

论著·临床研究

## Becker/Duchenne 肌营养不良患儿临床表型与基因关联性预测分析

牛焕红 陶东英 成胜权

(空军军医大学第一附属医院儿科, 陕西 西安 710032)

**[摘要]** **目的** 探讨 Becker/Duchenne 肌营养不良 (BMD/DMD) 患儿的临床表型与基因型的关联性, 为疾病的管理、基因治疗及产前诊断提供理论依据。**方法** 回顾性分析 52 例患儿的临床资料及基因检测结果, 对 52 例患儿均采用多重连接探针扩增 (MLPA) 的方法检测 DMD 基因, 对 MLPA 检测未发现基因异常的患儿采用外显子芯片捕获结合高通量测序技术 (NGS) 进行筛查; 并对 20 例先证者的母亲进行了测序验证。**结果** 结合 MLPA 和 NGS 测序技术检测到 50 例患儿携带 BMD/DMD 致病基因, 检出率为 96%。其中, 基因缺失 36 例 (69%)、重复 7 例 (13%)、微小突变 7 例 (13%)。在 43 例存在基因缺失/重复的患儿中, DMD 32 例, BMD 11 例; 37 例 (86%) 符合阅读框架原则, 其中 DMD 27 例 (96%), BMD 10 例 (67%)。7 例微小突变均为 DMD。**结论** 阅读框架原则对 DMD 有极高预测价值, 对 BMD 预测有限。

[中国当代儿科杂志, 2020, 22(6): 602-607]

**[关键词]** 贝氏肌营养不良; 杜氏肌营养不良; 基因; 阅读框架原则; 临床表型; 儿童

### A predictive analysis of the association between clinical phenotypes and genotypes in children with Becker muscular dystrophy/Duchenne muscular dystrophy

NIU Huan-Hong, TAO Dong-Ying, CHENG Sheng-Quan. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China (Cheng S-Q, Email: quanyi@fmmu.edu.cn)

**Abstract: Objective** To study the association between clinical phenotypes and genotypes in children with Becker muscular dystrophy (BMD)/Duchenne muscular dystrophy (DMD) so as to provide a theoretical basis for disease management, gene therapy, and prenatal diagnosis. **Methods** A retrospective analysis was performed for the clinical data and gene detection results of 52 children with BMD/DMD. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) was used to detect the DMD gene. The children with negative results of MLPA were further screened by exon chip capture combined with next-generation sequencing (NGS). The mothers of 20 probands were validated by sequencing. **Results** The pathogenic genes for BMD/DMD were detected in 50 children by MLPA and NGS, with a detection rate of 96%. Among the 52 children, 36 (69%) had gene deletion, 7 (13%) had duplication, and 7 (13%) had micromutation. Among the 43 children with deletion/duplication, 32 had DMD and 11 had BMD; 37 children (86%) met the reading frame rule, among whom 27 (96%) had DMD and 10 (67%) had BMD. All 7 children with micromutation had DMD. **Conclusions** The reading frame rule has an extremely high predictive value for DMD but a limited predictive value for BMD.

[Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(6): 602-607]

**Key words:** Becker muscular dystrophy; Duchenne muscular dystrophy; Gene; Reading frame rule; Clinical phenotype; Child

Becker/Duchenne 肌营养不良 (Becker/Duchenne muscular dystrophy, BMD/DMD) 是由于编码抗肌萎缩蛋白的 DMD 基因 (OMIM: 300377) 突变所致的

X 染色体连锁隐性遗传病, 一般为男孩发病。其中 DMD 发病率较高, 约为 1/3 500<sup>[1]</sup>, 多为 3~5 岁发病, 6 岁出现行走困难, 20~30 岁死于心力衰竭

[收稿日期] 2019-12-27; [接受日期] 2020-05-12

[作者简介] 牛焕红, 女, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 成胜权, 男, 副主任医师。Email: quanyi@fmmu.edu.cn。

或呼吸衰竭<sup>[2]</sup>；BMD临床症状较轻，可保持行走能力到16岁及以上，寿命较长<sup>[3]</sup>。

DMD基因定位在Xp21.2，包含79个外显子、8个启动子，在基因组DNA上跨越2200 kb，具有极高的突变频率<sup>[4]</sup>。当前对于BMD/DMD疾病的诊断主要依靠基因检测进行。DMD基因主要有3种突变类型：缺失、重复和微小突变。现代基因测序技术的应用对于上述基因突变能提供可靠的检测手段：多重连接探针扩增（MLPA）技术操作简单，灵敏性强，且有良好的重复性，是针对基因缺失或重复最有效的检测技术，但不能检测点突变<sup>[5]</sup>，而高通量测序技术（NGS）则是当前检测微小突变的有效方法，两者结合使用可对DMD基因进行相应的基因检测。但目前无法通过基因检测结果区分BMD和DMD。Monaco等<sup>[6]</sup>于1988年提出阅读框架原则，认为若突变造成阅读框移码，则产生截短且无功能的抗肌萎缩蛋白，致使其表达严重障碍，表现为DMD；若基因缺失时，临近的外显子保持阅读框不变，则临床症状较轻表现为BMD。为了对DMD基因检测结果进行更好地解读，为实际诊疗提供帮助，可通过Humgen网站（[www.humgen.nl/scripts/DMD\\_frame.php](http://www.humgen.nl/scripts/DMD_frame.php)）检测DMD基因缺失、重复对临近外显子阅读框的影响，in-frame提示符合整码突变、不影响开放阅读框架，out-frame提示该突变造成阅读框架破坏；还可在Edyostrophin网站（<http://edyostrophin.genouest.org/>）中查询不同国家提交的DMD基因与临床表型的相关资料。因BMD/DMD预后不同，需要对患儿进行分子生物学诊断及临床分型，才能有效地进行后期管理，进一步实现基因精准治疗。本文回顾了52例BMD/DMD患儿的临床表型及精准分子生物学诊断结果，探讨BMD/DMD患儿临床表型与基因的关联，为预测疾病的预后及基因精准治疗提供理论依据，也有助于产前诊断及遗传咨询。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2010~2018年于我院诊断的BMD/DMD患儿52例为研究对象，其中BMD 11例，DMD 41例，均为男性；确诊年龄为3个月至14岁，平均年龄 $4.3 \pm 2.8$ 岁；均无血缘关系，父母非近亲结婚。

BMD/DMD的诊断标准参考文献<sup>[7]</sup>。52例患儿中，9例来自甘肃省，35例来自陕西省，6例来自宁夏回族自治区，2例来自新疆维吾尔自治区。本研究均征得患儿监护人知情同意，签署了知情同意书。

### 1.2 方法

采集患儿外周静脉血2~3 mL，采用MLPA技术对DMD基因79个外显子中可能存在的缺失和/或重复突变进行筛查。对通过MLPA检测未见异常的患儿，进一步采用外显子芯片捕获结合NGS技术进行单核苷酸水平变异检测，所有变异均通过Sanger测序验证。对MLPA+NGS技术未检测出致病基因的患者，局麻下行开放式腓肠肌活检，标本经多聚甲醛冷冻送检，行光镜和电镜检查。

### 1.3 家系成员的检测

对同意进行基因验证的20例先证者母亲采集外周静脉血2~3 mL，根据先证者检测到的致病基因的不同类型，选择不同的验证方法。若先证者为缺失、重复水平变异，则选择MLPA方法进行验证；若为单核苷酸水平变异，则用Sanger测序法进行验证。

## 2 结果

### 2.1 病例资料

52例BMD/DMD患儿中，11例BMD患儿临床表现主要为肌酸激酶（CK）增高或肌肉酸痛；41例DMD患儿中，<3岁15例，主要因CK升高或行走不稳、易摔倒就诊；≥4岁26例，临床表现为乏力、不爱走路、上楼需扶梯，其中4例DMD患儿分别在6岁、6.5岁、7岁、8岁时出现行走困难。38例患儿行肌电图检查，表现为肌源性损害31例（82%）；肌源性伴神经源性损害7例（18%）。

52例BMD/DMD患儿CK水平（正常范围50~310 IU/L）均增高（970~33735 IU/L），平均 $13333 \pm 8320$  IU/L；11例BMD患儿CK水平为970~6370 IU/L，平均 $2704 \pm 1773$  IU/L；41例DMD患儿CK水平为7930~33753 IU/L，平均 $15902 \pm 6408$  IU/L。所有患儿均伴有丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）不同程度增高。

## 2.2 基因检测结果

52例患儿中, MLPA技术检测出DMD基因异常者43例, 其中大片段缺失突变36例, 占69%; 大片段重复突变7例, 占13%(表1)。对通过MLPA技术未检测出基因异常的9例患儿行NGS检测, 发现7例微小突变, 其中6例患儿的

突变在HGMD数据库中无报道(表2)。另外2例患儿通过肌肉活检发现肌纤维变性、坏死、增生。43例大片段缺失/重复突变患儿中, 位于外显子45~55缺失患儿有25例(69%)。有4例患儿的基因型涉及两个区域的基因缺失或重复, 均表现为典型的DMD症状。

表1 43例大片段缺失/重复患儿的临床表型与基因结果

编号	表型	突变位置 (外显子)	突变 类型	对阅读 框影响	母亲验 证结果	编号	表型	突变位置 (外显子)	突变 类型	对阅读 框影响	母亲验 证结果
1	BMD	3~9	del	in	/	23	DMD	45~52	del	out	/
2	DMD	3~29	del	in	/	24	DMD	45~54	del	out	/
3	DMD	6~13, 20~26	del	out	/	25	DMD	46~47	del	out	阳性
4	DMD	8~18	del	out	阳性	26	DMD	48~52	del	out	阳性
5	DMD	8~44	del	out	/	27	BMD	48~55	del	in	/
6	BMD	19~44	del	in	阳性	28	DMD	49~50	del	out	阴性
7	DMD	20~44	del	out	/	29	DMD	49~54	del	out	阳性
8	DMD	21, 24~25	del	out	阴性	30	DMD	50	del	out	/
9	BMD	30	del	in	阳性	31	DMD	50	del	out	阳性
10	DMD	44	del	out	/	32	DMD	51~54	del	out	/
11	BMD	45~47	del	in	/	33	BMD	52~53	del	in	阳性
12	BMD	45~47	del	in	/	34	DMD	53~55	del	out	/
13	DMD	45~47	del	in	/	35	DMD	53~60	del	out	/
14	BMD	45~48	del	in	阴性	36	DMD	53~70	del	out	/
15	BMD	45~48	del	in	阴性	37	BMD	3~7	dup	out	/
16	DMD	45~48	del	in	/	38	DMD	5~7	dup	out	阳性
17	DMD	45~48	del	in	/	39	DMD	6~7	dup	out	/
18	DMD	45~50	del	out	阴性	40	DMD	22~28	dup	out	/
19	DMD	45~50	del	out	阳性	41	DMD	26~45	dup	out	阳性
20	DMD	45~50	del	out	/	42	DMD	44~45, 49~61	dup	out	/
21	DMD	45, 47~52	del	out	/	43	DMD	50~55	dup	in	/
22	BMD	45~51	del	in	阳性						

注: del表示突变类型为大片缺失; dup表示突变类型为大片重复; in表示基因突变符合整码突变; out表示基因突变符合移码突变; /表示母亲未进行基因验证, 阳性表示母亲携带致病基因。

表2 7例微小突变患儿临床资料与基因检测结果

编号	表型	突变位置	突变	蛋白质改变	突变类型	HGMD收录	母亲验证结果
1	DMD	外显子32	c.4354C>T	p.Gln1452Ter	无义突变	否	阴性
2	DMD	外显子31	c.4241delC	p.Thr1414Lysfs*	移码突变	否	/
3	DMD	外显子38	c.5404C>T	p.Gln1802Ter	无义突变	是	/
4	DMD	外显子61	c.9033C>T	p.Arg3030Ter	无义突变	否	/
5	DMD	外显子59	c.8713C>T	p.Arg2905Ter	无义突变	否	/
6	DMD	外显子54	c.8028-2A>G	mRNA异常	剪切突变	否	阴性
7	DMD	外显子18	c.2221T>C	p.741Ile>Tyr	错义突变	否	阳性

注: /表示母亲未进行基因验证, 阳性表示母亲携带致病基因。

### 2.3 基因缺失/重复与阅读框架原则

基因突变符合整码突变,且表型为BMD和基因突变符合移码突变,且表型为DMD,则符合阅读框架原则。43例存在基因缺失/重复的患儿中,DMD 32例、BMD 11例,有37例符合阅读框架原则,符合率为86%(37/43)。移码突变患儿28例,符合阅读框架原则的DMD患儿27例(96%)、整码突变患儿15例,符合阅读框架原则的BMD患儿10例(67%)。外显子3~29、45~48、45~47缺失突变及外显子50~55重复突变均符合整码突变,但可见DMD表型患儿;外显子3~7重复突变符合移码突变,但临床表型为BMD。见表1。

### 2.4 家系分析结果

对20例先证者母亲进行基因检测,结果提示13例(65%)患儿母亲DMD基因存在异常,7例(35%)患儿母亲未检测出致病基因突变。

## 3 讨论

本文分析了52例BMD/DMD患儿的临床表型,其中DMD临床症状重,婴幼儿期主要表现为CK增高或行走不稳、易摔倒;学龄前、学龄儿童主要表现为乏力、肌无力、行走困难,其中4例患儿分别在6岁、6.5岁、7岁、8岁时丧失行走能力。BMD临床表型较温和,多以CK升高或肌肉酸痛为主要表现。所有患儿CK均升高,DMD患儿CK水平( $13333 \pm 8320$  IU/L)显著高于BMD患儿( $2704 \pm 1773$  IU/L),因此CK升高程度可能有助于鉴别BMD和DMD。几乎所有患儿伴有ALT、AST不同程度增高,因此,临床上对不明原因的血清酶学升高的患者需警惕BMD或DMD可能。

多项研究证实MLPA+NGS测序方法灵敏度高,检出率均大于90%<sup>[8-9]</sup>,与肌肉活检相比具有方便经济的优势。本研究采用MLPA技术对52例临床诊断BMD/DMD患儿进行基因检测,检测出43例患儿携带DMD基因大片段缺失或重复突变,检出率为83%,与国内外研究结果相近(75.2%~81.8%)<sup>[8,10-11]</sup>,对MLPA结果无异常者行NGS检测。结合MLPA+NGS方法,共检测出50例患儿携带致病基因突变,检出率为96%。MLPA检测结果中缺失突变占69%,重复突变占13%,与文献<sup>[12-14]</sup>中得出缺失突变占62.0%~72.2%,重复突变占

8.8%~13.3%的结论相近。其中69%缺失突变集中在45~55号外显子的缺失热点区域,这与文献<sup>[14-15]</sup>报道的结论相一致。有4例患儿的基因型涉及两个区域的基因缺失或重复,临床表现均为典型的DMD症状。此复杂的基因重排在当前的文献报道中非常罕见,如Juan-Mateu等<sup>[11]</sup>报道的576患儿中仅有1例,占比0.17%;Xu等<sup>[16]</sup>对237例患儿的研究中发现4例,占比1.68%;而在本研究中并不少见,其所占比例为8%。在进一步使用NGS技术检测9例患儿中,共检测出7例具有单核苷酸水平突变,其中除外显子38 c.5404C>T(p.Gln1802Ter)的无义突变既往已报道<sup>[17]</sup>,余6例突变类型在HGMD数据库中无报道,患儿的临床表型同样为DMD。然而,MLPA+NGS技术不能检测到发生在内含子、调控区域序列、启动子的致病性突变,对于临床高度怀疑的患者,尚需肌肉活检进一步确诊。

在43例存在大片段缺失/重复的患儿中,基因突变类型属于整码突变的有15例,临床表型中有10例为BMD、5例为DMD;属于移码突变的有28例,临床表型中有27例为DMD、1例为BMD。在这之中符合阅读框架原则的占86%,与已收录在中国基因遗传病注册网中的数据相近,即网站收录的5681名患者中符合阅读框架原则的有90.8%<sup>[18]</sup>。本研究移码突变患儿中有96%符合阅读框架原则(表型为DMD),与Juan-Mateu等<sup>[11]</sup>的研究(90.4%)相近;而整码突变患儿中有67%符合阅读框架原则(表型为BMD),则低于Juan-Mateu等<sup>[11]</sup>的研究(82.4%),可能与样本量少有关。本研究中部分患儿基因型与临床表型不一致的情况在阅读框架原则中无法解释,如本研究中有3例患儿的外显子45~47缺失为整码突变,临床表型有1例为DMD、2例为BMD;4例患儿的外显子45~48缺失也为整码突变,而有2例为DMD,2例为BMD。为防止样本量少造成误差,在Edyostrophin网站上进一步查阅由其他多个国家提供的外显子45~47缺失和外显子45~48缺失突变的病例报道,其中为前者突变类型的报道共250例,后者为173例,绝大多数表现为BMD,少数为DMD。除此之外,本研究中有1例外显子3~29缺失患儿和另外1例外显子50~55重复患儿均为整码突变,但临床表型为

DMD, 另1例外显子3~7重复不符合整码突变, 但临床表型为BMD。根据目前的研究报道, 解释这些患儿基因型与临床表型不符合阅读框架原则的机制可能有以下几种: 可能在内含子中部分序列的改变激活潜在的剪接增强子, 虽不影响蛋白的分离, 但改变mRNA的剪接方式, 导致表型与基因型不符<sup>[19]</sup>; 或因不同个体间RNA降解控制效率的差异导致表型轻重不一, 使临床表型存在着个体差异<sup>[20]</sup>; 此外, 也有内含子断裂处形成假外显子, 导致基因重排, 假外显子被识别, 破坏读码阅读框原则, 合成无功能的抗肌萎缩蛋白<sup>[21]</sup>; 若在可变剪接的过程中产生了外显子跳跃, 则合成的抗肌萎缩蛋白保留羧基末端, 仍具有一定功能<sup>[22]</sup>, 而表现为表型与基因型不一致。

在7例微小突变患儿中, 其中1例移码突变, 4例无义突变患儿均表现为DMD症状。这5例患儿基因突变位点均在DMD基因的9~63外显子之间, 该区域合成抗肌萎缩蛋白的中央棒状区, 而移码、无义突变导致蛋白合成提前终止, 使得编码的抗肌萎缩蛋白缺失富含半胱氨酸区域和5'端羧基区域的重要结构。据Draviam等<sup>[23]</sup>的报道, 若抗肌萎缩蛋白富含半胱氨酸区和羧基端区的前半部受损害则几乎均引起DMD。本研究中有1例患儿为54号外显子区域c.8028-2A>G的剪切突变, 临床表型为DMD, 推测该突变会导致mRNA剪切异常, 进而很可能会损害其蛋白功能; 另外1例为18号外显子c.2221T>C(p.741Ile>Tyr)错义突变的患儿, 表型为DMD, 推测该突变可能损害蛋白重要功能结构。

随着对DMD分子遗传学发病机制的研究, 人类有望可以通过基因治疗治愈该疾病。对DMD基因无义突变的患者进行通读治疗, 抑制提前出现的终止密码子, 合成完整的抗肌萎缩蛋白<sup>[24]</sup>。反义寡核苷酸(ASO)是目前基因治疗的研究热点, 针对阅读框遭破坏的DMD患者诱导外显子跳跃, 使抗肌萎缩蛋白mRNA从移码突变到整码突变, 使DMD达到BMD的转变<sup>[25]</sup>。目前, 针对51号外显子跳跃的药物Eteplirsen在2016年已通过FDA批准<sup>[26]</sup>, 53号外显子跳跃的药物NS-065/NCNP-01在体外试验中证实可恢复肌营养不良蛋白的表达<sup>[27]</sup>。外显子45~55<sup>[22]</sup>跳跃理论上受益于绝大部分患者。本研究中可能至少70%患儿将来受益于基因治疗。

本文对20例先证者母亲进行基因检测, 发现约65%患儿母亲为携带者, 35%患儿为散在病例。对有明确家族史的患儿, 可通过遗传咨询和产前诊断工作避免BMD/DMD的患儿出生。然而, 文献报道约1/3患儿为散发病例<sup>[28]</sup>, 虽母亲未检测到基因突变, 仍不能除外其携带致病基因异常的可能。其基因突变可能发生在胚胎早期形成体细胞嵌合时, 或者生殖腺嵌合卵细胞减数分裂期<sup>[29]</sup>, 同时不能排除因隐匿传递致病基因的暴露而导致的突变。因此, 对于散在病例也是有必要进行产前诊断的。我国2018年新生儿数有1523万, 理论上新出生DMD患儿约为2000人, 只有通过产前咨询和产前诊断可减少新发病例, 减轻患儿的家庭负担和国家医疗负担。

总之, 随着对BMD/DMD行精准分子生物学水平的认识, BMD/DMD患儿的临床表型与基因型的关系将逐渐阐明, 有望通过基因治疗治愈该病。

#### [参 考 文 献]

- [1] Emery AE. The muscular dystrophies[J]. *Lancet*, 2002, 359(9307): 687-695.
- [2] Falzarano MS, ScoRon C, Passarelli C, et al. Duchenne muscular dystrophy: from diagnosis to therapy[J]. *Molecules*, 2015, 20(10): 18168-18184.
- [3] Taglia A, Petillo R, D'Ambrosio P, et al. Clinical features of patients with dystrophinopathy sharing the 45-55 exon deletion of DMD gene[J]. *Acta Myol*, 2015, 34(1): 9-13.
- [4] Chakkalakal JV, Thompson J, Parks RJ, et al. Molecular, cellular, and pharmacological therapies for Duchenne/Becker muscular dystrophies[J]. *FASEB J*, 2005, 19(8): 880-891.
- [5] Ji X, Zhang J, Xu Y, et al. MLPA application in clinical diagnosis of DMD/BMD in Shanghai[J]. *J Clin Lab Anal*, 2015, 29(5): 405-411.
- [6] Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, et al. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus[J]. *Genomics*, 1988, 2(1): 90-95.
- [7] 左启华. 小儿神经系统疾病[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 867-869.
- [8] Toksoy G, Durmus H, Aghayev A, et al. Mutation spectrum of 260 dystrophinopathy patients from Turkey and important highlights for genetic counseling[J]. *Neuromuscul Disord*, 2019, 29(8): 601-613.
- [9] Wang D, Gao M, Zhang K, et al. Molecular genetics analysis of 70 Chinese families with muscular dystrophy using multiplex ligation-dependent probe amplification and next-generation sequencing[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 814.
- [10] Ma P, Zhang S, Zhang H, et al. Comprehensive genetic characteristics of dystrophinopathies in China[J]. *Orphanet J Rare*

- Dis, 2018, 13(1): 109.
- [11] Juan-Mateu J, Gonzalez-Quereda L, Rodriguez MJ, et al. DMD mutations in 576 dystrophinopathy families: a step forward in genotype-phenotype correlations[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135189.
- [12] Tomar S, Moorthy V, Sethi R, et al. Mutational spectrum of dystrophinopathies in Singapore: insights for genetic diagnosis and precision therapy[J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2019, 181(2): 230-244.
- [13] Cho A, Seong MW, Lim BC, et al. Consecutive analysis of mutation spectrum in the dystrophin gene of 507 Korean boys with Duchenne/Becker muscular dystrophy in a single center[J]. Muscle Nerve, 2017, 55(5): 727-734.
- [14] Deepha S, Vengalil S, Preethish-Kumar V, et al. MLPA identification of dystrophin mutations and in silico evaluation of the predicted protein in dystrophinopathy cases from India[J]. BMC Med Genet, 2017, 18(1): 67.
- [15] Ling C, Dai Y, Fang L, et al. Exonic rearrangements in DMD in Chinese Han individuals affected with Duchenne and Becker muscular dystrophies[J]. Hum Mutat, 2020, 41(3): 668-677.
- [16] Xu Y, Li Y, Song T, et al. A retrospective analysis of 237 Chinese families with Duchenne muscular dystrophy history and strategies of prenatal diagnosis[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(7): e22445.
- [17] Janssen B, Hartmann C, Scholz V, et al. MLPA analysis for the detection of deletions, duplications and complex rearrangements in the dystrophin gene: potential and pitfalls[J]. Neurogenetics, 2005, 6(1): 29-35.
- [18] Zhou J, Xin J, Niu Y, et al. DMD toolkit: a tool for visualizing the mutated dystrophin protein and predicting the clinical severity in DMD[J]. BMC Bioinformatics, 2017, 18(1): 87.
- [19] 杨新宇, 杨树源, 王明璐, 等. 中枢神经系统肿瘤患者 CSF、血清髓鞘碱蛋白测定的临床意义[J]. 天津医药, 1997, 25(10): 600-603.
- [20] Kerr TP, Sewry CA, Robb SA, et al. Long mutant dystrophins and variable phenotypes: evasion of nonsense-mediated decay[J]. Hum Genet, 2001, 109(4): 402-407.
- [21] Gualandi F, Trabanelli C, Rimessi P, et al. Multiple exon skipping and RNA circularisation contribute to the severe phenotypic expression of exon 5 dystrophin deletion[J]. J Med Genet, 2003, 40(8): e100.
- [22] Echigoya Y, Lim KQR, Nakamura A, et al. Multiple exon skipping in the Duchenne muscular dystrophy hot spots: prospects and challenges[J]. Personalized Medicine, 2018, 8(4): pii: E41.
- [23] Draviam R, Billington L, Senchak A, et al. Confocal analysis of the dystrophin protein complex in muscular in dystrophys[J]. Muscle Nerve, 2001, 24(2): 262-272.
- [24] Bladen CL, Salgado D, Monges S, et al. The TREAT-NMD DMD global database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations[J]. Hum Mutat, 2015, 36(4): 395-402.
- [25] Shimizu-Motohashi Y, Miyatake S, Komaki H, et al. Recent advances in innovative therapeutic approaches for Duchenne muscular dystrophy: from discovery to clinical trials[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(6): 2471-2489.
- [26] Lim KR, Maruyama R, Yokota T, et al. Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy[J]. Drug Des Devel Ther, 2017, 11: 533-545.
- [27] Watanabe N, Nagata T, Satou Y, et al. NS-065/NCNP-01: An antisense oligonucleotide for potential treatment of exon 53 skipping in Duchenne muscular dystrophy[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 13: 442-449.
- [28] Yiu EM, Kornberg AJ. Duchenne muscular dystrophy[J]. J Paediatr Child Health, 2015, 51: 759-764.
- [29] Bermúdez-López C, Teresa BG, Angel AG, et al. Germinal mosaicism in a sample of families with Duchenne/Becker muscular dystrophy with partial deletions in the DMD gene[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2014, 18(2): 93-97.

( 本文编辑: 万静 )