

苯丙酮尿症的研究进展

王杰, 张少伟, 谢欣茹, 任钊锐, 王加政, 常嘉秀, 曹广祥, 付加芳*

山东第一医科大学(山东省医学科学院)生物医学科学学院, 山东 济南

收稿日期: 2023年5月31日; 录用日期: 2023年7月21日; 发布日期: 2023年7月31日

摘要

苯丙酮尿症(PKU)又称高苯丙氨酸血症, 是常见的单基因遗传病, 是一种由功能性苯丙氨酸羟化酶(PAH)缺乏引起的先天性代谢障碍, 导致患者血液和器官中苯丙氨酸(Phe)的积累。患者会出现严重的发育迟缓、神经功能缺陷和行为异常等特征。苯丙酮尿症早期筛查, 能够让更多的患儿得到早期诊断, 进而更早地接受治疗, 最大程度上减轻苯丙氨酸对神经系统的损害。本文综述了其遗传方式、病因机制、目前预防和治疗的措施。

关键词

苯丙酮尿症, 单基因遗传病, 遗传方式, 预防与治疗

Research Progress on Phenylketonuria

Jie Wang, Shaowei Zhang, Xinru Xie, Zaorui Ren, Jiazheng Wang, Jiaxiu Chang,
Guangxiang Cao, Jiafang Fu*

College of Biomedical Sciences, Shandong First Medical University (Shandong Academy of Medical Sciences),
Jinan Shandong

Received: May 31st, 2023; accepted: Jul. 21st, 2023; published: Jul. 31st, 2023

Abstract

Phenylketonuria (PKU), also known as hyperphenylalaninemia, is a common single-gene genetic disease. It is a congenital metabolic disorder caused by the lack of functional phenylalanine hydroxylase (PAH), leading to the accumulation of phenylalanine (Phe) in the blood and organs of patients. Patients will have severe developmental retardation, neurological deficits and behavioral abnormalities. Early screening of phenylketonuria can enable more children to receive early diagnosis and treatment earlier, and minimize the damage of phenylalanine to the nervous system. This article reviews its genetic mode, pathogenesis, current prevention and treatment measures.

*通讯作者。

文章引用: 王杰, 张少伟, 谢欣茹, 任钊锐, 王加政, 常嘉秀, 曹广祥, 付加芳. 苯丙酮尿症的研究进展[J]. 生物医学, 2023, 13(3): 326-333. DOI: 10.12677/hjbm.2023.133038

Keywords

Phenylketonuria, Single-Gene Genetic Disease, Genetic Mode, Prevention and Treatment

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

人类遗传病种类繁多，现代医学遗传病划分为 5 类，即单基因病、多基因病、染色体病、体细胞遗传病和线粒体遗传病。单基因遗传病是由一对等位基因控制而发生的疾病，按遗传方式分为 5 类，即常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 连锁显性遗传、X 连锁隐性遗传和 Y 连锁遗传病。苯丙酮尿症 (PKU) 是一种常染色体隐性遗传性代谢疾病，是常见的氨基酸代谢障碍之一，由第 12 染色体上的苯丙氨酸羟化酶 (PAH) 基因突变引起 [1]。

2. 正文

2.1. 遗传方式

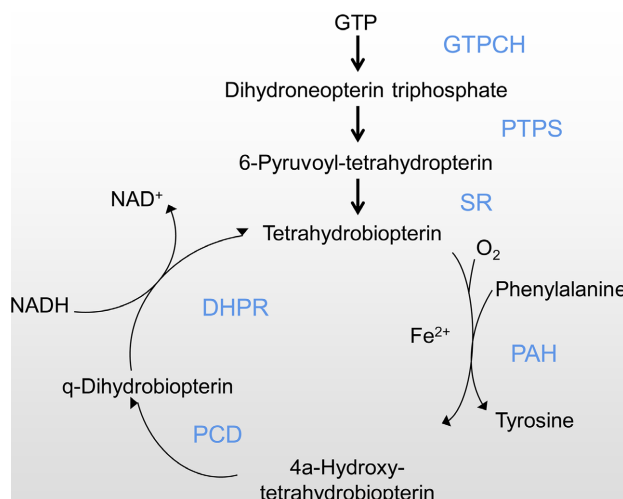


Figure 1. Phenylalanine hydroxylating system [2]. Phenylalanine hydroxylase (PAH) usually converts Phe to tyrosine (Tyr), requiring cofactors Tetrahydrobiopterin (BH₄), molecular oxygen and iron. BH₄: tetrahydrobiopterin; DHPR: dihydropteridine reductase; GTP: guanosine triphosphate; GTPCH: GTP cyclohydrolase I; Phe: Phenylalanine; PAH: phenylalanine hydroxylase; PCD: phenylalanine carbinolamine-4a-dehydratase; PTPS: 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase; SR: sepiapterin reductase

图 1. 苯丙氨酸羟化系统 [2]。苯丙氨酸羟化酶 (PAH) 通常将 Phe 转化为酪氨酸 (Tyr)，需要辅因子四氢生物蝶呤 (BH₄)、分子氧和铁。BH₄: 四氢生物蝶呤; DHPR: 二氢蝶呤还原酶; GTP: 鸟苷三磷酸; GTPCH: GTP 环水酶 I; Phe: 苯丙氨酸; PAH: 苯丙氨酸羟化酶; PCD: 苯丙氨酸 - 甲醇酰胺-4a 脱水酶; PTPS: 6-丙酮酸酰 - 四氢蝶呤合酶; SR: 海泡蛋白还原酶

苯丙酮尿症 (PKU) 是一种由苯丙氨酸羟化酶 (PAH) (图 1) 缺乏引起的常染色体隐性遗传性代谢缺陷 [3]，PAH 基因位于染色体 12q23 上，该基因的纯合或复合杂合突变引起苯丙酮尿症 [4]，苯丙氨酸羟化被该酶催化为酪氨酸，它是苯丙氨酸分解代谢 (图 2) 的起决定性作用的步骤。如果未经诊断和治疗，完全没有

苯丙氨酸会使神经系统受到损害，苯丙酮尿症可能会因高苯丙氨酸血症的神经毒性影响而导致产后认知发育受损，在某些情况下甚至会导致癫痫，可能是因树突棘的形成和有效的突触发生受损引起的。特别是在儿童晚期，由于树突修剪和突触重塑，高 Phe 水平可导致神经认知能力下降和智商变化[5]。

苯丙酮尿症是常染色体隐性遗传病，患病率不是很高，一般父母双方都为致病基因变异携带者才可能出现患病子代。近亲婚配时，父母双方均为苯丙酮尿症致病基因携带者的概率更高，可增加子女遗传上苯丙酮尿症的几率。

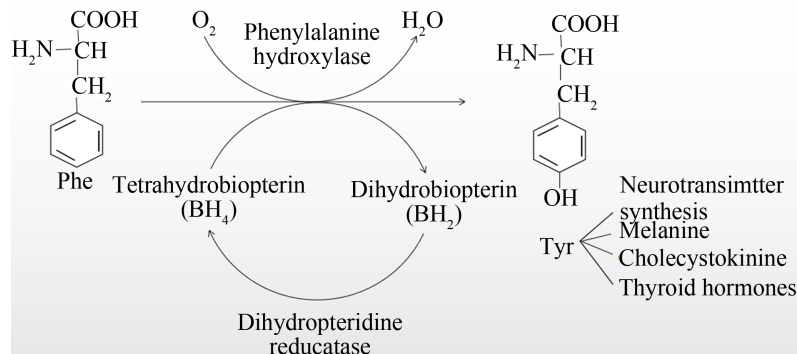


Figure 2. The metabolism of phenylalanine [6]
图 2. 苯丙氨酸代谢[6]

2.2. 病因机制

苯丙氨酸是人体必需氨基酸之一，与正常人而言，想要每天摄入约 200~500 毫克苯丙氨酸，其中三分之一用来作为合成蛋白的原料，三分之二则在肝细胞中由 PAH 转化为酪氨酸，从而合成一些激素，如黑色素、肾上腺素和甲状腺素等。

2.2.1. 经典机制

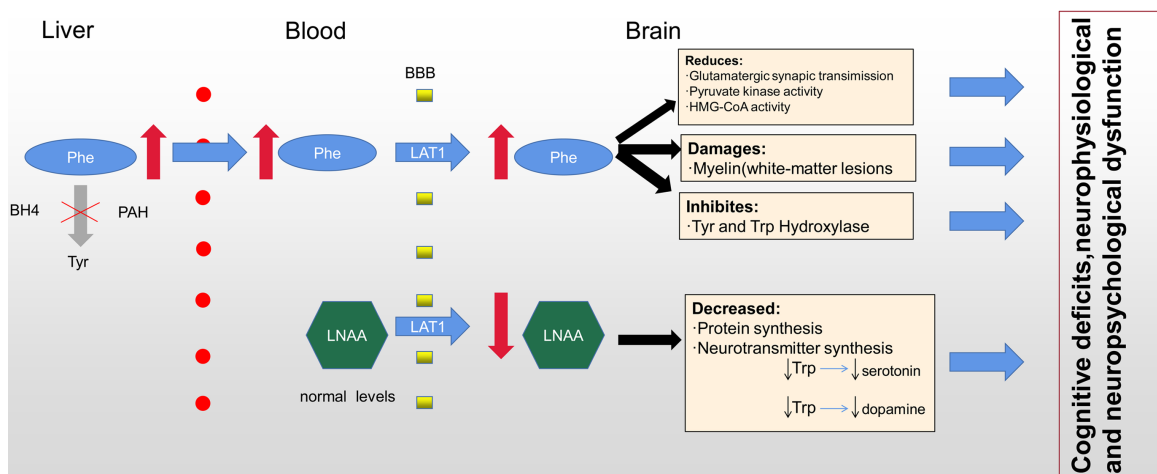


Figure 3. Pathophysiology of PKU: Summary of potential mechanisms of neurocognitive impairment by high phenylalanine concentrations [2]; Phe: phenylalanine; BBB: blood-brain barrier; LNAA: Large Neutral Amino Acids; LAT1: L-type amino acid carrier; BH4: tetrahydrobiopterin; HMG-CoA: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A; Tyr: tyrosine; Trp: tryptophan
图 3. PKU 病理生理学：高苯丙氨酸浓度引起神经认知障碍的潜在机制综述[2]；Phe：苯丙氨酸；BBB：血脑屏障；LNAA：大型中性氨基酸；LAT1：L-型氨基酸载体；BH4：四氢生物蝶呤；HMG-CoA：3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A；Tyr：酪氨酸；Trp：色氨酸

苯丙氨酸羟化酶基因发生突变降低了肝脏内酶活性降低或使其活性缺乏,使苯丙氨酸转化为酪氨酸受到阻碍,以至于开启旁路代谢,导致大量的苯丙酮酸产生,随着时间的推移,苯丙氨酸(Phe)逐渐主要积聚在中枢神经系统(CNS)的白质中,导致严重和进行性的神经损伤[7]。血浆 Phe 水平高可通过多种机制促进大脑损伤,包括抑制大的中性氨基酸载体 1-氨基酸转运蛋白 1 和神经递质合成[8]。正常人体内苯丙氨酸由 L 氨基酸转运体携带进入大脑,而过高浓度的苯丙氨酸会产生竞争抑制作用,阻碍色氨酸和酪氨酸进入大脑,大脑内部蛋白质合成十分困难,导致神经系统信号传递功能紊乱(图 3) [4] [9]。

2.2.2. 非经典机制

PAH 的辅因子(四氢生物蝶呤[BH4])和共伴侣(DNAJC12 蛋白)的缺陷,使得苯丙氨酸不能正常转化为酪氨酸,旁路代谢途径开通,大量的苯丙酮酸产生,不断在体内非正常积累,导致约 1%~2%的持续性高苯丙氨酸血症病例,由于其他芳香族氨基酸(酪氨酸和色氨酸)羟化酶受损,除了高苯丙氨酸血症外,还存在神经递质缺陷[2] [10]。

2.3. 临床表现

2.3.1. 生长发育改变

患儿除躯体生长发育迟缓外,主要表现在智力发育迟缓[11],语言发育障碍尤为明显。新生儿时期的患儿没有明显不正常的表现,在 6 个月后一些症状相继出现,并越来越严重。如果不及时治疗控制,就会严重损害患儿中枢神经系统,且不可逆转,甚至出现重度或者中度智力异常[5]现象。

2.3.2. 皮肤毛发异常

毛发呈棕色,颜色很淡,皮肤比较干燥、白皙,同时出现皮肤划痕症和湿疹。

2.3.3. 有异味

患儿排除的汗液和尿中有鼠尿臭味,可能由与另一通路中苯丙氨酸产生较多的苯乳酸和苯乙酸。

2.3.4. 神经系统表现

苯丙酮尿症最主要的损害,以智能发育落后为主,神经行为异常[12]不正常,例如发作癫痫或者肌痉挛,精神不振、嗜睡或者有多动症、较兴奋而又不安心。一小部分患者腱反射比较亢进、肌张力较增,五分之四患者脑电图异常。BH 缺乏型苯丙酮尿症会出现更严重的神经系统症状且时间比较早,经常会惊厥、嗜睡、降低肌张力,未及时治疗,幼儿期就会死亡。

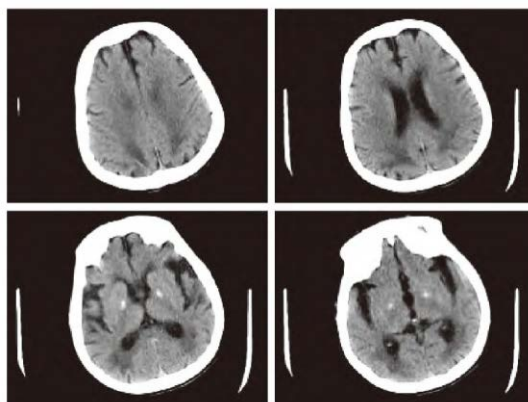


Figure 4. Head CT manifestations of PKU patients [13]
图 4. PKU 患者头部 CT 表现[13]

2.3.5. 其他症状

肌张力增高,姿势怪异,反复发作抽搐,手部细微震颤,也可抑郁、兴奋不安、多动、孤独症倾向,若不及时进行合理治疗,最终将造成重度至极重度的智力低下。

2.3.6. 并发症

苯丙酮尿症患者通常伴随并发症,如智力低下[9];脑萎缩而导致小脑畸形(图 4);年龄越大抽搐症状会减轻,反射较亢进,肌张力有所增高,出现不安、多动、兴奋和异常行为。癫痫:部分患儿合并癫痫发作,其中部分婴儿表现为痉挛症,多在生后 18 个月以前出现。

2.4. 预防与治疗

2.4.1. 预防措施

苯丙酮尿症是常染色体隐性遗传病的一种,目前还没有特异而有效的预防方法。但建立良好的生活习惯对预防疾病发生或避免疾病进一步加重有益处,应以早诊断、个体化治疗为原则,密切观察病情。普及医学遗传知识,避免近亲结婚;做好产前咨询,产前诊断,早发现早治疗;即将妊娠的成人 PKU 患者及携带者做好遗传咨询,降低风险,优生优育[14]。

2.4.2. 早期筛查

开展新生儿筛查[15],新生儿筛查的方法,是对具有至少一项危险因素的高危人群应进一步进行 DNA 分析、孕妇的血浆苯丙氨酸浓度等检查明确诊断。随着时代发展,科学技术日新月异,出现多种筛查苯丙酮尿症的方法,例如荧光法,高效液相色谱法(HPLC),串联质谱法比色法,高效毛细管电泳法和改良的细菌抑制法等。

2.4.3. 饮食疗法

低苯丙氨酸饮食治疗是一种治疗苯丙酮尿症较为有效的方法,PAH 缺乏症患者主要用这种方法治疗[10],给予低苯丙氨酸饮食,防止损害脑使智力低下。饮食疗法可以在很大程度上甚至完全预防母体 PKU 造成的胎儿损伤。根据年龄定期检查血中苯丙氨酸浓度,同时注意生长发育情况。

饮食疗法可以在很大程度上甚至完全预防母体 PKU 造成的胎儿损伤,但为了获得正常婴儿的最佳机会,治疗必须在受孕前开始[16]。Drogari 等人[17]提出的证据表明,只有在怀孕前开始限制苯丙氨酸摄入的饮食才可能防止胎儿损伤。

2.4.4. 药物治疗

目前市面上存有两种治疗苯丙酮尿症的药物,须在医生指导下用药。

一种是沙丙蝶呤(Sapropterin):人工合成的四氢生物蝶呤(BH4) [18] [19] [20],恢复苯丙氨酸羟化酶(PAH)活性,使血液中苯丙氨酸浓度降低,仅适用于 1 个月以上 BH4 反应性 PKU 患者,该药物治疗的不良反应是头痛和流涕[10],另一种是聚乙二醇化的苯丙氨酸裂合酶(PAL)制剂(Pegvaliase),需要每天皮下注射,该酶疗法有潜在的严重过敏反应,主要用于治疗遗传性 PKU,治疗过程中 PKU 患者血液苯丙氨酸含量仍然偏高(>600 $\mu\text{mol/L}$) [10] [21]。聚乙二醇化酶是一种聚乙二醇化重组可变鱼腥藻衍生的 Phe 氨裂解酶,能够通过取代 Phe 羟化酶并将 Phe 转化为氨和反式肉桂酸来降低血液 Phe 浓度[14]。使用聚乙二醇蛋白酶,批准用于 16 岁和 Phe 水平的患者>600 $\mu\text{mol/L}$,患者可以遵循蛋白质摄入量满足一般人群推荐膳食摄入量的饮食,甚至可以放开饮食[22] [23]。

2.4.5. 糖聚肽疗法

糖聚肽疗法是一种特殊的蛋白质,含有较低的苯丙氨酸和较多的其他必需氨基酸。糖肽是从乳清中

提取的蛋白质, 富含特定的必需氨基酸, 但不含酪氨酸、色氨酸或苯丙氨酸。和传统的低苯丙氨酸的食物相比, 该方法用于苯丙酮尿症的治疗口感更好[24] [25], 促进体内利用蛋白质, 降低肾脏的负荷和骨骼的脆性, 提高患者特殊饮食的依从性[26]的。

2.4.6. 苯丙氨酸解氨酶(PAL)处理

PAL 是一种不需要辅因子的强大酶, 可将苯丙氨酸转化为反式肉桂酸, 这是一种无害的代谢产物。植物酶苯丙氨酸解氨酶(PAL; EC 4.3.1.5)将在肠道中存活足够长的时间, 以耗尽源自食物蛋白的苯丙氨酸, 从而减少蛋白餐后血液中苯丙氨酸的升高。

2.4.7. 基因治疗

目前, 基因疗法是通过携带 PAH 基因的腺病毒载体感染小鼠, 从而恢复小鼠肝脏 PAH 活性, 但存在缺陷[27]。一种用于治疗 PKU 的大肠杆菌工程益生菌(*Escherichia coli* Nissle 1917)于 2018 年被 FDA 批准进入临床实验, 目前已经完成一期临床实验[28]。该大肠杆菌工程益生菌将苯丙氨酸裂合酶 PAL (该酶将苯丙氨酸转化为反式肉桂酸并被菌体释放到胞外, 被生物体肠道吸收, 在肝脏中转化为马尿酸后随尿液排出体外)编码基因和苯丙氨酸转运泵(向菌体内运输苯丙氨酸)编码基因整合到大肠杆菌基因组上, 制成菌剂经口服进入患者肠道发挥降解苯丙氨酸的功效, 减少患者苯丙氨酸摄入量[29] [30]。但是大肠杆菌主要定植于大肠, 而大肠是消化道末端, 影响大肠杆菌工程菌控制病人摄取苯丙氨酸量的效果。

2.4.8. 新治疗方法

目前正在研究一些新的方法来更好地造福社会, 主要是开发针对 PKU 的新疗法。苯丙氨酸氨基裂解酶的注射可以有效地降低患者血液内的苯丙氨酸浓度, 使聚乙二醇与之结合, 其免疫原性大大降低, 其半衰期延长, 药效时间增长。

3. 展望

对新生儿进行 PKU 筛查, 患者可以在成长初期接受治疗, 从而避免严重的神经功能缺陷。然而, 在儿童早期接受治疗的患者中, 有一定比例的患者在成年后仍表现出轻微的认知缺陷和心理社会改变[22]。如果 PKU 被早期发现, 并用补充酪氨酸(Tyr)的 Phe 限制饮食治疗, 结果会大大改善。

饮食疗法是目前临床上最常用的治疗苯丙酮尿症的方法, 其他研究方法已经开发, 尚处于研究试验阶段, 需要有临床试验和相关的研究数据, 才能应用于临床。随着基因转移技术的高速发展, 基因治疗领域不断扩大, 基因治疗将成为根治遗传病、改善人类遗传素质的重要手段, 将为人们展示出它在疾病治疗及预防领域中的辉煌应用前景。

致 谢

感谢付加芳、曹广祥两位老师的指导与帮助, 团队成员共同拼搏努力, 庆幸有机会参加山东省高等学校省级大学生创新创业训练计划项目并省级立项。

基金项目

山东省高等学校省级大学生创新创业训练计划项目(S202210439023)。

参考文献

- [1] Yan, Y., Zhang, C., Jin, X., *et al.* (2019) Mutation Spectrum of PAH Gene in Phenylketonuria Patients in Northwest China: Identification of Twenty Novel Variants. *Metabolic Brain Disease*, **34**, 733-745. <https://doi.org/10.1007/s11011-019-0387-7>

- [2] van Wegberg, A., MacDonald, A., Ahring, K., *et al.* (2017) The Complete European Guidelines on Phenylketonuria: Diagnosis and Treatment. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **12**, Article No. 162. <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0685-2>
- [3] Elhawary, N.A., AlJahdali, I.A., Abumansour, I.S., *et al.* (2022) Genetic Etiology and Clinical Challenges of Phenylketonuria. *Human Genomics*, **16**, Article No. 22. <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00398-9>
- [4] Blau, N., Shen, N. and Carducci, C. (2014) Molecular Genetics and Diagnosis of Phenylketonuria: State of the Art. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **14**, 655-671. <https://doi.org/10.1586/14737159.2014.923760>
- [5] Rovelli, V. and Longo, N. (2023) Phenylketonuria and the Brain. *Molecular Genetics and Metabolism*, **139**, Article ID: 107583. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2023.107583>
- [6] Hoeks, M.P., den Heijer, M. and Janssen, M.C. (2009) Adult Issues in Phenylketonuria. *The Netherlands Journal of Medicine*, **67**, 2-7.
- [7] Feldmann, R., Osterloh, J., Onon, S., *et al.* (2019) Neurocognitive Functioning in Adults with Phenylketonuria: Report of a 10-Year Follow-Up. *Molecular Genetics and Metabolism*, **126**, 246-249. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.12.011>
- [8] Dijkstra, A.M., van Vliet, N., van Vliet, D., *et al.* (2021) Correlations of Blood and Brain Biochemistry in Phenylketonuria: Results from the Pah-enu2 PKU Mouse. *Molecular Genetics and Metabolism*, **134**, 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.09.004>
- [9] Blau, N. (2016) Genetics of Phenylketonuria: Then and Now. *Human Mutation*, **37**, 508-515. <https://doi.org/10.1002/humu.22980>
- [10] van Spronsen, F.J., Huijbregts, S.C., Bosch, A.M., *et al.* (2011) Cognitive, Neurophysiological, Neurological and Psychosocial Outcomes in Early-Treated PKU-Patients: A Start toward Standardized Outcome Measurement across Development. *Molecular Genetics and Metabolism*, **104**, S45-S51. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.09.036>
- [11] Azevedo, S.C., Ferreira, A.M., Soares, G., *et al.* (2023) Predicting Factors of Neurodevelopmental Performance in Children with Phenylketonuria. *American Journal of Medical Genetics Part A*, **191**, 1525-1529. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63174>
- [12] Grant, M.L., Jurecki, E.R., McCandless, S.E., *et al.* (2023) Neuropsychiatric Function Improvement in Pediatric Patients with Phenylketonuria. *The Journal of Pediatrics*, **260**, Article ID: 113526. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2023.113526>
- [13] 任丹, 于蕾, 李航, 等. 成人苯丙酮尿症 1 例家系分析并文献复习[J]. 卒中与神经疾病, 2023, 30(2): 204-205.
- [14] Grohmann-Held, K., Burgard, P., Baerwald, C., *et al.* (2022) Impact of Pregnancy Planning and Preconceptional Dietary Training on Metabolic Control and Offspring's Outcome in Phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, **45**, 1070-1081. <https://doi.org/10.1002/jimd.12544>
- [15] De Giorgi, A., Nardecchia, F., Manti, F., *et al.* (2023) Neuroimaging in Early-Treated Phenylketonuria Patients and Clinical Outcome: A Systematic Review. *Molecular Genetics and Metabolism*, **139**, Article ID: 107588. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2023.107588>
- [16] Rohr, F.J., Doherty, L.B., Waisbren, S.E., *et al.* (1987) New England Maternal PKU Project: Prospective Study of Untreated and Treated Pregnancies and Their Outcomes. *The Journal of Pediatrics*, **110**, 391-398. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(87\)80500-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(87)80500-0)
- [17] Drogari, E., Smith, I., Beasley, M., *et al.* (1987) Timing of Strict Diet in Relation to Fetal Damage in Maternal Phenylketonuria. An International Collaborative Study by the MRC/DHSS Phenylketonuria Register. *The Lancet*, **2**, 927-930. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)91418-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)91418-8)
- [18] Jervis, G.A. (1953) Phenylpyruvic Oligophrenia Deficiency of Phenylalanine-Oxidizing System. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **82**, 514-515.
- [19] van Spronsen, F.J., Blau, N., Harding, C., *et al.* (2021) Phenylketonuria. *Nature Reviews Disease Primers*, **7**, Article No. 36. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00267-0>
- [20] (2021) Phenylketonuria. *Nature Reviews Disease Primers*, **7**, Article No. 35. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00274-1>
- [21] Lichter-Konecki, U. and Vockley, J. (2019) Phenylketonuria: Current Treatments and Future Developments. *Drugs*, **79**, 495-500. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01079-z>
- [22] Manti, F., Caviglia, S., Cazzorla, C., *et al.* (2022) Expert Opinion of an Italian Working Group on the Assessment of Cognitive, Psychological, and Neurological Outcomes in Pediatric, Adolescent, and Adult Patients with Phenylketonuria. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **17**, Article No. 443. <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02488-2>
- [23] Zori, R., Ahring, K., Burton, B., *et al.* (2019) Long-Term Comparative Effectiveness of Pegvaliase versus Standard of Care Comparators in Adults with Phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism*, **128**, 92-101.

-
- <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.07.018>
- [24] Hanley, W.B. (2004) Adult Phenylketonuria. *The American Journal of Medicine*, **117**, 590-595. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2004.03.042>
- [25] Walter, J.H. and White, F.J. (2004) Blood Phenylalanine Control in Adolescents with Phenylketonuria. *International Journal of Adolescent Medicine and Health*, **16**, 41-45. <https://doi.org/10.1515/IJAMH.2004.16.1.41>
- [26] Evers, R., van Wegberg, A., MacDonald, A., *et al.* (2022) Dietary Liberalization in Tetrahydrobiopterin-Treated PKU Patients: Does It Improve Outcomes? *Nutrients*, **14**, Article No. 3874. <https://doi.org/10.3390/nu14183874>
- [27] Grisch-Chan, H.M., Schwank, G., Harding, C.O., *et al.* (2019) State-of-the-Art 2019 on Gene Therapy for Phenylketonuria. *Human Gene Therapy*, **30**, 1274-1283. <https://doi.org/10.1089/hum.2019.111>
- [28] Puurunen, M.K., Vockley, J., Searle, S.L., *et al.* (2021) Safety and Pharmacodynamics of an Engineered *E. coli* Nissle for the Treatment of Phenylketonuria: A First-in-Human Phase 1/2a Study. *Nature Metabolism*, **3**, 1125-1132. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00430-7>
- [29] Charbonneau, M.R., Denney, W.S., Horvath, N.G., *et al.* (2021) Development of a Mechanistic Model to Predict Synthetic Biotic Activity in Healthy Volunteers and Patients with Phenylketonuria. *Communications Biology*, **4**, Article No. 898. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02183-1>
- [30] Isabella, V.M., Ha, B.N., Castillo, M.J., *et al.* (2018) Development of a Synthetic Live Bacterial Therapeutic for the Human Metabolic Disease Phenylketonuria. *Nature Biotechnology*, **36**, 857-864. <https://doi.org/10.1038/nbt.4222>