (Engl)*, 2006. 119(16): p. 1381-91.
- [39]. Prior, T.W., et al., Dystrophin expression in a Duchenne muscular dystrophy patient with a frame shift deletion. *Neurology*, 1997. 48(2): p. 486-8.
- [40]. Sherratt, T.G., et al., Exon skipping and translation in patients with frameshift deletions in the dystrophin gene. *Am J Hum Genet*, 1993. 53(5): p. 1007-15.
- [41]. Ginjaar, I.B., et al., Dystrophin nonsense mutation induces different levels of exon 29 skipping and leads to variable phenotypes within one BMD family. *Eur J Hum Genet*, 2000. 8(10): p. 793-6.
- [42]. Novakovic, I., et al., Proximal dystrophin gene deletions and protein alterations in becker muscular dystrophy. *Ann N Y Acad Sci*, 2005. 1048: p. 406-10.
- [43]. Fanin, M., et al., Duchenne phenotype with in-frame deletion removing major portion of dystrophin rod: threshold effect for deletion size? *Muscle Nerve*, 1996. 19(9): p. 1154-60.
- [44]. Vainzof, M., et al., Intrafamilial variability in dystrophin abundance correlated with difference in the severity of the phenotype. *J Neurol Sci*, 1993. 119(1): p. 38-42.

- [45]. Rybakova, I.N., K.J. Amann and J.M. Ervasti, A new model for the interaction of dystrophin with F-actin. *J Cell Biol*, 1996. 135(3): p. 661-72.
- [46]. Rafael, J.A., et al., Forced expression of dystrophin deletion constructs reveals structure-function correlations. *J Cell Biol*, 1996. 134(1): p. 93-102.
- [47]. England, S.B., et al., Very mild muscular dystrophy associated with the deletion of 46% of dystrophin. *Nature*, 1990. 343(6254): p. 180-2.
- [48]. Carsana, A., et al., Analysis of dystrophin gene deletions indicates that the hinge III region of the protein correlates with disease severity. *Ann Hum Genet*, 2005. 69(Pt 3): p. 253-9.
- [49]. Bies, R.D., C.T. Caskey and R. Fenwick, An intact cysteine-rich domain is required for dystrophin function. *J Clin Invest*, 1992. 90(2): p. 666-72.
- [50]. Muntoni, F. and D. Wells, Genetic treatments in muscular dystrophies. *Curr Opin Neurol*, 2007. 20(5): p. 590-4.
- [51]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*, 2010. 9(1): p. 77-93.
- [52]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol*, 2010. 9(2): p. 177-89.
- [53]. Rall, S. and T. Grimm, Survival in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*, 2012. 31(2): p. 117-20.
- [54]. Finder, J.D., et al., Respiratory care of the patient with Duchenne muscular dystrophy: ATS consensus statement. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004. 170(4): p. 456-65.
- [55]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol*, 2010. 9(2): p. 177-89.
- [56]. McDonald, C.M., et al., Profiles of neuromuscular diseases. Duchenne muscular dystrophy. *Am J Phys Med Rehabil*, 1995. 74(5 Suppl): p. S70-92.
- [57]. Phillips, M.F., et al., Changes in spirometry over time as a prognostic marker

in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 164(12): p. 2191-4.

[58]. Jenkins, J.G., et al., Evaluation of pulmonary function in muscular dystrophy patients requiring spinal surgery. *Crit Care Med*, 1982. 10(10): p. 645-9.

[59]. Tangsrud, S., et al., Lung function in children with Duchenne's muscular dystrophy. *Respir Med*, 2001. 95(11): p. 898-903.

[60]. Kurz, L.T., et al., Correlation of scoliosis and pulmonary function in Duchenne muscular dystrophy. *J Pediatr Orthop*, 1983. 3(3): p. 347-53.

[61]. Estenne, M., et al., Chest wall stiffness in patients with chronic respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis*, 1983. 128(6): p. 1002-7.

[62]. Gibson, G.J., et al., Pulmonary mechanics in patients with respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis*, 1977. 115(3): p. 389-95.

[63]. Bach, J.R., Y. Ishikawa and H. Kim, Prevention of pulmonary morbidity for patients with Duchenne muscular dystrophy. *Chest*, 1997. 112(4): p. 1024-8.

[64]. Szeinberg, A., et al., Cough capacity in patients with muscular dystrophy. *Chest*, 1988. 94(6): p. 1232-5.

[65]. Smith, P.E., P.M. Calverley and R.H. Edwards, Hypoxemia during sleep in Duchenne muscular dystrophy. *Am Rev Respir Dis*, 1988. 137(4): p. 884-8.

[66]. Smith, P.E., R.H. Edwards and P.M. Calverley, Ventilation and breathing pattern during sleep in Duchenne muscular dystrophy. *Chest*, 1989. 96(6): p. 1346-51.

[67]. Phillips, M.F., et al., Nocturnal oxygenation and prognosis in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999. 160(1): p. 198-202.

[68]. Khan, Y. and J.Z. Heckmatt, Obstructive apnoeas in Duchenne muscular dystrophy. *Thorax*, 1994. 49(2): p. 157-61.

[69]. Birnkrant, D.J., The assessment and management of the respiratory complications of pediatric neuromuscular diseases. *Clin Pediatr (Phila)*, 2002. 41(5): p. 301-8.

[70]. Phillips, M.F., et al., Changes in spirometry over time as a prognostic marker in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. 164(12): p. 2191-4.



- [71]. Leith DE, B.J.S.S., Cough .In Handbook of physiology.the respiratory system, vol III.American Physiologic Society, 1990 p 315-36.
- [72]. King, M., G. Brock and C. Lundell, Clearance of mucus by simulated cough. J Appl Physiol, 1985. 58(6): p. 1776-82.
- [73]. Benditt, J.O. and L. Boitano, Respiratory support of individuals with Duchenne muscular dystrophy: toward a standard of care. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2005. 16(4): p. 1125-39, xii.
- [74]. Suresh, S., et al., Sleep-related breathing disorder in Duchenne muscular dystrophy: disease spectrum in the paediatric population. J Paediatr Child Health, 2005. 41(9-10): p. 500-3.
- [75]. Barbe, F., et al., Sleep-related respiratory disturbances in patients with Duchenne muscular dystrophy. Eur Respir J, 1994. 7(8): p. 1403-8.
- [76]. Smith, P.E., P.M. Calverley and R.H. Edwards, Hypoxemia during sleep in Duchenne muscular dystrophy. Am Rev Respir Dis, 1988. 137(4): p. 884-8.
- [77]. Suresh, S., et al., Sleep-related breathing disorder in Duchenne muscular dystrophy: disease spectrum in the paediatric population. J Paediatr Child Health, 2005. 41(9-10): p. 500-3.
- [78]. Aurora, R.N., et al., Practice parameters for the respiratory indications for polysomnography in children. Sleep, 2011. 34(3): p. 379-88.
- [79]. Hukins, C.A. and D.R. Hillman, Daytime predictors of sleep hypoventilation in Duchenne muscular dystrophy. Am J Respir Crit Care Med, 2000. 161(1): p. 166-70.
- [80]. Polat, M., et al., Assessment of sleep-related breathing disorders in patients with duchenne muscular dystrophy. J Clin Med Res, 2012. 4(5): p. 332-7.
- [81]. Finsterer, J. and C. Stollberger, The heart in human dystrophinopathies. Cardiology, 2003. 99(1): p. 1-19.
- [82]. McKim, D.A., et al., Home mechanical ventilation: a Canadian Thoracic Society clinical practice guideline. Can Respir J, 2011. 18(4): p. 197-215.
- [83]. Bach, J.R., Mechanical insufflation-exsufflation. Comparison of peak expiratory flows with manually assisted and unassisted coughing techniques. Chest,

1993. 104(5): p. 1553-62.

[84]. Bach, J.R., Update and perspective on noninvasive respiratory muscle aids. Part 2: The expiratory aids. *Chest*, 1994. 105(5): p. 1538-44.

[85]. Gozal, D. and P. Thiriet, Respiratory muscle training in neuromuscular disease: long-term effects on strength and load perception. *Med Sci Sports Exerc*, 1999. 31(11): p. 1522-7.

[86]. Matecki, S., et al., A standardized method for the evaluation of respiratory muscle endurance in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 2001. 11(2): p. 171-7.

[87]. Topin, N., et al., Dose-dependent effect of individualized respiratory muscle training in children with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 2002. 12(6): p. 576-83.

[88]. Sander, M., et al., Functional muscle ischemia in neuronal nitric oxide synthase-deficient skeletal muscle of children with Duchenne muscular dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. 97(25): p. 13818-23.

[89]. Barbe, F., et al., Long-term effects of nasal intermittent positive-pressure ventilation on pulmonary function and sleep architecture in patients with neuromuscular diseases. *Chest*, 1996. 110(5): p. 1179-83.

[90]. Konagaya, M., et al., [Effect of intermittent positive pressure ventilation on life-span and causes of death in Duchenne muscular dystrophy]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2005. 45(9): p. 643-6.

[91]. Guilleminault, C., P. Philip and A. Robinson, Sleep and neuromuscular disease: bilevel positive airway pressure by nasal mask as a treatment for sleep disordered breathing in patients with neuromuscular disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1998. 65(2): p. 225-32.

[92]. Ellis, E.R., et al., Treatment of respiratory failure during sleep in patients with neuromuscular disease. Positive-pressure ventilation through a nose mask. *Am Rev Respir Dis*, 1987. 135(1): p. 148-52.

[93]. Smith, P.E., R.H. Edwards and P.M. Calverley, Oxygen treatment of sleep hypoxaemia in Duchenne muscular dystrophy. *Thorax*, 1989. 44(12): p. 997-1001.

- [94]. Bach, J.R., et al., Management of end stage respiratory failure in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*, 1987. 10(2): p. 177-82.
- [95]. Baydur, A., et al., Long term non-invasive ventilation in the community for patients with musculoskeletal disorders: 46 year experience and review. *Thorax*, 2000. 55(1): p. 4-11.
- [96]. Bach, J.R., Update and perspectives on noninvasive respiratory muscle aids. Part 1: The inspiratory aids. *Chest*, 1994. 105(4): p. 1230-40.
- [97]. Bach, J.R. and A.S. Alba, Intermittent abdominal pressure ventilator in a regimen of noninvasive ventilatory support. *Chest*, 1991. 99(3): p. 630-6.
- [98]. Bach, J.R., Ventilator use by muscular dystrophy association patients. *Arch Phys Med Rehabil*, 1992. 73(2): p. 179-83.
- [99]. Bushby, K., et al., Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*, 2010. 9(1): p. 77-93.
- [100]. Miller, F., et al., Pulmonary function and scoliosis in Duchenne dystrophy. *J Pediatr Orthop*, 1988. 8(2): p. 133-7.
- [101]. Raphael, J.C., et al., Randomised trial of preventive nasal ventilation in Duchenne muscular dystrophy. French Multicentre Cooperative Group on Home Mechanical Ventilation Assistance in Duchenne de Boulogne Muscular Dystrophy. *Lancet*, 1994. 343(8913): p. 1600-4.

## 附录 1. Dystrophin 基因 PCR 引物。

| 编号 | 引物名称    | 引物序列                      |
|----|---------|---------------------------|
| 1  | DMDPF   | GCAGGAAAACATGTCCCATGA     |
| 2  | DMDPR   | TGATGCCAGGATTCTGTAGAGG    |
| 3  | DMDP1F  | CCACTGTGCTATTCTGGTTTGG    |
| 4  | DMDP1R  | TGCTTCTTTGCAAACACTGTGA    |
| 5  | DMDP2F  | TTAATTTGGATGCCCCAAACC     |
| 6  | DMDP2R  | GACCAAGAGGGACAAAAAATGA    |
| 7  | DMDP3F  | CCTTTACCCGTAACCTGCCTTG    |
| 8  | DMDP3R  | GGCGGTAGAGTATGCCAAATG     |
| 9  | DMDP4F  | TGTCATTGGTGGTCATGCAGT     |
| 10 | DMDP4R  | CCACAATCAGGCATACACGAA     |
| 11 | DMDP5F  | GGGGTGCTTGTTTGTATGGA      |
| 12 | DMDP5R  | AGCACTATGGAGCAGGGTTTG     |
| 13 | DMDP6F  | TGGCATAGATACCAATGAATCAGAA |
| 14 | DMDP6R  | CTTTCACGCTCCGCTAATGTT     |
| 15 | DMDP7F  | ACCTCCGTCTCCCAAATTGTT     |
| 16 | DMDP7R  | TCCATCCATAGGGCATACACA     |
| 17 | DMDP8F  | TCTGGAGGACATTCATGGACA     |
| 18 | DMDP8R  | TCAATGAAGCAAAATTGAAAAGG   |
| 19 | DMDP9F  | TTCCAGGGTATGGACCTGATG     |
| 20 | DMDP9R  | GGCACTGAAAAATTCAAGCAA     |
| 21 | DMDP10F | GGTGTGGATTTTGACCGCTAT     |
| 22 | DMDP10R | TTGGCCGATCAGGTAGAAATG     |
| 23 | DMDP11F | TCCCTGTCCTTTTTCTCCAT      |
| 24 | DMDP11R | GTGCCTTGGGAACAACTGAG      |
| 25 | DMDP12F | GTCCAATAGATGCCCCAAAT      |
| 26 | DMDP12R | CTTAAGGGAGGAGCCCTGATG     |
| 27 | DMDP13F | TTGCTGAGCGTCATAGCAGAA     |
| 28 | DMDP13R | CCTGCTTCCCAGCCTTATTTA     |

---

|    |            |                           |
|----|------------|---------------------------|
| 29 | DMDP14+15F | TTGGCAAATTATTCATGCCATT    |
| 30 | DMDP14+15R | TTTGAAAAACAAAGTTGAAAATCCA |
| 31 | DMDP16F    | ATGCAAATGAGCAAATACACG     |
| 32 | DMDP16R    | TGGCTAATGTTCCCTCGTGGTT    |
| 33 | DMDP17F    | CCCCACCCCTTATTCCTACA      |
| 34 | DMDP17R    | ACACCACCAACAAAACCTGCTG    |
| 35 | DMDP18F    | CATTCAAGCAGAGGCTGGGTA     |
| 36 | DMDP18R    | AAGGCATCCCTAGTCAGTCACAG   |
| 37 | DMDP19F    | TTTTTGCAGTCTTGCGTTGAA     |
| 38 | DMDP19R    | CCACATCCCATTTTCTTCCAA     |
| 39 | DMDP20F    | TGGTTTGAAATCATTTCATGTGG   |
| 40 | DMDP20R    | ACTGCCTCATGCTTACGCAAA     |
| 41 | DMDP21F    | TATAAGAGGGGTGCAGCCAAA     |
| 42 | DMDP21R    | TACCTTCTGGATTTCCCACA      |
| 43 | DMDP22F    | AAGGTCCCTGGCATATTACACA    |
| 44 | DMDP22R    | GCTCAATGGGCAAACCTACCATAC  |
| 45 | DMDP23F    | CAAACTTTTTGGCTCTGTAAGAT   |
| 46 | DMDP23R    | GAAAGATGCTGAAGGTCAAATGC   |
| 47 | DMDP24F    | AGTTCGGGTTTAGGGAGGCTA     |
| 48 | DMDP24R    | CAAAATCCACCCAGCTGTAA      |
| 49 | DMDP25F    | TCCATATGCAATGCCATCAGT     |
| 50 | DMDP25R    | CGGTGAAGGGAGACATTAGGA     |
| 51 | DMDP26F    | CATCGGGCAATACGTTCAATTT    |
| 52 | DMDP26R    | CAACTTCAAGCATTGTTGCAT     |
| 53 | DMDP27F    | TGACCACAAATCCATACCTCCA    |
| 54 | DMDP27R    | AGCAAATGGCCCAAAGTCATA     |
| 55 | DMDP28F    | GCTGCATTTTGAATTACCTGCT    |
| 56 | DMDP28R    | CATCCCGATTAGCCCTAAAGC     |
| 57 | DMDP29F    | TGTCACGTGGACACCACTAGC     |
| 58 | DMDP29R    | TGGCATTGGATTGTCTCTGAA     |
| 59 | DMDP30F    | CATGCAGAGATCCCTGATCCTA    |
| 60 | DMDP30R    | AATCAAAAACAACCCCATGGAA    |
| 61 | DMDP31F    | CCACCACTCTGGCCAATTTA      |
| 62 | DMDP31R    | TCCATTTCATCCAACACAGGAA    |

---

---

|    |         |                             |
|----|---------|-----------------------------|
| 63 | DMDP32F | TTCCTGTGTTGGATGAATGGA       |
| 64 | DMDP32R | GGCCACAATACATGTGCCAAT       |
| 65 | DMDP33F | AAATGCAAAAAGCTAGATATTGACCAC |
| 66 | DMDP33R | ACCAGGAAAAACCTCCCTGAG       |
| 67 | DMDP34F | TGGACAAACGATGTCATCTGC       |
| 68 | DMDP34R | CATGGTCCTGAAAAGCACAGA       |
| 69 | DMDP35F | ACAGAAAGCCGTTTCATAAGCA      |
| 70 | DMDP35R | GTGGTCCACATTCTGGTCAAA       |
| 71 | DMDP36F | TTTTACACCCTTCTCTGTCACGA     |
| 72 | DMDP36R | AAGGGGGAAGGAAGGAAAAAG       |
| 73 | DMDP37F | GGGAAAACATCCCTGTCCTTC       |
| 74 | DMDP37R | CCTTGCTGTGGGGTCTACTTG       |
| 75 | DMDP38F | TGCATCCTCAGGTACTTTTCCA      |
| 76 | DMDP38R | TCAAAAGAAAATTGCTGGGCTA      |
| 77 | DMDP39F | CCACACTCCCCCATCTTTCTA       |
| 78 | DMDP39R | GCAACACATCGTTCAAAATCAA      |
| 79 | DMDP40F | ATTTTGATAAAATAACTGCAGCCAGAA |
| 80 | DMDP40R | TGAAATGAATGGGCTAACATGA      |
| 81 | DMDP41F | CAAAATCCCAAGACACCAGAGG      |
| 82 | DMDP41R | CCCAAAGTGAGGGAAACCACT       |
| 83 | DMDP42F | TCCATTTTCAGCCCAGTTTGT       |
| 84 | DMDP42R | TGTGAAAAGTCAAAATGCCATCA     |
| 85 | DMDP43F | TTGCAACACCATTTGCTACCTT      |
| 86 | DMDP43R | TGCCCCAATCTGATTTACGAT       |
| 87 | DMDP44F | GGAAAAATTGCAACCTTCCAT       |
| 88 | DMDP44R | CGTCCAGGCAAACCTCTCAT        |
| 89 | DMDP45F | GCTAACCGAGAGGGTGCTTTT       |
| 90 | DMDP45R | TTAGTGCCTTTCACCCTGCTT       |
| 91 | DMDP46F | GGCCAGGAATTTTTGAATCAG       |
| 92 | DMDP46R | TGGTTCAGAACTGCAGGGTTA       |
| 93 | DMDP47F | CTGAGGGGGTGAGTGTTTCAG       |
| 94 | DMDP47R | ATGAAGCACCCAGGAAACAAA       |
| 95 | DMDP48F | TGAATACATTGGTTAAATCCCAACA   |
| 96 | DMDP48R | GCCCAATCTCTCTATCCAACC       |

---

---

|     |         |                          |
|-----|---------|--------------------------|
| 97  | DMDP49F | GCCCTTATGTACCAGGCAGAA    |
| 98  | DMDP49R | TTGTATTGATGGCAGCACACC    |
| 99  | DMDP50F | GCCTGGAGAAAGGGTTTTTGT    |
| 100 | DMDP50R | CCGTTGTCATGCAACACTTTG    |
| 101 | DMDP51F | TGTCCAGGCATGAGAATGAGC    |
| 102 | DMDP51R | TGGTGGGAAATGGTCTAGGAG    |
| 103 | DMDP52F | GTGTTTTGGCTGGTCTCACAA    |
| 104 | DMDP52R | CCAACAGCCAAGGATATGAGG    |
| 105 | DMDP53F | TTTGCCATCAAAAAAGCAAAGA   |
| 106 | DMDP53R | CCCAGAGTTCAAGGCTCAGTG    |
| 107 | DMDP54F | TGTCTGAAAGGTGGGTACCT     |
| 108 | DMDP54R | AGTCTGAGCCAAGTCCGTGAG    |
| 109 | DMDP55F | CTCCTCTGTGGAGAGGGGTTT    |
| 110 | DMDP55R | TTTGTCCCTGGCTTGTCAGTT    |
| 111 | DMDP56F | GAGAAGGCAATACGCCAAGAA    |
| 112 | DMDP56R | GCTGCACTCCTCATTTAAATTCAC |
| 113 | DMDP57F | TTCATGCCAAAAGTCTCAGCA    |
| 114 | DMDP57R | GCCAAAAGAGATGGACGATTT    |
| 115 | DMDP58F | CCCATCTCCCAGAATAGCTT     |
| 116 | DMDP58R | AGACCCTGGCAGCAAGAATG     |
| 117 | DMDP59F | TGCATCCTAACGTTTTTCTCCTC  |
| 118 | DMDP59R | TGGGAAGATAAACTGCACTCAA   |
| 119 | DMDP60F | ACTGGCACTGCACCCTAAAGA    |
| 120 | DMDP60R | CATGAGTGAAGCAGCCTGAC     |
| 121 | DMDP61F | TGTGTTTGGCCTTGGATTGAT    |
| 122 | DMDP61R | TCCTGAGCAAAGTGTCCACA     |
| 123 | DMDP62F | CGCATTATCTTTGTGCCTGA     |
| 124 | DMDP62R | TCGCAAAGATTGACTCCCCT     |
| 125 | DMDP63F | CCGAATGGTTCAAAAGCAAAA    |
| 126 | DMDP63R | TTGGATAGGAAGGTGCCACTG    |
| 127 | DMDP64F | ACATGAATGCCCTTCAGGCTA    |
| 128 | DMDP64R | AGCTGAGGAATGGTGACAGGA    |
| 129 | DMDP65F | CACCCAATGCCAGTGAGATTT    |
| 130 | DMDP65R | GCATTAGGTCCACAGCTTCCA    |

---

---

|     |         |                         |
|-----|---------|-------------------------|
| 131 | DMDP66F | TCCATTGCATTGTAGGTCATCA  |
| 132 | DMDP66R | GGAATGGCACAAACCAAATTTTA |
| 133 | DMDP67F | ACGTGTAAGCTTGCCTTCTT    |
| 134 | DMDP67R | TCCCAAATCCCATACCTACTGC  |
| 135 | DMDP68F | ATCAGGGAGCATTTGCAGAAA   |
| 136 | DMDP68R | CAAAAATGTGGCTCCGAAGAG   |
| 137 | DMDP69F | AGCGTAAGTCTGTGCTCCTG    |
| 138 | DMDP69R | GGGGAAGTGACAAATCACAGC   |
| 139 | DMDP70F | CCTTTGCTCACAACCACAACA   |
| 140 | DMDP70R | GGAAAGTGGCAACTGGACATC   |
| 141 | DMDP71F | GGGGACGTCTTCACCTCTTTT   |
| 142 | DMDP71R | GGAAGGGGAATTAATATGTCCA  |
| 143 | DMDP72F | TCCCCAACCTTTTCTACGAT    |
| 144 | DMDP72R | AGCAAGGCTACCGGAAATGTT   |
| 145 | DMDP73F | GGTCTACCACACACTGCCTCA   |
| 146 | DMDP73R | AATGCCAGAATTTGGATGAGC   |
| 147 | DMDP74F | TGGTGGCCAAAGCATTATACA   |
| 148 | DMDP74R | TTCCTGGCACTTTTCTATGTGTG |
| 149 | DMDP75F | ACACCAGGCAAAAGCTTCAAA   |
| 150 | DMDP75R | CACTTTCAGGCACATACCAA    |
| 151 | DMDP76F | TTCATCATTACACATGACCTTC  |
| 152 | DMDP76R | TGGCTCCCTGATACCAAGATG   |
| 153 | DMDP77F | AAGCTTGAGGGTTTTCTTTGTT  |
| 154 | DMDP77R | TCTTTTCACCATGGACCCAAA   |
| 155 | DMDP78F | GGTCATCTCAACATTTGTTTGGT |
| 156 | DMDP78R | GCTGCAAGTGGAGAGGTGACT   |
| 157 | DMDP79F | TCCCAAATGGCAAAGAAACAG   |
| 158 | DMDP79R | CAAAGGATGCAAAACAATGC    |

---



## 致 谢

论文的完成，与老师和同学的帮助密不可分。

首先对我尊敬的导师方方老师表示诚挚的谢意！从选题思路、研究设计、实施开展到论文撰写过程中对我的引导与支持。她严谨细致、一丝不苟的作风是我学习榜样，她渊博的学识、敏锐的思维和科学的态度令我折服，她循循善诱的教导和不拘一格的思路给予我无尽的启迪！

感谢北京儿童医院神经康复中心吴老师、吕老师、杨欣英老师等，支气管哮喘中心向莉老师、睡眠中心许志飞老师以及儿研所申晨老师对我的帮助！

感谢北京大学医学部遗传教研室黄昱老师在基因分析以及课题实施开展过程中给予的指点与支持！

感谢苏州天昊基因公司在基因检测方面给予的支持！

感谢我的各位同学在科研学习中给予我的建议和帮助，以及在生活中给予我的帮助和关怀！

感谢北京儿童医院神经康复中心、呼吸功能室、睡眠中心、智测室全体医护人员的关心与支持！

感谢我的母校首都医科大学对我的培养，感谢北京儿童医院教育处王爱华老师、李霞老师以及各位授课老师，在他们的关心和指导下，我顺利完成了临床医学课程和实习轮转。

## 个人简历

姓 名： 徐曼婷

性 别： 女

出生日期： 1988. 4. 28

学 历： 硕士

政治面貌： 共青团员

民 族： 汉

### 教育背景：

2006. 9-2013. 7

首都医科大学

七年制临床医学（儿科方向）