

# 肝豆状核变性的骨骼代谢研究与治疗现状

杨广斌 王训 杨任民

肝豆状核变性(HLD)系常染色体隐性遗传性铜代谢障碍性疾病,是少数几种可以治疗的神经遗传性疾病之一,1912年Wilson对其临床及病理特征进行了详细探讨,故亦称为Wilson病(WD)。WD基因于1993年被成功克隆。

国外的流行病学调查资料显示,肝豆状核变性的患病率为(1.50~3.00)/10万,基因频率0.30%~0.70%,杂合子频率约为1/100<sup>[1]</sup>;国内目前尚无关于肝豆状核变性的流行病学调查资料。随着诊断水平的提高,肝豆状核变性的发病率呈增加趋势。

综合近年文献,肝豆状核变性的发病机制主要包括4个方面:铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)合成障碍;胆汁排泄铜离子障碍;金属硫蛋白(metallothionein, MT)基因及调节基因异常;溶酶体缺陷<sup>[2]</sup>。这些生理机制的异常,导致肝豆状核变性患者体内铜离子过量沉积,逐渐蓄积于肝脏、肾脏、脑、角膜及骨关节等器官和组织中;对组织产生毒性作用,破坏线粒体、过氧化物小体、溶酶体等结构,造成细胞损害。由于体内铜离子沉积的部位和数量存在一定的个体差异性,故可造成以个别器官为主的多系统损害,产生复杂多样的临床表现<sup>[3]</sup>。一般表现为以言语不清、肢体震颤、姿势异常为主的锥体外系症状,或以纳差、黄疸、腹胀为主的肝脏病变症状;以血尿和蛋白尿为主的肾脏损害较为多见;部分患者可以精神症状为首发症状,由于精神症状复杂多样,常易误诊<sup>[4]</sup>。约半数患者在发病前或发病过程中存在持续性或间歇性膝腕关节、胫腓骨、骨盆等骨疼痛症状,部分患者还可于长期骨关节症状后出现肝脏和中枢神经系统症状,生长发育期患儿双侧下肢可呈“X”形或“O”形畸形,而被误诊为关节炎、佝偻病或其他代谢性骨疾病。少数肝豆状核变性患者可在骨折后诱发肝脏或中枢神经系统症状,呈急性起病。肝豆状核变性患者的骨关节症状已逐渐引起临

床的关注,文献报道日益增多<sup>[5-8]</sup>,其中喻绪恩和杨任民<sup>[6]</sup>总结骨-肌型肝豆状核变性患者临床特征如下。(1)以骨关节和(或)肌肉疼痛以及双侧下肢“X”形或“O”形畸形、脊柱侧弯和双足内翻等骨骼畸形为首发症状和主要表现。(2)疾病晚期可伴有轻度言语障碍、肌强直等中枢神经系统症状,并对1例骨-肌型肝豆状核变性患者进行头部MRI检查,发现其双侧壳核、丘脑和脑干呈异常信号,与脑型肝豆状核变性无明显区别。

## 一、肝豆状核变性患者异常骨骼代谢的发生机制

关于肝豆状核变性发病机制的文献报道较少见,Hegedus等<sup>[9]</sup>对21例肝豆状核变性患者进行骨骼代谢相关研究发现,骨密度降低,血清骨保护素(osteoprotegerin, OPG)水平高于健康对照者。笔者曾于2003年通过检测血清或尿液中的钙、磷水平,及骨代谢相关激素甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、降钙素(calcitonin, CT)、1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxy-vitaminD<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]和骨钙素(osteocalcin, OC)水平,对肝豆状核变性患者异常骨骼代谢的发生机制进行研究,结果显示骨密度均明显降低,血清钙、甲状旁腺激素和1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>水平降低,降钙素和骨钙素水平代偿性升高<sup>[10]</sup>。进一步的研究发现,对患者的骨代谢异常进行干预性治疗如补充外源性1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>可明显改善骨代谢异常<sup>[11]</sup>;同时观察到此类患者骨骼X线表现为骨质疏松、佝偻病或骨质软化、骨赘形成、关节膨大及点状高密度影<sup>[11]</sup>。肝豆状核变性患者的异常骨骼代谢可能与以下机制有关。

1. 体内铜蓝蛋白合成障碍 铜离子作为酶的辅助因子参与骨组织有机合成过程中酶蛋白的催化反应。肝豆状核变性患者由于体内铜蓝蛋白合成障碍,铜离子生物利用不良、铜氧化酶活性降低,致使胶原分子内交联受阻,造成骨胶原结构和功能异常。动物实验证实,铜离子缺乏可使动物骨骼结构异常,主要表现为骨皮质变薄,骨髓腔增宽,骨小梁

作者单位:230061 合肥,安徽中医学院神经病学研究所附属医院神经内科

通讯作者:杨广斌(Email:guangyang@163.com)

变细、减少,以及自发性骨折等骨质疏松现象<sup>[12]</sup>。

2. 游离铜离子在骨组织内沉积 肝豆状核变性患者由于铜蓝蛋白合成障碍,体内大量铜离子与白蛋白结合疏松,易于脱落而沉积于组织中,如脱落的铜离子沉积于骨组织中即影响正常钙、磷结晶的形成,使钙、磷不能正常沉积,导致骨骼代谢异常,从而影响骨骼的正常结构。

3. 铜离子沉积导致器官功能障碍,继而影响骨骼代谢 (1)铜离子对肝脏功能的影响:铜离子在肝细胞内过量沉积可引起肝细胞变性、坏死,逐渐产生肝脏纤维化<sup>[3]</sup>。肝细胞微粒体合成 25-羟维生素 D<sub>3</sub> 能力减退,导致 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 合成减少,后者具有促进肠道吸收钙、磷,骨质矿化,肾脏重吸收钙、磷等生理功能。(2)铜离子对肾脏功能的影响:肝豆状核变性患者的肾脏损害日益受到重视,王金萍等<sup>[13]</sup>对 159 例肝豆状核变性患者进行 B 超检查发现,138 例(86.79%)双侧肾脏呈弥漫性病理改变,表现为实质回声增多、增强,皮髓质界限欠清晰甚至呈完全一致性回声增强。Nomiyama 等<sup>[14]</sup>应用 Long-Evans Cinnamon(LEC)大鼠制备暴发性肝豆状核变性模型,结果显示铜离子损伤肾脏近曲小管上皮细胞,并发现肝脏释放过量铜离子是造成肾脏损伤的主要原因。陈炼和张本恕<sup>[15]</sup>研究表明,肝豆状核变性患者不仅肾脏近曲小管损伤而且远曲小管亦受损。肾脏近曲小管上皮细胞为 1 $\alpha$ -羟化酶合成场所,使肝脏合成的 25-羟维生素 D<sub>3</sub> 羟化生成有活性的 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub>。因此,肝豆状核变性患者由于尿液中钙、磷、氨基酸丢失以及肾脏 1 $\alpha$ -羟化酶活性减弱,致使骨基质形成或矿化不良。(3)铜离子在下丘脑、垂体及周围腺体沉积造成的损害:喻绪恩和杨任民<sup>[6]</sup>对 132 例肝豆状核变性患者进行 MRI 观察,其影像学特征表现为壳核和丘脑呈长 T<sub>1</sub>、长 T<sub>2</sub> 异常信号,同时可出现苍白球、脑干异常信号,小脑及大脑皮质软化灶,且随着病程的延长而出现脑组织弥漫性萎缩。因此认为,铜离子在中枢神经系统广泛沉积,由于下丘脑、垂体解剖位置较深、体积较小,轻度异常在影像学上难以辨认。

有研究显示,肝豆状核变性患者的血清雌激素(estrogen)、生长激素(growth hormone, GH)水平显著降低<sup>[16,17]</sup>,甲状旁腺激素水平亦降低<sup>[10]</sup>。腺体内分泌功能异常推测可能存在中枢性或周围性铜离子沉积性腺体组织损伤,继而影响骨骼代谢。

Garcia-Valdecasas-Campelo 等<sup>[18]</sup>对慢性酒精性

肝病致骨质疏松患者进行骨骼代谢的相关研究,结果表明患者血清骨保护素水平随肝功能损害程度的加重而逐渐升高,并与肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-6(IL-6)水平呈显著正相关关系。但是,肿瘤坏死因子- $\alpha$  等细胞因子是否对肝豆状核变性患者的骨骼代谢有影响,尚有待进一步的研究加以证实。

## 二、肝豆状核变性的研究及治疗现状

目前,临床多应用间接检测方法诊断肝豆状核变性患者的铜离子沉积性损伤,包括骨骼、脑组织等重要器官的铜离子检测。组织病理学检查因标本来源困难尚难以进行大样本研究。目前 LEC 大鼠是研究肝豆状核变性的最佳模型动物,但尚无任何一种动物模型可以复制肝豆状核变性的全部临床特征,且其病理过程与人类尚存在较大差异。可能与动物进化过程中 *ATP7B* 基因功能不断复杂多样化有关。开发新的更接近灵长类动物的肝豆状核变性动物模型,不仅可对肝豆状核变性研究起到推动作用,而且能够促进人类对铜离子代谢及其相关疾病的深入了解<sup>[19]</sup>。

1. 药物治疗 肝豆状核变性的基因治疗尚处于实验室阶段,目前长期应用铜螯合剂并配合低铜饮食,可基本控制绝大多数肝豆状核变性患者的病情,使其获得与健康人一样长的寿命。研究表明,应用青霉胺(penicillamine)或曲恩汀(trientine)治疗后患者血浆中的铜蓝蛋白水平明显降低,肝脏铜离子减少,血清亚铁氧化酶活性降低,肝脏非血红素铁(non-heme irons)明显增多<sup>[20]</sup>。因此在不中断驱铜治疗的情况下,应同时进行放血治疗并联合低铁饮食,以避免继发性铁负荷导致的肝脏损害<sup>[21]</sup>。肝豆状核变性患者是否同时存在铁负荷或是否需要进行治疗驱铁治疗,尚有待大样本临床试验的证实。业已证实,肝豆状核变性患者存在低血钙和 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 缺乏,外源性补充治疗有助于改善其骨骼代谢,缓解骨疼痛症状<sup>[11]</sup>。

2. 手术治疗 肝脏移植治疗和细胞(肝细胞和骨髓干细胞)移植治疗可为患者提供正常肝组织,肝功能恢复后亦可不同程度地改善铜离子代谢障碍。但手术治疗尚存在以下问题:(1)供肝者多为患者父母,亦可能为肝豆状核变性杂合子,尽管其铜离子代谢水平于正常值范围,但手术后可否完全纠正受体(肝豆状核变性纯合子)的铜离子代谢异常,尚需长期随访方可下结论。(2)异基因移植抗宿

主反应可引起肝功能恶化。(3)长期服用免疫抑制药可导致继发性感染。(4)神经系统并发症,如意识障碍、癫痫发作及周围神经系统损伤等,此与免疫抑制药环孢素 A(cyclosporin A, CsA)毒性有关<sup>[22]</sup>。因此,目前主张肝脏移植治疗仅适用于暴发性肝功能损害和慢性进展性肝功能损害的失代偿终末期的肝豆状核变性患者<sup>[23]</sup>。

参 考 文 献

[1] Gollan JL, Gollan TJ. Wilson disease in 1998: genetic, diagnostic, and therapeutic aspects. *J Hepatol*, 1998, 28 Suppl 1:28-36.  
 [2] 孙怡, 杨任民. 实用中西医结合神经病学. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 531-546.  
 [3] 杨任民. 肝豆状核变性. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1995: 31-110.  
 [4] 梁秀龄. 肝豆状核变性诊断与治疗中需注意的问题. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7:4-8.  
 [5] 张华军, 鲍远程. 220 例肝豆状核变性的临床分析. *实用诊断与治疗杂志*, 2005, 19:566-569.  
 [6] 喻绪恩, 杨任民. 肝豆状核变性 132 例颅脑 MRI 扫描分析. *中风与神经疾病杂志*, 2007, 24:30-34.  
 [7] Ghosh JB, Chakrabarty S, Singh AK, et al. Wilson's disease: unusual features. *Indian J Pediatr*, 2004, 71:937-938.  
 [8] Rodriguez Nieva N, Febrer Rotger A, Melendez Plumed M, et al. Osteoarthropathy in three siblings with Wilson's disease. *An Pediatr (Bare)*, 2004, 61:181-184.  
 [9] Hegedus D, Ferencz V, Lakatos PL, et al. Decreased bone density, elevated serum osteoprotegerin, and beta-cross-laps in Wilson disease. *J Bone Miner Res*, 2002, 17:1961-1967.  
 [10] 杨广娥, 洪铭范, 杨斌, 等. 肝豆状核变性患者异常骨代谢机制研究. *中国神经精神疾病杂志*, 2003, 29:201-203.  
 [11] 杨广娥, 王训, 徐经生, 等. 驱铜联合活性维生素 D<sub>3</sub> 治疗对

Wilson's 病患者骨骼及代谢的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13:667-674.  
 [12] 李青仁, 王月梅. 微量元素铜与人体健康. *微量元素与健康研究*, 2007, 24:61-63.  
 [13] 王金萍, 王兴族, 王宁新, 等. 肝肾 B 超检查在肝豆状核变性诊断中的价值. *安徽中医学院学报*, 2006, 25:56-57.  
 [14] Nomiya K, Nomiya H, Kameda N, et al. Mechanism of hepatorenal syndrome in rats of Long-Evans Cinnamon strain, an animal model of fulminant Wilson's disease. *Toxicology*, 1999, 132(2/3):201-214.  
 [15] 陈炼, 张本恕. 肝豆状核变性肾脏近端小管损害的研究. *天津医药*, 2007, 35:503-505.  
 [16] Kaushansky A, Frydman M, Kautman H, et al. Endocrine studies of the ovulatory disturbances in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Fertil Steril*, 1987, 47:270-273.  
 [17] 赵连旭, 杨任民, 林连初. 男性肝豆状核变性下丘脑-垂体-睾丸轴功能研究. *中华神经科杂志*, 1998, 31:24-27.  
 [18] Garcia-Valdecasas-Campelo E, Gonzalez-Reimers E, Santolaria-Fernandez F, et al. Serum osteoprotegerin and RANKL levels in chronic alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol*, 2006, 41:261-266.  
 [19] 石铸, 梁秀龄. Wilson's 病的动物模型. *中国临床神经科学*, 2003, 11:88-91.  
 [20] Hayashi H, Yano M, Fujita Y, et al. Compound overload of copper and iron in patients with Wilson's disease. *Med Mol Morphol*, 2006, 39:121-126.  
 [21] Hayashi H, Ueno T, Yano M, et al. Two male patients with Wilson's disease treated using trientine and iron reduction therapy. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20:1627-1628.  
 [22] Erol I, Alehan F, Ozcay F, et al. Neurological complications of liver transplantation in pediatric patients: a single center experience. *Pediatr Transplant*, 2007, 11:152-159.  
 [23] 黄智恒, 王丽娟. 肝豆状核变性的治疗进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7:29-31.

(收稿日期:2008-03-08)

· 专题小词典 ·

基因与基因组学

基因系指携带遗传信息的脱氧核糖核酸(DNA)序列,是控制生物遗传性状的基本单位。人类基因分布于 22 对常染色体和 1 对性染色体(X、Y 染色体)上,每条染色体由 1 条双螺旋 DNA 分子构成。DNA 分子含有腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)四种核苷酸,并按照碱基配对原则(A 与 T 配对,G 与 C 配对)结合形成碱基对。人类共有约 30 亿个碱基对,这些碱基对排列形成的基因数目为 10 万左右。基因通过指导蛋白质的合成来表达其所携带的遗传信息,以控制生物的性状表现。基因有两个特点:一是可自体复制,以保持生物的基本特征;二是在复制与表达过程中,可发生核苷酸序列的改变,形成基因突变,绝大多数基因突变可导致疾病的发生。人类除外伤外几乎所有疾病都与基因直接或间接相关,每种疾病都有其相应的致病基因或易患基因,疾病的发生是基因与内外环境相互作用导致基因表达异常的结果。

对生物体内所有基因进行绘图、核苷酸序列分析以及基因定位和基因功能分析的一门科学称为基因组学。2003 年,人类基因组测序工作提前完成,但这只是万里长征的第一步,如何解读人类基因组这本“天书”即进行功能基因组学研究则是一项更为最艰巨的任务。功能基因组学以全面研究基因功能为中心,结合基因功能解决生物医学中的基础和应用问题,它包括疾病基因组学、蛋白质组学、药物基因组学、毒理基因组学等诸多领域。研究疾病的功能基因组称为疾病基因组学,包括疾病相关基因的认识、鉴定和克隆,相关基因的结构与功能,基因突变体的系统鉴定,与疾病防治相关的基因表达的调控以及基因相互作用网络等。疾病基因组学研究将成为后基因组时代的“主旋律”。

(福建医科大学附属第一医院神经内科林宇等供稿)