

中国 2008 年克雅氏病监测病例特征分析

田焯 高晨 石琦 韩俊 周伟 张宝云 高永军 董小平

【摘要】 目的 了解中国克雅氏病(CJD)的发病情况及流行病学、临床特征。方法 对 2008 年中国克雅氏病监测网络获得的可疑 CJD 病例的临床及流行病学资料进行分析,收集患者脑脊液及血液样品,利用 Western blot 方法检测脑脊液中是否含有 14-3-3 蛋白,提取全血基因组 DNA 并利用 PCR 及测序方法对 *PRNP* 基因进行 129 位多态性及基因突变分析。结果 共发现散发型 CJD 临床诊断病例 31 例,疑似诊断病例 11 例,2 例家族性 CJD 和 1 例格-斯-斯综合征。病例的地理分布及职业无明显聚集性;临床诊断病例发病平均年龄 56.7 岁,男女比例 8:9;疑似诊断病例发病平均年龄为 57.4 岁,男女比例 5:6。快速进行性痴呆为最常见的首发症状,占全部诊断病例的 33.3%。临床诊断病例比疑似诊断病例出现更多的典型临床表现。结论 2008 年中国监测到的 CJD 病例以散发型为主,病例的地理分布、职业、性别比例以及平均年龄均符合散发型 CJD 的分布特点。

【关键词】 克雅氏病;监测;14-3-3 蛋白; *PRNP* 基因

Study on the characteristics of patients with Creutzfeldt-Jakob disease under 2008 surveillance data in China TIAN Chan, GAO Chen, SHI Qi, HAN Jun, ZHOU Wei, ZHANG Bao-yun, GAO Yong-jun, DONG Xiao-ping. State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China
Corresponding author: DONG Xiao-ping, Email: dongxp238@sina.com

【Abstract】 Objective To describe the epidemiological and clinical characteristics of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) in China. Methods Clinical and epidemiological data on patients from China CJD surveillance network was analyzed. Blood and cerebral spinal fluid (CSF) specimens from these patients were collected. Western blot assay was used to detect 14-3-3 protein in CSF, PCR and sequencing assay were used for analyzing the polymorphism of 129 amino acid and mutation of *PRNP* gene. Results A total number of 31 probable and 11 possible sporadic CJD patients were identified. Additionally, one patient with Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS) and 2 familial CJD cases were identified. No geographic- or occupational-related events were observed among these cases. The mean age of onset on the probable or possible CJD patients were 56.7 and 57.4 years old, with sex ratios of the probable CJD patients as 8:9 and the possible one as 5:6 respectively. Rapid progressive dementia was the main foremost symptom, presenting in 33.3% of the CJD patients. Probable CJD patients showed more clinical manifestations than those possible ones. Conclusion Geography distribution, occupation, ratio of gender and the mean onset age of the CJD cases in 2008 were consistent with the characteristics of the sporadic CJD.

【Key words】 Creutzfeldt-Jakob disease; Surveillance; 14-3-3 protein; *PRNP* gene

克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)是最早被认识的一种人类可传播性海绵状脑病^[1]。其感染因子为一种不含核酸的蛋白粒子 PrP^{Sc},是细胞朊蛋白 PrP^C的异常异构体^[2],引起的病理改变主要是脑组织的海绵样退行性变,临床主要表现为进行性

痴呆及一些神经系统症状。克雅氏病分为 4 类:散发型(sporadic CJD, sCJD)、家族性(familial CJD, fCJD)、医源型(iatrogenic CJD, iCJD)以及与疯牛病密切相关的变异型 CJD (variant CJD, vCJD)^[3]。sCJD 病因不明,发病地理分布无聚集,发病率约为 0.5/100 万 ~ 1.5/100 万,患者大部分为年龄较大的人群;fCJD 主要由编码 PrP^C 的基因 *PRNP* 发生突变引起;iCJD 是通过医疗操作感染朊病毒而引起;vCJD 由食用疯牛病感染因子污染的食物而引起。因 CJD 具有传染性和 100% 的致死率,特别是变异型 CJD 在全球不同地区不断的出现,逐渐成为威胁人类健康的重要公共卫生问题。我国于 2002 年开始 CJD 监

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.07.017

基金项目:国家科技攻关计划(2006BAD06A13-2);国家“973”项目(2007CB310505);国家自然科学基金(30771914、30800975);科研院所基金项目(2008EG150300)

作者单位:100052 北京,中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所传染病预防控制国家重点实验室

通信作者:董小平, Email: dongxp238@sina.com

测,目前监测网络不断扩大,收集的病例也逐渐增多,已建成了包含北京、上海、天津、重庆、吉林、陕西、湖北、广东、贵州、安徽、河南、新疆 12 个监测点的网络。为此对 2008 年的监测数据进行总结和分析。

资料与方法

1. 资料来源:所有疑似 CJD 病例均收集临床和流行病学资料,按照中国疾病预防控制中心(CDC)制订的《我国 CJD 监测实施方案》中的相应报告表格填写,结合脑脊液和血液检测结果,依据 WHO 颁布的 CJD 诊断标准^[4]给出处理意见,反馈至地方 CDC 和医院。报送的病例既有来自各个监测省市的医院,也有来自非监测点的福建、甘肃、辽宁、浙江省的病例。

2. 样本采集及检测:

(1) 样本采集:采集疑似 CJD 病例的血液和脑脊液样本,送至中国 CDC 病毒病预防控制所克雅氏病监测中心进行检测。血液样本采集 1~2 ml 外周静脉抗凝血,4℃ 保存;脑脊液样本采集 1~2 ml,外观透亮,无血液污染,-20℃ 保存。样本采集和运输均按照《我国 CJD 监测实施方案》中相关要求。

(2) 样本检测:①脑脊液中 14-3-3 蛋白检测:取脑脊液标本 20 μl,加入等量 2×SDS 上样缓冲液,煮沸后按照标准流程进行 Western blot 检测,其中一抗用 1:1000 稀释的 14-3-3 蛋白特异性多克隆抗体(Santa Cruz 公司),二抗用 1:5000 稀释的辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG(Santa Cruz 公司),具体步骤见参考文献^[5]。阳性对照采用 10%羊脑组织匀浆。② PRNP 基因的扩增和序列分析:利用 DNA 提取试剂盒(QIAGEN 公司),从外周血中提取基因组 DNA。然后用 PRNP 基因特异性引物进行 PCR 扩增、测序^[5],并与 PRNP 基因标准序列(NCBI: NM-183079.1)进行比对,检测 129 位氨基酸的多态性和 PRNP 基因是否有突变。

3. 统计学分析:所得数据采用 SPSS 15.0 软件进行分析。

结 果

1. 病例诊断分析:2008 年监测网络共上报疑似 CJD 病例 101 例。根据 WHO 对 CJD 诊断标准^[4],临床诊断 sCJD 31 例,占报告病例的 30.7%;疑似诊断 CJD 11 例,占报告病例的 10.9%;fCJD 2 例(河南和安徽省各 1 例);格-斯-斯综合征(Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome, GSS) 1 例(安徽省)。

2. 流行病学特征:2008 年度首例病例报告日期为 1 月 3 日,最后一例病例报告日期为 12 月 27 日,病例报告无季节聚集性。病例职业分布广泛,包括工人、农民、干部、教师等。临床诊断病例平均年龄 56.7 岁,男女性别比例为 8:9;疑似诊断病例平均年龄 57.4 岁,男女性别比例为 5:6。病例长久居住地分布在 28 个城市,分布散在,符合 sCJD 的特点。

3. 临床特征:病例首发症状有快速进行性痴呆、小脑症状、缓慢进行性痴呆、精神症状、皮质性失明、视觉障碍、肢体无力、言语困难等(图 1)。其中以快速进行性痴呆为最常见的首发症状,占所有病例的 33.3%。

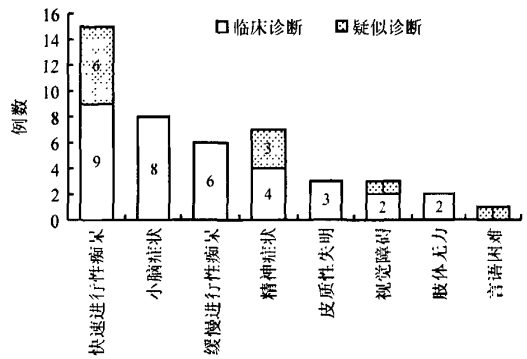


图 1 CJD 疑似和临床诊断病例的首发症状

比较 11 例疑似诊断病例和 34 例临床诊断病例(包括 GSS 和 fCJD)的临床表现,所有病例在病程的不同时期均出现进行性痴呆,而诊断标准中的其他 4 项临床表现(肌阵挛、视觉或小脑症状、锥体/锥体外系功能异常、无动性缄默)在临床诊断病例和疑似诊断病例中出现的频率有差异(表 1)。除进行性痴呆外,在临床诊断病例中有 11.8%(4/34)、疑似诊断病例中有 9.1%(1/11)同时出现 4 种临床表现;在临床诊断病例中有 41.2%(14/34)、疑似诊断病例中有 18.2%(2/11)同时出现 3 种临床表现;在临床诊断病例中有 47.0%(16/34)、疑似诊断病例中有 72.7%(8/11)同时出现 2 种临床表现。在临床诊断病例中,出现 3 种临床表现病例的比例远远高于疑似诊断病例;而在疑似诊断病例中,大部分仅有两种典型的临床表现($P < 0.01$),提示 CJD 临床诊断病例较疑似诊断病例出现更多的典型临床表现。

4. 实验室检测:脑脊液 14-3-3 蛋白阳性和脑电图出现周期性三相波特征性改变是 sCJD 临床诊断标准之一^[6]。在临床诊断病例中,只有一例 fCJD 未出现脑脊液 14-3-3 阳性和脑电图特征性改变,其余病例均有一项或两项改变。同时出现 14-3-3 阳性

和脑电图特异性改变的有7例,仅有14-3-3蛋白阳性的有17例,仅有脑电图特异性改变的有8例。同时具有14-3-3阳性和脑电图特异性改变的病例并不比仅有其中一项改变的病例具有更多典型的临床表现(表2)。

表1 CJD疑似和临床诊断病例的临床表现比较

病例	病例数	具有临床表现的病例数		
		4项	3项	2项
临床诊断病例	34	4(11.8)	14(41.2)	16(47.0)
疑似诊断病例	11	1(9.1)	2(18.2)	8(72.7)

注:括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%)

表2 CJD临床诊断病例主要临床表现

指标	病例数	进行性痴呆	肌阵挛	视觉或小脑症状	锥体/锥体外无动性异常	缄默
14-3-3(+)/EEG(-)	17	17	13(76.5)	12(70.6)	15(88.2)	7(41.2)
14-3-3(+)/EEG(+)	7	7	6(85.7)	5(71.4)	4(57.1)	3(42.9)
14-3-3(-)/EEG(+)	8	8	7(87.5)	3(37.5)	7(87.5)	3(37.5)

注:括号外数据为例数,括号内数据为阳性率(%)

讨 论

我国CJD监测系统具有良好的特异性,所有病例的送检标本均经过实验室检测,并依此做出诊断,且对结果可疑标本进行重复检测,保证诊断结果的可靠性。我国CJD监测网络2008年共报告42例sCJD疑似和临床诊断病例,1例GSS和2例fCJD。病例的流行病学分析显示出高度散在的特性,病例之间无任何关联,也无明显的职业相关性,男女比例接近1:1,符合sCJD的特点。所有sCJD病例的PRNP基因无任何突变,一例患者的129位等位基因为M/V型,其余均为M/M型,符合我国汉族人群129位等位基因分布特点^[7]。GSS病例出现P102L突变,fCJD一例为D178N突变,另一例为1个八肽重复区的插入,这两例患者129位等位基因均为M/M型。

监测病例中首发症状以快速进行性痴呆比例最多,一些病例出现缓慢进行性痴呆、小脑症状、精神症状、视力障碍和皮质性失明等,除快速进行性痴呆,另有两个最常见的首发症状分别为小脑症状和精神症状,这与2006年和2007年监测结果一致^[8]。但一些非特异性首发症状,如头疼、易疲劳、嗜睡以及沮丧等并不多见,还有待继续监测。在疾病发展中,所有患者都在病程不同时期出现明显的进行性痴呆,多数病例特别是临床诊断病例出现肌阵挛和视觉或小脑症状,而无动性缄默是出现频率最低的临床症状,这与国外报道的sCJD特点相同^[9]。

脑脊液14-3-3蛋白和脑电图改变是CJD重要的临床诊断指标,国外长期研究显示,这两种指标在CJD诊断中具有很高的特异性^[3]。以往研究发现,在CJD发病过程中这两个指标并非一直都呈现异常状态^[10,11],脑脊液中14-3-3蛋白在发病初期可能为阴性,给诊断带来很大难度。

对45例病例的分析显示,临床诊断病例比疑似诊断病例出现更多的典型临床表现。在临床诊断病例中,同时具有14-3-3蛋白阳性和脑电图特异性改变的病例并不比仅有其中一项改变的病例具有更多典型的临床表现。以前的监测数据分析提示,中枢神经系统的受损程度与脑脊液中14-3-3蛋白的出现及典型脑电图异常有一定相关性^[5],这还有待长期的监测予以明确。

世界上vCJD的发病地区越来越广泛,病例数量也在不断增长,到目前为止,我国还未发现vCJD,但不能放松警惕,仍要继续扩大监测网络,依靠高质量的监控减少其对公共卫生造成的影响。

参 考 文 献

- [1] Prusiner SB. Prions. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 13363-13383.
- [2] Du Plessis DG. Prion protein disease and neuropathology of prion disease. Neuroimaging Clin N Am, 2008, 18: 163-182.
- [3] Will G, Ironside JW, Zeidler M, et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. Lancet, 1996, 347: 921-925.
- [4] WHO. Manual for surveillance of human transmissible spongiform encephalopathies including variant Creutzfeldt-Jakob disease. World Health Organization Communicable Disease Surveillance and Response. Geneva, 2003: 71-72.
- [5] 高晨, 韩俊, 周伟, 等. 2006年1至8月份我国克雅病监测病例分析. 中华实验和临床病毒学杂志, 2007, 21: 205-207.
- [6] Zerr I, Pocchiari M, Collins S, et al. Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology, 2000, 55: 811-815.
- [7] 侯星生, 高晨, 张宝云, 等. 中国不同民族人群中PrP蛋白基因第129位氨基酸多态性分析. 中华实验和临床病毒学杂志, 2002, 16: 105-108.
- [8] Shi Q, Gao C, Zhou W, et al. Surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease in China from 2006 to 2007. BMC Public Health, 2008, 8: 360.
- [9] Brown P, Cathala F, Castaigne P, et al. Creutzfeldt-Jakob disease: clinical analysis of a consecutive series of 230 neuropathologically verified cases. Ann Neurol, 1986, 20: 597-602.
- [10] Castellani RJ, Colucci M, Xie Z, et al. Sensitivity of 14-3-3 protein test varies in subtypes of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology, 2004, 63: 436-442.
- [11] Will RG, Matthews WB. A retrospective study of Creutzfeldt-Jakob disease in England and Wales 1970-1979. I: Clinical features. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1984, 47: 134-140.

(收稿日期:2009-02-11)

(本文编辑:张林东)