

不同性别 Fabry 患者的 α -半乳糖苷酶 A 活性研究^{*}

李娟¹, 张德莲², 木拉力别克², 李南方^{2△}, 杨学磊³, 郑灵玲³, 黄昱⁴ (1. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000; 新疆维吾尔自治区人民医院; 2. 高血压中心/新疆高血压研究所; 3. 临床医学研究中心, 乌鲁木齐 830001; 4. 北京大学医学部医学遗传学系, 北京 100191)

【摘要】 目的 了解 Fabry 病中不同性别患者 α -半乳糖苷酶 A (α -Gal A) 活性情况。**方法** 选取一个 Fabry 病家系的 8 例患者和 13 例健康者, 应用干血片法测定经过 GLA 基因检测确诊的 Fabry 病患者和健康者 α -Gal A 活性并进行比较。**结果** 男性患者的 α -Gal A 活性 $[(8.66 \pm 2.15) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$ 为健康对照者 $[(188.31 \pm 42.23) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$ 的 4.6%, 女性患者 $[(149.93 \pm 46.56) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$ 则为健康对照者的 79.62%。男性半合子患者酶活性明显下降 ($P < 0.05$)。 α -Gal A 活性检测对男性半合子的灵敏度高于女性杂合子。**结论** α -半乳糖苷 A 活性下降程度存在性别差异, 男性半合子 Fabry 病患者酶活性明显下降。

【关键词】 Fabry 病; GLA 基因; α -半乳糖苷酶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.16.010 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)16-2323-02

Study of alpha galactosidase A activity in different genders of patients with Fabry disease^{*} LI Juan¹, ZHANG De-lian², Mulalibieke², LI Nan-fang^{2△}, YANG Xue-lei³, ZHENG Ling-ling³, HUANG Yu⁴ (1. Medical School of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Hypertension Center/Hypertension Institute of Xinjiang; 3. Clinical Medicine Research Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Wulumuqi, Xinjiang 830001, China; 4. Department of Medical Genetics, Department of Medicine, Peking University, Beijing 100191, China)

【Abstract】 Objective To investigate the activity of α -galactosidase A (α -Gal A) in different genders of the patients with Fabry disease. **Methods** 8 patients with Fabry disease GLA gene detection diagnosed by and 13 healthy members in a family were selected and detected the α -Gal A activity by using the dried blood spots method. **Results** The α -Gal A activity in the male patients with Fabry disease was $[(8.66 \pm 2.15) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$, which was only 4.6% of $[(188.31 \pm 42.23) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$ in the healthy controls, whereas female patients was 79.62% of $[(149.93 \pm 46.56) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})]$ in the healthy controls. The α -Gal A activity in hemizygous male patients was significantly lowered ($P < 0.05$), the α -Gal A activity detection had higher sensitivity in male hemizygote than female heterozygous. **Conclusion** The gender difference exists in the decreased degree of α -Gal A activity. The enzymatic activity is significant reduced in male patients with hemizygotic Fabry disease.

【Key words】 Fabry disease; GLA gene; α -galactosidase A

Fabry 病是 1898 年由 Anderson 和 Johann Fabry 提出, 故名 Anderson-Fabry 病, 简称 Fabry 病。它是由于 α -半乳糖苷酶 A (α -Gal A) 先天性缺乏使其底物酰基鞘氨醇己三糖苷 (Gb3) 和酰基鞘氨醇己二糖苷的末端半乳糖酰基不能被降解进而不断蓄积在体内, 导致皮肤、心、脑、肾、胃肠、肺等组织器官损害, 也是自 Gaucher 病后发现的第 2 种溶酶体贮积病 (LSDs)^[1-2]。因本症缺乏特异性临床表现, 筛选体系尚不完善, 其误诊率和漏诊率都很高。目前针对 Fabry 病的诊断可以通过在生化检查中发现 α -Gal A 活性下降, 在病理组织中找到特征性的嗜碱性包涵体以及通过基因检测发现 GLA 突变^[3-4]。然而病理诊断为有创检查, 基因检测则需要一定周期及较高的技术要求, 而 α -Gal A 活性检测是一快速、简便、经济的检测手段, 为此本研究通过对一个 Fabry 病家系中不同性别的患者和健康者的 α -Gal A 活性进行分析比较, 了解 Fabry 病不同性别患者中 α -Gal A 的活性, 以期今后提高 Fabry 病的

检出率提供一定的理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 1 个 Fabry 家系的 8 例 Fabry 病患者, 其中男 3 例, 女 5 例, 平均 (36.38 ± 19.41) 岁进行研究。8 例中包括 Fabry 病先证者 1 例, 先证者及其家系成员均经 X 染色体上 GLA 基因检测确诊为 Fabry 病, 所有研究对象均知情同意。另对 13 例居住于同一地区的健康志愿者作为酶活性检测健康对照组, 其中男 5 例, 女 8 例, 平均 (46.85 ± 18.52) 岁。

1.2 方法 α -半乳糖苷酶活性测定: 应用干血片法测定肝素抗凝血浆 α -Gal A 活性, 由北京大学医学部医学遗传学系完成。荧光底物为 5.0 mm 4-羟甲香豆素基- α -D-半乳糖基吡喃糖苷, 抑制剂为 0.1 mol/L N-乙酰-氨基半乳糖苷, 标准物为 4-羟甲香豆素, 检测滤纸上干燥血滴 (约 5.5 μ L) 的酶活性。正常参考范围 $(100 \sim 500) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理及统计

^{*} 基金项目: 新疆维吾尔自治区重点实验室资助项目 (XJYS0906)。

作者简介: 李娟, 女, 在读研究生, 主要从事心血管系统疾病方面的研究。 $\triangle$ 通讯作者, E-mail: Lnanfang2010@sina.com。

学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

通过对 13 例健康对照组和 8 例 Fabry 患者组的 α -半乳糖苷酶活性测定与比较发现:(1)对照组 α -半乳糖苷酶活性平均值为 $(188.31 \pm 42.23) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,其中在男性健康对照组为 $(152.76 \pm 14.32) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,女性健康对照组为 $(210.53 \pm 50.70) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,男女之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。(2)Fabry 病患者酶活性下降,平均值为 $(96.96 \pm 81.15) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,且与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.005$)。(3)Fabry 病患者中 3 例男性半合子患者 α -半乳糖苷酶活性的平均值为 $(8.66 \pm 2.15) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,是健康对照者的 4.6%,明显低于男性健康对照组($P < 0.001$), α -半乳糖苷酶活性检测灵敏度在男性半合子患者中为 100%;5 例女性杂合子患者的 α -半乳糖苷酶活性的均值为 $(149.93 \pm 46.56) \times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$,为健康对照者的 79.62%,虽然较女性健康对照者有所下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与男性患者相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。 α -半乳糖苷酶活性检测未能检测出女性杂合子患者。健康对照组与 Fabry 病患者一般情况比较见表 1, α -半乳糖苷酶活性对 Fabry 病男、女患者筛检情况见表 2, α -半乳糖苷酶活性在不同性别中的亚层分析情况见表 3。

表 1 2 组一般情况的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	健康对照组	Fabry 患者组	<i>P</i>
年龄(岁)	46.85±18.52	36.38±19.47	0.232
SBP(mm Hg)	143.70±32.78	118.57±20.65	0.018
DBP(mm Hg)	86.70±16.55	76.00±12.85	0.257
BMI(kg/m ²)	19.44±1.54	17.83±1.67	0.137
尿素氮(mmol/L)	4.36±1.34	7.39±6.05	0.32
血肌酐($\mu\text{mol/L}$)	53.27±12.27	103.73±101.79	0.251
TC(mmol/L)	3.97±1.12	3.13±0.54	0.097
TG(mmol/L)	3.09±3.39	0.97±0.27	0.067
血钾(mmol/L)	3.68±0.24	4.21±0.75	0.105
血钠(mmol/L)	142.60±2.84	136.57±11.87	0.263
血氯(mmol/L)	106.30±3.30	104.57±9.64	0.648
酶活性[$\times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$]	188.31±49.23	96.96±81.15	0.004*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 家系成员中男、女的基因检测及酶活性情况(*n*)

项目	金标准	
	GLA 突变	无突变
酶活性(男)	降低	3
	正常	0
酶活性(女)	降低	0
	正常	5

表 3 按性别分层后 2 组 α -半乳糖苷酶活性的比较($\bar{x} \pm s$)

	酶活性[$\times 10^{-15} \text{ mol}/(\text{d} \cdot \text{spot})$]	<i>P</i>
健康男性	152.76±14.32	<0.01
男性患者	8.66±2.15	
健康女性	210.53±50.70	0.054
女性患者	149.93±46.56	
男性患者	8.66±2.15	0.002
女性患者	149.93±46.56	

3 讨 论

Fabry 病是由于编码 α -Gal A 的 GLA 基因发生突变,使鞘糖脂特别是三聚己糖神经酰胺沉积在溶酶体内,可引起多个系统脏器的损害^[5]。Fabry 病常见死亡原因是肾功能衰竭、脑血管意外和心肌梗死等。此外,由于 α -Gal A 代谢产物的沉积是一个渐进的过程,Fabry 病的临床表现也随着年龄的变化而有所不同,男性半合子平均生存期较健康人群短 20 年,女性杂合子平均生存期则缩短约 10 年^[6]。在欧洲针对 Fabry 病的酶替代疗法已用于临床治疗,而国内尚无治疗该病的特效药物,对 Fabry 病的治疗多为对症治疗^[7]。所以早期准确地诊断 Fabry 病患者,从而尽早给予治疗以减缓病情进展,成为 Fabry 病诊疗过程中非常重要的环节。

Fabry 病的发病机制是由于 α -Gal A 活性缺陷导致机体内鞘糖脂异常代谢堆积致病,故酶活性测定可用于诊断 Fabry 病。1967 年,Brady 等首先提出 Fabry 病患者血中 α -Gal A 活性降低。本研究通过对一个经基因检测确诊的家系成员和健康对照者的 α -Gal A 活性进行分析比较,发现男性半合子患者酶活性明显减低,仅是健康对照者的 4.6%,而家系中女性携带者酶活性在正常范围内,男性与女性患者之间的酶活性存在明显差异,证实了 α -Gal A 活性检测对于男性半合子具有非常高的敏感性及特异性,但是在女性杂合子患者酶活性检测结果可在正常范围内,从而使酶法诊断产生部分假阴性结果^[8-9]。这一结果也与 2005 年 Linthorst 等^[10]提出的在女性杂合子患者中,约有 1/3 因 GLA 基因上的特殊突变(如发生 N215S 突变),其 α -Gal A 活性测定常在正常范围一致。

总之,利用 α -Gal A 活性检测在 Fabry 病女性患者筛查中易造成漏诊,进而影响其自身的生活质量,增加后代的患病率。为此,针对家系中确诊有 Fabry 病的患者以及 Fabry 病可疑的女性,在检测 α -Gal A 活性的同时应进行基因检测。此外,2011 年,Paschke 等^[11]证实尿液 Gb3 总量和 Gb3 亚型可用于诊断女性 Fabry 病患者。但也有报道指出尿液和血浆中 Gb3 水平测定的可靠性和实用性还有待进一步探讨^[12]。因此,寻找无创、可靠、易测的生物标志物来快速诊断并评估 Fabry 病女性患者的病情,提高 Fabry 病检出率仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Schiffmann R, Pastores GM, Lien YH, et al. Agalsidase alfa in pediatric patients with Fabry disease: a 6.5-year open-label follow-up study[J]. Orphanet J Rare Dis, 2014, 9(1): 169.
- [2] Mauer M, Glynn E, Svarstad E, et al. Mosaicism of podocyte involvement is related to podocyte injury in females with Fabry disease[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112188.
- [3] 王朝晖, 潘晓霞, 陈楠. 提高对法布里病临床表现和实验室新指标的认识[J]. 诊断学理论与实践, 2014, 13(1): 20-23.
- [4] 郭立琳, 田庄, 刘永太, 等. Fabry 病的心脏受累表现[J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(11): 834-836.
- [5] Sigmundsdottir L, Tchan MC, Knopman AA, et al. Cognitive and psychological functioning in fabry disease[J]. Arch Clin Neuropsychol, 2014, 29(7): 642-650.
- [6] Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease[J]. Am J Hum Genet, 2004, 75(1): 65-74.
- [7] 刘冬梅, 杨学磊, 冯建军. 法布里病治(下转第 2327 页)

的桥梁作用,当机体发生感染时中性粒细胞表面的 CD64 表达可迅速增高,尤其在细菌感染者升高,具有较高的灵敏度和特异性^[1-4]。本研究结果显示,CD64 在细菌感染与非细菌感染时均升高,但细菌感染组的水平明显高于非细菌感染组($P<0.01$),且随着感染程度的加重,CD64 水平呈现明显递增趋势,严重脓毒血症组 CD64 水平达 $(4\ 080\pm2\ 967)$ ng/mL,与对照组相比较差异有统计学意义($P<0.01$)。以上结果提示 CD64 的表达缺乏特异性,但与细菌感染的严重程度密切相关,可作为对细菌感染程度评估与监测的 1 项良好指标,这与苏密龙等^[5]和 Icardi 等^[6]的报道一致。

PCT 是降钙素的前肽物,健康人体中主要由甲状旁腺细胞合成。本研究结果显示 PCT 在细菌感染时增高明显,在非细菌感染时则不增高,这与文献报道一致,说明 PCT 在反映细菌感染方面具有较高的敏感性和特异性^[7]。

HLA-DR 是单核细胞表面的重要抗原,是一种主要的Ⅱ级组织相容性抗原复合物,与感染时抗原在 T 细胞的表达和启动炎性瀑布反应有关。单核细胞下调或不表达 HLA-DR 都会抑制其抗原提呈的功能,且还会抑制其响应刺激分泌炎性因子功能。在成人创伤和手术患者明显减少,脓毒症时降低更为明显^[8]。HLA-DR 严重下调的患者可被认为是免疫麻痹,它可能会面临发生感染合并症的危险^[9]。本研究显示在细菌感染时 HLA-DR 明显下调,而非细菌感染则无明显改变,且二者间差异有统计学意义($P<0.01$),提示 HLA-DR 在反映细菌感染上具有良好的敏感性与特异性。进一步研究发现,HLA-DR 随着细菌感染程度的加重而下调明显,表明 HLA-DR 表达的下调还与临床细菌感染患者病情的发展相关联。相关性分析显示 HLA-DR 与 CD64 呈负相关($r=-0.36$, $P<0.01$),提示联合 HLA-DR 与 CD64 可能更有助于对细菌感染的评估与监测。

传统的炎性指标 CRP 作为一种急性时相反应蛋白,在炎症反应或者急性组织损伤时合成增加;本研究显示 CRP 与 PCT 呈正相关($r=0.43$, $P<0.01$),与陆青等^[10]的报道一致。另 2 项炎性指标 NAP 积分与 WBC 计数在细菌感染时缺乏特异性,且与 PCT 及 CD64 无相关性。

综上所述,PCT、CD64、HLA-DR 是较好的细菌感染指标,三者联合检测,对细菌感染的诊断、评估与监测有着重要的意义。

参考文献

[1] Hoffmann JJ. Neutrophil CD64: a diagnostic marker for

(上接第 2324 页)

- 疗进展[J]. 中国实用内科杂志,2012,32(9):711-713.
- [8] 才智勇,王素霞,章友康,等. 14 例 Fabry 病肾损害的临床、病理及基因突变特点的分析[J]. 中华肾脏病杂志,2012,28(12):909-915.
- [9] 鲁明,樊东升. Fabry 病与卒中[J]. 中国卒中杂志,2012,7(2):115-119.
- [10] Linthorst GE, Vedder AC, Aerts JM, et al. Screening for Fabry disease using whole blood spots fails to identify one-third of female carriers[J]. Clin Chim Acta, 2005, 353(1/2):201-203.

- infection and sepsis[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(8):903-916.
- [2] Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, et al. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12):3914-3919.
- [3] Bhandari V, Wang C, Rinder C, et al. Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker[J]. Pediatrics, 2008, 121(1):129-134.
- [4] Groselj-Grenc M, Ihan A, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensities and calculated indexes[J]. Mediators Inflamm, 2008, 2008(1):2026-2046.
- [5] 苏密龙,苏智军. 流式细胞术监测单核细胞、中性粒细胞 CD64 临床价值研究[J]. 中国免疫学杂志,2013,29(2):1072-1076.
- [6] Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, et al. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12):3914-3919.
- [7] Marchini G, Berggren V, Djilaik M, et al. The birth process initiates all acute phase reaction in the fetus 2 newborn infant[J]. Acta Paediatr, 2000, 89(9):1082-1086.
- [8] Menestrian N, Martini A, Milan A, et al. HLA-DR expression on monocytes and the T-cell subset in septic patients[J]. Critical Care, 2005, 9(S1):150.
- [9] Gogos C, Kotsaki A, Pelekanou A, et al. Early alterations of the innate and adaptive immune statuses in sepsis according to the type of underlying infection[J]. Crit Care, 2010, 14(3):R96.
- [10] 陆青,杨海敏. 全血 CRP 及其试剂的评估[J]. 上海医学检验杂志,1999,14(5):2-5.

(收稿日期:2015-01-25 修回日期:2015-04-16)

- [11] Paschke E, Fauler G, Winkler H, et al. Urinary total globotriaosylceramide and isoforms to identify women with Fabry disease: a diagnostic test study[J]. Am J Kidney Dis, 2011, 57(5):673-681.
- [12] Kistler AD, Siwy J, Breunig F, et al. A distinct urinary biomarker pattern characteristic of female Fabry patients that mirrors response to enzyme replacement therapy[J]. PLoS One, 2011, 6(6):e20534.

(收稿日期:2015-02-15 修回日期:2015-04-20)