

· 综述 ·

苯丙酮尿症的治疗研究进展

张磊,徐晓恒 综述,张思瑾 审核

(吉林大学第二医院儿科,长春 吉林 130041)

[中图分类号] R596 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)09-0786-04

苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU; OMIM 261600)是由于苯丙氨酸羟化酶(phenylalanine hydroxylase, PAH)功能障碍导致的遗传代谢性疾病,可分为典型型和四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH₄)缺乏型两大类。PKU患儿的临床症状和对治疗的反应有明显的个体差异^[1],其原因是PAH位点的基因型决定了患儿血苯丙氨酸的水平;同时,每个机体处理苯丙氨酸能力也有不同,其中的因素包括肠道的吸收能力、苯丙氨酸转运通过血脑屏障的效率等^[2]。

理论上讲,PKU治疗的主要原则是:①给患儿提供适量的苯丙氨酸维持其正常成长;②保证摄入足够其他营养素,如长链多不饱和脂肪酸,使患儿能够保持良好的营养状态;③保证患儿对治疗的最佳依从性;④同时考虑到患儿的生活质量^[3]。几十年来,PKU的主要治疗方法是饮食治疗,但饮食疗法确实存在诸多问题,并不是理想的治疗措施。最近有多种新的治疗方法出现,其中大中性氨基酸和BH₄已经进行了临床试验,而基因治疗和小分子物质稳定和修饰PAH在一段时间内都会停留在实验研究阶段。这些方法有可能在未来减轻患儿对严格的低苯丙氨酸饮食的依赖,甚至替代它。本文将对PKU治疗的研究新进展进行阐述。

1 传统治疗:苯丙氨酸限制饮食

对于PKU患儿来说,饮食治疗的目标在于:①苯丙氨酸和/或中间的代谢产物不能达到毒性水平;②苯丙氨酸和其他氨基酸的摄入足以维持患儿的生长和代谢需求。而一个特定患者耐受苯丙氨酸的能力取决于他的基因背景、代谢状态和基本健康状况;另外,锻炼、生长、怀孕及感染都可能影响机体对苯

丙氨酸的需求。因此,对于处于生长发育期的某个特定的儿童来说,饮食限制应该严格,但也应该个体化。

PKU的饮食要求是低蛋白饮食,补充不含苯丙氨酸的氨基酸混合物,同时加入矿物质、维生素和其他营养素。据报道,患儿能够接受长期补充维生素和矿物质片,但存在依从性差和吞咽困难的问题^[4]。至于蛋白质的摄入,患儿禁食奶类、肉类、蛋、面粉、豆类、花生及谷类,母乳在严格控制下可以进食,而水果和蔬菜的数量也需控制。因此,PKU的饮食控制是非常严格的,对患儿来说,长年坚持此种饮食必然会有一定的困难。除此之外,不含苯丙氨酸的氨基酸混合物的味道和气味都很怪,而患儿进食这种混合物的数量很大。因此患儿在PKU饮食下的生活质量差,而随着患儿成长,饮食治疗的依从性明显变差^[5]。在一个53名患者的调查中,29人坚持了3个月的饮食控制,只有10个人完成了全部的9个月研究期限^[6]。

另外,饮食控制还能导致其他营养素的缺乏,肉毒碱是自由基的清除剂,在线粒体转运脂肪酸中起重要作用,PKU患者限制饮食治疗可能导致肉毒碱的损耗^[7],进而影响了机体的正常功能。另外,除了这些生活的不便,那些严格坚持苯丙氨酸控制饮食的患儿也会表现出大脑前叶功能受损,智力低于同等年龄儿童^[8]。

所以,尽管低苯丙氨酸饮食治疗PKU有效,并且有诸多优点,低苯丙氨酸饮食却不能被看成是PKU患者的理想治疗措施。人们一直在积极寻找除控制饮食外的其他的有效的治疗方法。

2 改善低苯丙氨酸饮食的味道

青春期开始后,患儿的自主性和社会交往增加,

[收稿日期]2008-11-26;[修回日期]2008-02-01
[作者简介]张磊,女,博士,主治医师。主攻方向:神经遗传性疾病。

低苯丙氨酸饮食的依从性明显变差,其重要因素是无苯丙氨酸的氨基酸混合物的怪味。为了解决这一问题,人们已经研发了新产品。浓缩的、小容量的蛋白替代物和氨基酸片更易于被患者接受;而孩子们则喜欢果冻样的和口香糖样的氨基酸混合物^[9]。另外,需单独补充的维生素和矿物质的某些产品也较传统配方更容易被接受。

3 苯丙氨酸解氨酶

PKU 治疗中一个正在研制阶段的治疗措施是苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL; EC 4.3.1.5)。正常情况下,它位于肝脏内,负责饮食中部分苯丙氨酸的降解,其降解产物氨和转苯乙烯酸对 PKU 患者无害。PAL 经过固定后可永久地降解苯丙氨酸进而抑制其吸收,动物实验提示其降低苯丙氨酸水平的能力甚至高于饮食控制^[10]。

这一治疗方法的问题在于 PAL 在肠腔内被消化酶消化,同时传统的蛋白纯化费用高昂。如果静脉注射, PAL 的稳定性差,同时又表现出了高的免疫原性。而 PAL 用半透微囊固定后,避免了酶失活,使人和鼠的血苯丙氨酸浓度明显减低。另外,重组 PAL 降低了成本,提高了产量。在大肠杆菌启动子中克隆 PAL 基因,小鼠口服表达 PAL 的大肠杆菌后,血清中的苯丙氨酸浓度降低了 30%~40%。如果重组 PAL 与蛋白酶抑制剂一起应用的话,血苯丙氨酸浓度降幅可达 50%^[11]。

近来,人们 PAL 进行了化学修饰,得到了 PEG-PAL,静脉注射时,PEG-PAL 的免疫原性减弱,而稳定性明显增强,还保持了全催化活性^[12]。

4 大中性氨基酸

苯丙氨酸和其他的大中性氨基酸(large neutral amino acids, LNAAs, 包括天门冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、色氨酸和缬氨酸),均通过 L 型氨基酸转运子转运通过血脑屏障^[13]。血高苯丙氨酸必然会降低脑对其他中性氨基酸的摄取。而某些 LNAAs,如酪氨酸和色氨酸,是神经传递素的前体,而神经传递素合成受损也可能是引起 PKU 患儿认知功能障碍的一个因素^[5]。

有实验证实,在不限饮食的前提下,给 PKU 小鼠喂食 LNAAs,能够有效地降低血和脑内的苯丙氨酸浓度, LNAAs 可以被看作是 PKU 的治疗方

法^[14]。从 1985 年起在丹麦的约翰肯尼迪学院, LNAAs 被应用于那些坚持低苯丙氨酸饮食有困难的 PKU 患者,这种方法很受欢迎,因为放宽了对低苯丙氨酸饮食的限制。在这些患者的 15 年随访中,与那些传统的限制苯丙氨酸饮食的患者比较,他们在认知评价和其他的副作用方面没有差别^[5]。

5 BH₄

有学者发现,某些 PAH 缺乏的 PKU 患者在补充 BH₄ 时血浆的苯丙氨酸水平有所降低,单独应用 BH₄ 治疗 BH₄ 反应性的 PKU 能取得了良好的效果^[15]。有研究证实,所有的轻度 PKU 患者和 75% 的中度 PKU 对 BH₄ 负荷试验有反应,应用 BH₄ 后几小时,血浆苯丙氨酸浓度明显降低^[16]。

目前的商品化的 BH₄ 为二盐酸沙丙蝶呤片(sapropterin dihydrochloride),于 2007 年 12 月 13 日获得美国 FDA 批准上市,商品名为 Kuvan。大约 20% 的 PKU 患者对沙丙蝶呤的治疗有反应,导致血苯丙氨酸浓度的下降^[17]。而在另一个研究中,采用双盲的方法对两组患者进行检测,6 周后,95% 的实验组患者和 9% 的对照组患者的血苯丙氨酸浓度下降了至少 30%。提示某些对 BH₄ 反应的患者可以应用沙丙蝶呤作为治疗方法补充饮食治疗,甚至可能替换饮食治疗^[18]。Kuvan II 期和 III 期临床实验数据也证实此药物对部分高苯丙氨酸血症患者和轻中度的 BH₄ 负荷实验阳性的 PKU 患者有效,而且是安全的^[19]。

目前有几个假说可以解释患者对 BH₄ 的反应性:①某些 PAH 突变蛋白与 BH₄ 的结合力降低,增加 BH₄ 的浓度能够代偿这一作用;②BH₄ 通过保护蛋白不被降解或水解帮助稳定 PAH,其作用相当于分子伴侣;③BH₄ 有助于稳定 PAH mRNA;④BH₄ 能调节 PAH 基因起到治疗效果^[20]。

6 基因治疗

遗传性疾病的理想治疗是取得缺陷基因的正常拷贝,然后将其转运至患者的细胞内,细胞将基因表达出来。将表达 PAH cDNA 的重组腺病毒放置入 PAH 缺陷小鼠的肝循环,10%~80% 的肝脏 PAH 活性得以恢复,进而保持血清中的苯丙氨酸浓度正常^[21]。这一方法的主要问题是转运效率低和抗重组腺病毒载体的抗体出现。然而,如果同时应用免疫抑制剂 FK506,既能封闭宿主的免疫反应又能延

长 PAH 基因表达^[22]。

将 PAH 为基础的融合蛋白靶定于肝脏后,这些新融合的蛋白能转运入多个肝脏细胞系,并保持活性,使 PKU 小鼠的血苯丙氨酸浓度明显下降^[23]。在另一个研究中,基因治疗 2 周后,PKU 小鼠的皮肤颜色恢复,肝脏 PAH 活性恢复,血苯丙氨酸水平将至维持于正常,使得雌 PKU 小鼠的后代的不受母鼠高苯丙氨酸的影响^[24]。

除了传统的基因治疗,人们也在探索将 PAH 表达在肝脏以外的组织。已有报道称,表皮细胞能表达 PAH 和 GTP-cyclohydrolase (参与 BH₄ 合成的一种酶),也能提高的苯丙氨酸清除率^[25],同时还有人探索 PAH 在红骨髓中的表达^[26]。

7 对 PAH 进行修饰和稳定

本治疗方法的基础是,大多数 PAH 突变导致了蛋白的错误折叠,应用药理学伴侣能够稳定或增加突变蛋白的正确折叠。Pey 等^[27]找到了 4 种能够提高 PAH 热稳定性,并且对 PAH 的活性没有抑制的复合物,其中的两个能稳定重组野生型 PAH 构象,并且明显增加了转染 PKU 突变细胞中的 PAH 的活性和水平。同时也有研究证实,甘油和 TMAO 能够增加 hPAH 突变蛋白的酶活性,同时检测到了活性四聚物和二聚物的聚集和复活,作者推测甘油和 TMAO 的复活作用来自于对新合成的突变的 PAH 酶的直接稳定作用^[28]。上述这些小分子物质有可能应用于未来的 PKU 治疗中。

8 小结

PKU 是一种致命性疾病,低苯丙氨酸饮食是一种有效的治疗方法,但存在诸多问题,如无苯丙氨酸产品的味道差、患者和家属的生活质量下降,同时某些患者虽然严格遵循饮食要求,仍会出现轻度的认知和情感异常。幼年期后,低苯丙氨酸饮食的依从性逐渐降低。这些问题可通过改进无苯丙氨酸产品的味道,并改变配方和剂型来解决。

PAL, BH₄, LNAA 补充是非常有前景的治疗方法,这些方法可以使患儿的饮食限制不那么严格。然而,所有这三种方法都只能是部分有效。PAL 能调节肠腔内苯丙氨酸降解,但目前的生产成本过高。BH₄ 反应性的 PAH 缺陷的发现在 PKU 的治疗中开辟了一个新的途径,然而 BH₄ 补充治疗并不适用于所有患者。对那些坚持低苯丙氨酸饮食有困难的患

者来说, LNAA 补充是一个特别有吸引力的治疗选择,但大脑中苯丙氨酸水平下降很慢,需要大概 6 个月才能达到正常的水平,并且目前缺乏此种治疗的长期效果和副作用的研究。基因治疗研究虽然已经见到了一些成功,但离能够广泛应用于临床还有很大距离。

我们期待今后的几年里,应用一种或多种治疗 PKU 方法,结合不很严格的饮食限制,完全控制 PKU 患者血苯丙氨酸的水平。然而,在婴儿期,低苯丙氨酸饮食仍是最优选择。但一旦患者难以继续坚持饮食治疗,应该采取一些替换治疗。

[参 考 文 献]

[1] Scriver CR. Why mutation analysis does not always predict clinical consequences: explanations in the era of genomics[J]. J Pediatr, 2002, 140(5):502-506.

[2] Weglage J, Wiedermann D, Denecke J, Feldmann R, Koch HG, Ullrich K, et al. Individual blood-brain barrier phenylalanine transport in siblings with classical phenylketonuria[J]. J Inherit Metab Dis, 2002, 25(6):431-436.

[3] Giovannini M, Riva E, Salvatici E, Fiori L, Paci S, Verduci E, et al. Treating phenylketonuria: a single centre experience[J]. J Int Med Res, 2007, 35(6):742-752.

[4] Macdonald A, Lee P, Davies P, Daly A, Lilburn M, Gokmen Oz-el H, et al. Long-term compliance with a novel vitamin and mineral supplement in older people with PKU[J]. J Inherit Metab Dis, 2008, 31(6):718-723.

[5] Koch R, Moseley KD, Yano S, Nelson M Jr, Moats RA. Large neutral amino acid therapy and phenylketonuria: a promising approach to treatment[J]. Mol Genet Metab, 2003, 79(2):110-113.

[6] Bik-Multanowski M, Didycz B, Mozrzymas R, Nowacka M, Kaluzny L, Cichy W, et al. Quality of life in noncompliant adults with phenylketonuria after resumption of the diet[J]. J Inherit Metab Dis, 2009, 32(1):126.

[7] Sitta A, Barschak AG, Deon M, de Mari JF, Barden AT, Vanzin CS, et al. L-carnitine blood levels and oxidative stress in treated phenylketonuric patients[J]. Cell Mol Neurobiol, 2009, 29(2):211-218.

[8] Leuzzi V, Pansini M, Sechi E, Chiarotti F, Carducci C, Levi G, et al. Executive function impairment in early-treated PKU subjects with normal mental development[J]. J Inherit Metab Dis, 2004, 27(2):115-125.

[9] MacDonald A, Daly A, Davies P, Asplin D, Hall SK, Rylance G, et al. Protein substitutes for PKU: what's new? [J]. J Inherit Metab Dis, 2004, 27(3):363-371.

[10] Kim W, Erlandsen H, Surendran S, Stevens RC, Gamez A, Michols-Matalon K, et al. Trends in enzyme therapy for phenylketonuria[J]. Mol Ther, 2004, 10(2):220-224.

[11] Levy HL. Phenylketonuria: old disease, new approach to treatment[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(5):1811-1813.

[12] Ikeda K, Schiltz E, Fujii T, Takahashi M, Mitsui K, Kodera Y, et al. Phenylalanine ammonialyase modified with polyethylene glycol: potential therapeutic agent for phenylketonuria[J]. Amino Acids, 2005, 29(3):283-287.

[13] Kanai Y, Endou H. Functional properties of multispecific amino

acid transporters and their implications to transporter-mediated toxicity[J]. J Toxicol Sci, 2003, 28(1):1-17.

[14] Matalon R, Surendran S, Matalon KM, Tying S, Quast M, Jinga W, et al. Future role of large neutral amino acids in transport of phenylalanine into the brain[J]. Pediatrics, 2003, 112(6 Pt 2): 1570-1574.

[15] Steinfeld R, Kohlschutter A, Ullrich K, Lukacs Z. Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria[J]. J Inherit Metab Dis, 2004, 27(4):449-453.

[16] Perez-Duenas B, Vilaseca MA, Mas A, Lambruschini N, Artuch R, Gómez L, et al. Tetrahydrobiopterin responsiveness in patients with phenylketonuria[J]. Clin Biochem, 2004, 37(12):1083-1090.

[17] Doggrell SA. Is sapropterin treatment suitable for all subjects with phenylketonuria? [J]. Expert Opin Pharmacother, 2008, 9(1): 145-147.

[18] Levy HL, Milanowski A, Chakrapani A, Cleary M, Lee P, Trefz FK, et al. Efficacy of sapropterin dihydrochloride (tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for reduction of phenylalanine concentration in patients with phenylketonuria: a phase III randomised placebo-controlled study[J]. Lancet, 2007, 370(9586):504-510.

[19] Burnett JR. Sapropterin dihydrochloride (Kuvan/phenoptin), an orally active synthetic form of BH4 for the treatment of phenylketonuria[J]. IDrugs, 2007, 10(11):805-813.

[20] Blau N, Erlandsen H. The metabolic and molecular bases of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency [J]. Mol Genet Metab, 2004, 82(2):101-111.

[21] Eisensmith RC, Woo SL. Gene therapy for phenylketonuria[J]. Acta Paediatr, 1994, 407:124-129.

[22] Nagasaki Y, Matsubara Y, Takano H, Fujii K, Senoo M, Akanuma J, et al. Reversal of hypopigmentation in phenylketonuria mice by adenovirus-mediated gene transfer[J]. Pediatr Res, 1999, 45(4 Pt 1):465-473.

[23] Eavri R, Lorberboum-Galski H. A novel approach for enzyme replacement therapy [J]. J Bio Chem, 2007, 282(32):23402-23409.

[24] Jung SC, Park JW, Oh HJ, Choi JO, Seo KI, Park ES, et al. Protective effect of recombinant adeno-associated virus 2/8-mediated gene therapy from the maternal hyperphenylalaninemia in offsprings of a mouse model of phenylketonuria[J]. J Korean Med Sci, 2008, 23(5):877-883.

[25] Christensen R, Alhonen L, Wahlfors J, Jakobsen M, Jensen TG. Characterization of transgenic mice with the expression of phenylalanine hydroxylase and GTP cyclohydrolase I in the skin[J]. Exp Dermatol, 2005, 14(7):535-542.

[26] Harding CO, Neff M, Jones K, Wild K, Wolff JA. Expression of phenylalanine hydroxylase (PAH) in erythrogenic bone marrow does not correct hyperphenylalaninemia in Pah(enu2) mice[J]. J Gene Med, 2003, 5(11):984-993.

[27] Pey AL, Ying M, Cremades N, Velazquez-Campoy A, Scherer T, Thöny B, et al. Identification of pharmacological chaperones as potential therapeutic agents to treat phenylketonuria[J]. J Clin Invest, 2008, 118(8):2858-2867.

[28] Nascimento C, Leandro J, Tavares de Almeida I, Leandro P. Modulation of the activity of newly synthesized human phenylalanine hydroxylase mutant proteins by low-molecular-weight compounds[J]. Protein J, 2008, 27(6):392-400.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

现代新生儿重症监护学习班通知

国家级继续医学教育 I 类项目现代新生儿重症监护学习班和八一新生儿学术论坛[2009-06-03-003(国),2009-06-03-013(国),共 18 学分],定于 2009 年 10 月 9 日至 15 日在北京军区总医院附属八一儿童医院同时举办。将以活跃在该院早产、围足月、足月和外科四个专业 NICU 以及相关专业的临床、教学和科研第一线的专家为主,介绍现代新生儿重症监护病房医疗、护理、感染控制和硬件建设、组织管理的专项技术和进展。欢迎全国各级新生儿或儿科专业医护人员和管理人员参加。可通过来函、Email 或电话报名。通讯地址:北京市东城区南门仓 5 号,北京军区总医院附属八一儿童医院新生儿中心;邮政编码:100700;Email:zhjhospital@163.com。联系人:李秋平,电话:010-66721787,15117975597。

北京军区总医院附属八一儿童医院
2009 年 6 月 10 日