

杜氏肌营养不良症的治疗研究进展

赵惠文¹, 邵立健², 匡渤海^{3*}

¹湖南环境生物职业技术学院医药技术学院, 湖南 衡阳

²南昌大学公共卫生学院, 江西 南昌

³南昌大学基础医学院, 江西 南昌

收稿日期: 2024年3月27日; 录用日期: 2024年4月21日; 发布日期: 2024年4月28日

摘要

杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)是一种x连锁的进行性致死性神经肌肉疾病, 这种疾病无法治愈, 预期寿命在30岁至50岁之间, 死亡与心脏或呼吸并发症有关。近年来, DMD的治疗也取得了一些重要进展, 极具前景的CRISPR/cas9介导的基因组编辑有望从基因水平彻底治愈DMD, 本文将对DMD治疗的研究现状进行综述, 并分析不同治疗策略在其治疗中的研究进展和潜力。

关键词

杜氏肌营养不良, 抗肌营养不良蛋白, 治疗, 研究

Progress in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy

Huiwen Zhao¹, Lijian Shao², Bohai Kuang^{3*}

¹College of Medicine and Technology, Hunan Vocational College of Environmental Biology, Hengyang Hunan

²School of Public Health, Nanchang University, Nanchang Jiangxi

³School of Basic Medicine, Nanchang University, Nanchang Jiangxi

Received: Mar. 27th, 2024; accepted: Apr. 21st, 2024; published: Apr. 28th, 2024

Abstract

Duchenne muscular dystrophy (Duchenne muscular dystrophy, DMD) is a kind of x-linked progressive fatal neuromuscular disease, the disease cannot be cured, life expectancy is between the ages of 30 to 50, and death is associated with heart or respiratory complications. In recent years, the

*通讯作者。

treatment of DMD has also made some important progress. The promising CRISPR/Cas9-mediated genome editing is expected to completely cure DMD from the gene level. This paper will review the current research status of DMD treatment and analyze the research progress and potential of different treatment strategies in its treatment.

Keywords

Duchenne Muscular Dystrophy, Antimuscular Dystrophin, Treatment, Research

Copyright © 2024 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

杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)是一种 X 连锁隐性疾病, 由 DMD 基因突变引起[1], 其特点是由于编码该蛋白引起的肌萎缩蛋白缺乏[2], 抗肌营养不良蛋白基因包含 79 个外显子[3], 该基因是已知最大的人类基因[4], 编码 427 kDa 蛋白质[5]。杜氏肌营养不良症患儿在出生时或婴儿期运动功能发育基本正常, 儿童期出现进行性肌肉萎缩。大多数儿童在 10 岁之后失去行走能力, 随着病情逐渐恶化, 30 岁左右死于心衰或呼吸衰竭[6] [7]。DMD 基因突变的影响主要取决于这些突变是否干扰这些突变的下游阅读框架, 在框架外突变的情况下, DMD 基因开放阅读框架遭破坏, 造成营养不良蛋白缺乏, DMD 表型严重。同时, 框架内突变使阅读框架得以保留, 生成部分功能肌营养不良蛋白, 导致不太严重的 Becker 肌营养不良(Becker muscular dystrophy, BMD)疾病[8]。贝克尔肌营养不良症(BMD)是一种相对温和的由肌营养不良蛋白基因缺失引起的疾病, BMD 患者表现出一系列表型, 从相对轻微的肌肉无力和终生行走, 到类似 DMD 的严重肌肉功能障碍, 临床的主要目标是通过基因替换或基因编辑将 DMD 转化为 BMD [3]。杜氏肌营养不良症定位于染色体 Xp21 上, 是由 DMD 基因突变引起的, 编码的肌萎缩蛋白包含四个功能域: 位于 N 端肌动蛋白结合域, 将蛋白质固定在细胞骨架上; 一个包含 24 个类光谱重复序列的中心区域, 形成杆结构域, 由四个铰链结构域中断; 富含半胱氨酸的结构域, 结合 β -dysstroglycan; 还有一个 c 端结构域, 结合肌球蛋白和促营养因子, 调节肌膜定位, DGC 将细胞骨架固定在细胞外基质上, 并在收缩时稳定肌膜。目前, DMD 仍然是一种无法治愈的疾病[2] [9] [10], 随着人们对 DMD 发病机制的深入研究, 出现了层出不穷的治疗方法, 如糖皮质激素、外显子跳跃、无义突变治疗阅读、肌肉生长抑制素抑制剂、CRISPR/Cas9 基因编辑等[11] [12], 本文就糖皮质激素治疗、细胞治疗和基因治疗等方面进行综述[13]。

2. 糖皮质激素治疗

目前, 治疗 DMD 最有效的方法是糖皮质激素[7], 其目的是通过减少炎症对肌肉的损伤来延缓病程, 从而减少肌肉力量的损失和疾病进展[14]。它可以刺激成肌细胞的增殖, 抑制肌肉蛋白质的分解, 从而提高肌肉功能和力量。长期使用糖皮质激素是标准的治疗方法, 可以延缓行走障碍, 减缓上肢和呼吸功能下降的速度[15], 一项研究证实, 在 DMD 患者中, 糖皮质激素治疗可降低在整个生命周期中失去临床意义的活动能力和上肢疾病进展里程碑的风险以及死亡风险[7]。然而, 激素的各种负面影响, 如体重增加[16]、骨质疏松[17]、肥胖、多毛症、肾上腺功能不全[18]、白内障[19]、库欣样特征和青春期延迟[20], 限制了它们的长期使用[12]。糖皮质激素是临床上治疗 DMD 最常用的药物, 但这些药物只能暂时延长患

者的寿命,不能恢复肌营养不良蛋白在肌肉中的表达,不能从根本致病原因阻碍 DMD 的发生和发展,因此治疗效果非常有限。近年来,随着科学技术的发展,人们开始研究细胞疗法和基因疗法对 DMD 的治疗效果。其中,细胞疗法(如干细胞移植)处于相对早期的研究阶段,而基因疗法(如外显子跳跃疗法)的研究取得了重大进展[13]。

3. 细胞治疗

基于细胞的治疗是基于从未受影响的供体(同种异体移植)或体外转基因患者移植表达功能性营养不良蛋白的细胞,理想情况下,不仅影响四肢肌肉,还影响心脏和横膈膜的细胞应该被系统地运输。它们应该穿过血管壁,很容易从血液中到达肌肉。它们应该整合到固有的肌肉细胞中并自我更新,以在不引起免疫反应的情况下实现长期效果。到目前为止,已经研究了不同的细胞群体,但一些细胞的使用,包括骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)和 CD133+祖细胞,是值得怀疑的。尽管研究人员描述了它们分化为肌肉细胞的能力有限,但随后的实验表明,只有少量 BM-MSC 可以促进肌肉纤维的形成(与植入肌肉衍生肌细胞的对照组相比)。

这一观察结果表明,卫星细胞(Satellite cell, SC)和其他肌肉干细胞(Muscle stem cells, MuSCs)的治疗效果更好,因为这些细胞更适合参与新纤维的形成。此外,还研究了不同于胚胎干细胞(Embryonic stem cell, ESC)和诱导多能干细胞(Induced pluripotent stem cells, iPSC)的中血管母细胞、基于周细胞的细胞和肌肉祖细胞。不幸的是,对其中一些细胞的体内研究结果尚未在人体研究中重现,而其他基于多能干细胞的研究仍在等待临床试验的测试[21]。

4. 基因治疗

DMD 的基因治疗旨在通过提供 DMD 的功能副本或修复 DMD 来恢复缺失的抗肌萎缩蛋白[22],随着人们对 DMD 致病分子致病机理的认识不断深入[23],近年来提出了几种基于突变类型恢复肌营养不良蛋白的策略,目前正在研究中,停止密码子阅读会导致使用某些药物或化学物质过早终止核糖体密码子阅读。理论上,它适用于所有无意义的突变,占有 DMD 病例的 10%。外显子跳跃是一种用预制反义寡核苷酸(Antisense oligonucleotide, AON)攻击受影响外显子的方法,它可以产生更短但有效的肌营养不良蛋白,并治疗 55%的 DMD 患者。另一种新的策略是 CRISPR/cas9 介导的基因处理,一些研究结合了 CRISPR/Cas9 基因编辑和细胞治疗,以获得更显著和持久的治疗效果。此外,还研究了可以产生功能性肌营养不良蛋白的肌源性细胞移植[24]。最近,基因编辑已被探索作为永久消除导致 DMD 的基因突变的可能手段,缺失的肌萎缩蛋白从而恢复生产。目前还没有通过基因编辑来纠正 DMD 的临床试验,但该领域正在迅速发展,并代表了一种不同于其他任何一种潜在的变革性治疗方法[3] [25]。

4.1. 基因替代疗法

在基因替代疗法中,外源性功能性 DMD 基因被插入 DMD 患者的基因组中,从而恢复 DMD 患者骨骼肌和心肌细胞中功能性肌营养不良蛋白的表达。腺相关病毒(Adeno-associated virus, AAV)是基因替代治疗最常用的载体,具有有效转染心肌和骨骼肌细胞的能力[12]。转基因表达的使用寿命是有限的,AAV 是一种自由体病毒。随着时间的推移,肌肉更新导致转基因基因的逐渐丧失,导致微缺失的表达减少;然而,目前尚不清楚基因导入后微型抗肌萎缩蛋白(dystrophin, Dys)的缺失会发生多久。一项研究表明,45%的肌肉纤维在治疗三个月后出现微缺失,而只有 5%的肌肉纤维是在治疗 56 个月后才出现微缺失的。转基因基因能在体内表达多长时间仍然未知,通用替代疗法不适合体内有抗 AAV 抗体的患者,这些抗体约占所有 DMD 的 50%。由于他们对病毒包膜的免疫反应,他们可以对微型 Dys 本身产生体液或细胞免疫反应,因此这些患者被禁止接受 AAV 基因治疗。根据治疗 DMD 所需的病毒载量,AAV 的生产既耗时又

昂贵[17]。

4.2. 外显子跳跃疗法

外显子跳过疗法是杜氏肌营养不良症(DMD)的一种很有前途的治疗策略,旨在通过跳过突变外显子或周围外显子来恢复肌营养不良蛋白转录障碍的开放阅读框架[18]。外显子跳过方法是基于帧外突变导致严重 DMD,而帧内突变导致轻度 BMD 的发现。这种方法的目的是恢复读取帧这样就可以产生部分功能的 BMD 样的抗肌萎缩蛋白,阅读框恢复是通过反义寡核苷酸(Antisense oligonucleotides, ASOs)实现的,ASOs 是在 pre-mRNA 剪接过程中特异性结合到目标外显子的小片段修饰 RNA,这种结合阻止了外显子进入 mRNA [26]。跳过突变外显子导致缩短但半功能的营养不良蛋白,从而将严重的 DMD 表型转化为较轻的 BMD 症状。在 83%的 DMD 患者中,可以通过外显子跳过策略靶向肌萎缩蛋白基因的缺失,允许排除一个或多个外显子来恢复肌萎缩蛋白 ORF [3] [12]。然而,基于反义寡核苷酸(AON)的外显子跳过只修改了营养不良蛋白 mRNA,使潜在的突变仍然存在于营养不良蛋白基因中[3]。

依普利森是一种专门针对外显子 51 开发的反义寡核苷酸,依普利森是一种吗啉低聚物,设计用于跳过肌营养不良蛋白基因的外显子 51。防止短营养不良蛋白的转录和产生过早终止,相反,它产生了一种更长的功能性营养不良蛋白[27],该蛋白于 2016 年 9 月被美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA) [28]批准用于 DMD 治疗,这是第一种 FDA 批准的 DMD 基因治疗药物[17]。该产物的剪接过程靶向肌营养不良蛋白 mRNA 的前体,以触发外显子 51 的跳跃,从而产生一种截断但仍具有部分功能的肌营养不良素[29]。Drisapersen 也是反义寡核苷酸的一种,可以跳过第 51 外显子。此外,drisapersen 治疗可能会产生副作用,如注射部位的局部反应、短暂性蛋白尿和发烧,最终的 drisapersen 尚未获得美国食品药品监督管理局和欧洲药品管理局的批准[17]。外显子跳跃疗法的局限性之一是,肌营养不良蛋白基因的突变可能发生在不同的位置,而不是外显子 45~55 之间发生突变的热点区域。目前,外显子跳跃方法旨在规避该区域的突变。据估计,40%的 DMD 患者在这些外显子之间没有突变,也不会直接从这种治疗中受益[30]。

4.3. 基因组编辑疗法

CRISPR/cas9 介导的基因组编辑已被证明可以永久纠正 DMD 突变并恢复小鼠模型中的肌萎缩蛋白功能,通过将 CRISPR/Cas9 编辑组件注入受精卵,通过使用 HDR 或 NHEJ 纠正突变的外显子 23,首次在 mdx 小鼠中完成了生殖系编辑。然后使用重组腺相关病毒对 mdx 小鼠进行出生后编辑,传递 CRISPR/Cas9 基因组编辑组件,并通过跳过或删除体内突变的外显子 23 来纠正肌营养不良基因[3]。CRISPR/CAS 系统是基因编辑的一种高效工具,因为它检测外源 DNA,并旨在诱导双链 DNA 断裂以沉默外源基因的表达。未来,有必要探索和发现更特异、更高效的内核工具,提高基因编辑的安全性和有效性,加快 DMD 患者的最终治疗过程[17]。尽管有这些有希望的临床前发现,但一些挑战可能会阻止 CRISPR-Cas9 成为一种成功的治疗方法。即使 Cas9 被 gRNA 控制以特异性诱导 dsb,靶向 DNA 切割仍然是一个问题。这可能导致营养不良基因中其他基因或其他外显子发生不必要的额外突变,令人鼓舞的是,当将核定位信号添加到 Cas9 核酸酶结构中时,最近实现了基因编辑效率的提高。此外,通过优化 gRNA 设计或使用高保真 Cas9,可以使 Crispr 处理更加可靠。此外,对 gRNA 的体液免疫反应和对 Cas9 同源物的现有适应性免疫的鉴定意味着基因编辑现在也暴露于免疫屏障。最后,有效的 CRISPR 治疗的挑战之一是功能的长期恢复。尽管存在这些局限性,crispr-cas9 在有效和安全的体细胞基因治疗方面取得了重大进展,例如最近在使用 crispr-cas9 处理的 T 细胞进行癌症免疫治疗方面取得的进展。CRISPR-Cas9 在治疗 DMD 方面具有巨大潜力,具有“一次性”优势,即卫星细胞(肌肉干细胞)潜在基因组的永久性变

化消除了重复治疗的需要[23]。

4.4. 终止密码子阅读疗法

不敏感的突变可以导致信使核糖核酸密码子的提前终止，从而终止翻译。通过治疗读取的无意义突变使用小分子与核糖体结合，绕过过早终止密码子，并可以继续产生功能性肌营养不良蛋白[12]。有些化合物通过与核糖体结合的方式阻断终止密码子的信号识别，从而跳过这个错误的终止密码子，从而读出早期出现的终止密码，从而继续翻译 DYS。该方法适用于所有无意义突变 DMD 患者，DMD 占整个患者群体的 10%至 15% [17]。研究发现，庆大霉素具有终止密码子读取能力，可以在 MDX 小鼠中诱导 dys 的高表达，从而增加肌肉收缩力；然而，由于其安全性，长期治疗不是一种选择。已经筛选了其他各种化合物，以确定一种具有更好安全性的通读药物[17] [22]。高通量筛选已经确定 ataluren (PTC124, 商品名 Tralsarna)是一种蛋白质修复药物，可以降低核糖体对过早终止密码子的敏感性，具有潜在的终止密码子读取能力，导致所谓的“终止密码子阅读”，并且比庆大霉素具有更好的安全性。ataluren 的主要缺点是，它只适用于有无意义突变的人(约占 DMD 患者的 13%)，而且与其他用于治疗罕见病的药物一样，价格昂贵[17]。

5. 展望

DMD [31]是一种快速发展且具有毁灭性的遗传疾病[32]，表现在男孩生命的最初几十年。尽管有重大的科学和临床努力引入新的 DMD 疗法，目前尚无根治 DMD 的方法[33]。目前，仍未找到有效的治疗方法，其中还包括 CRISPR/Cas9 基因组编辑和基于干细胞的治疗等创新策略，不幸的是，这种治疗方法靶向骨骼肌的效率低，稳定性低，宿主免疫反应低，阻碍了其成功[34]。最近，人们发现了一些新的参与者和额外的机制来促进 DMD 的发生和发展。据报道，动物模型和 DMD 患者的血管生成发生了变化，因此血管靶向治疗被认为是 DMD 的一种治疗选择，以减少缺血并改善内源性修复过程。然而，还需要更多的研究来充分了解血管生成介质和受损血管在 DMD 病理中的作用[35]。许多治疗 DMD 的方法正在开发中，可以分为旨在恢复肌萎缩蛋白的方法和针对肌萎缩蛋白损失的下游影响的方法，以尽可能长时间地保存肌肉组织。此外，抗肌萎缩蛋白恢复疗法的疗效将依赖于肌肉的质量，因为只有肌肉才会表达抗肌萎缩蛋白(转录靶向)或受益于抗肌萎缩蛋白表达(基因组编辑和基因传递)。未来很可能会使用多种方法的组合来恢复肌营养不良蛋白和维持肌肉质量，并尽可能地减缓疾病进展[26]。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(项目编号: 81760328)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81760328)]。

参考文献

- [1] Barraza-Flores, P., Fontelonga, T.M., Wuebbles, R.D., Hermann, H.J., Nunes, A.M., Kornegay, J.N. and Burkin, D.J. (2019) Laminin-111 Protein Therapy Enhances Muscle Regeneration and Repair in the GRMD Dog Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *Human Molecular Genetics*, **28**, 2686-2695. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz086>
- [2] Choi, E. and Koo, T. (2021) CRISPR Technologies for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *Molecular Therapy*, **29**, 3179-3191. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.04.002>
- [3] Domi, E., Hoxha, M., Prendi, E. and Zappacosta, B. (2021) A Systematic Review on the Role of SIRT1 in Duchenne Muscular Dystrophy. *Cells*, **10**, Article 1380. <https://doi.org/10.3390/cells10061380>
- [4] Duan, D., Goemans, N., Takeda, S., Mercuri, E. and Aartsma-Rus, A. (2021) Duchenne Muscular Dystrophy. *Nature Reviews Disease Primers*, **7**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00248-3>
- [5] Ebrahimi, M., Lad, H., Fusto, A., Tiper, Y., Datye, A., Nguyen, C.T., Jacques, E., Moyle, L.A., Nguyen, T., Musgrave,

- B., Chavez-Madero, C., Bigot, A., Chen, C., Turner, S., Stewart, B.A., Pegoraro, E., Vitiello, L. and Gilbert, P.M. (2021) De Novo Revertant Fiber Formation and Therapy Testing in a 3D Culture Model of Duchenne Muscular Dystrophy Skeletal Muscle. *Acta Biomaterialia*, **132**, 227-244. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.05.020>
- [6] Fontelonga, T.M., Jordan, B., Nunes, A.M., Barraza-Flores, P., Bolden, N., Wuebbles, R.D., Griner, L.M., Hu, X., Ferrer, M., Marugan, J., Southall, N. and Burkin, D.J. (2019) Sunitinib Promotes Myogenic Regeneration and Mitigates Disease Progression in the *mdx* Mouse Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *Human Molecular Genetics*, **28**, 2120-2132. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz044>
- [7] Himic, V. and Davies, K.E. (2021) Evaluating the Potential of Novel Genetic Approaches for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *European Journal of Human Genetics*, **29**, 1369-1376. <https://doi.org/10.1038/s41431-021-00811-2>
- [8] Hrach, H.C. and Mangone, M. (2019) MiRNA Profiling for Early Detection and Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 4638. <https://doi.org/10.3390/ijms20184638>
- [9] Korinthenberg, R. (2019) A New Era in the Management of Duchenne Muscular Dystrophy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, **61**, 292-297. <https://doi.org/10.1111/dmcn.14129>
- [10] Kourakis, S., Timpani, C.A., Campelj, D.G., Hafner, P., Gueven, N., Fischer, D. and Rybalka, E. (2021) Standard of Care versus New-Wave Corticosteroids in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy: Can We Do Better? *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **16**, Article No. 117. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01758-9>
- [11] Lee, S.L., Lim, A., Munns, C., Simm, P.J. and Zacharin, M. (2020) Effect of Testosterone Treatment for Delayed Puberty in Duchenne Muscular Dystrophy. *Hormone Research in Paediatrics*, **93**, 108-118. <https://doi.org/10.1159/000508290>
- [12] Loboda, A. and Dulak, J. (2020) Muscle and Cardiac Therapeutic Strategies for Duchenne Muscular Dystrophy: Past, Present, and Future. *Pharmacological Reports*, **72**, 1227-1263. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00134-x>
- [13] Mackenzie, S.J., Nicolau, S., Connolly, A.M. and Mendell, J.R. (2021) Therapeutic Approaches for Duchenne Muscular Dystrophy: Old and New. *Seminars in Pediatric Neurology*, **37**, Article ID: 100877. <https://doi.org/10.1016/j.spen.2021.100877>
- [14] Mayer, O.H. (2019) Pulmonary Function and Clinical Correlation in DMD. *Paediatric Respiratory Reviews*, **30**, 13-15. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2018.08.003>
- [15] Miller, N.F., Alfano, L.N., Iammarino, M.A., Connolly, A.M., Moore-Clingenpeel, M., Powers, B.R., Tsao, C.Y., Waldrop, M.A., Flanigan, K.M., Mendell, J.R. and Lowes, L.P. (2020) Natural History of Steroid-Treated Young Boys with Duchenne Muscular Dystrophy Using the NSAA, 100m, and Timed Functional Tests. *Pediatric Neurology*, **113**, 15-20. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2020.08.013>
- [16] Min, Y.L., Bassel-Duby, R. and Olson, E.N. (2019) CRISPR Correction of Duchenne Muscular Dystrophy. *Annual Review of Medicine*, **70**, 239-255. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-081117-010451>
- [17] Nascimento Osorio, A., Medina Cantillo, J., Camacho Salas, A., Madruga Garrido, M. and Vilchez Padilla, J.J. (2019) Consensus on the Diagnosis, Treatment and Follow-Up of Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. *Neurologia*, **34**, 469-481. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2018.01.001>
- [18] Panza, E., Vellecco, V., Iannotti, F.A., Paris, D., Manzo, O.L., Smimmo, M., Mitalini, N., Boscaio, A., De Dominicis, G., Bucci, M., Di Lorenzo, A. and Cirino, G. (2021) Duchenne's Muscular Dystrophy Involves a Defective Transsulfuration Pathway Activity. *Redox Biology*, **45**, Article ID: 102040. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102040>
- [19] Podkalicka, P., Mucha, O., Dulak, J. and Loboda, A. (2019) Targeting Angiogenesis in Duchenne Muscular Dystrophy. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **76**, 1507-1528. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03006-7>
- [20] Rugowska, A., Starosta, A. and Konieczny, P. (2021) Epigenetic Modifications in Muscle Regeneration and Progression of Duchenne Muscular Dystrophy. *Clinical Epigenetics*, **13**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01001-z>
- [21] Salmaninejad, A., Jafari Abarghan, Y., Bozorg Qomi, S., Bayat, H., Yousefi, M., Azhdari, S., Talebi, S. and Mojarrad, M. (2021) Common Therapeutic Advances for Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). *International Journal of Neuroscience*, **131**, 370-389. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1740218>
- [22] Siemionow, M., Langa, P., Harasymczuk, M., Cwykiel, J., Siewicz, M., Smieszek, J. and Heydemann, A. (2021) Human Dystrophin Expressing Chimeric (DEC) Cell Therapy Ameliorates Cardiac, Respiratory, and Skeletal Muscle's Function in Duchenne Muscular Dystrophy. *Stem Cells Translational Medicine*, **10**, 1406-1418. <https://doi.org/10.1002/sctm.21-0054>
- [23] Sun, C., Shen, L., Zhang, Z. and Xie, X. (2020) Therapeutic Strategies for Duchenne Muscular Dystrophy: An Update. *Genes*, **11**, Article 837. <https://doi.org/10.3390/genes11080837>
- [24] Verhaart, I.E.C. and Aartsma-Rus, A. (2019) Therapeutic Developments for Duchenne Muscular Dystrophy. *Nature Reviews Neurology*, **15**, 373-386. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0203-3>

- [25] Yasutake, H., Lee, J.K., Hashimoto, A., Masuyama, K., Li, J., Kuramoto, Y., Higo, S., Hikoso, S., Hidaka, K., Naito, A.T., Miyagawa, S., Sawa, Y., Komuro, I. and Sakata, Y. (2021) Decreased YAP Activity Reduces Proliferative Ability in Human Induced Pluripotent Stem Cell of Duchenne Muscular Dystrophy Derived Cardiomyocytes. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 10351. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89603-8>
- [26] Zhang, R., Lv, L., Ban, W., Dang, X. and Zhang, C. (2020) Identification of Hub Genes in Duchenne Muscular Dystrophy: Evidence from Bioinformatic Analysis. *Journal of Computational Biology*, **27**, 1-8. <https://doi.org/10.1089/cmb.2019.0167>
- [27] 卜鑫珏, 奚鑫, 刘松青, 等. 治疗杜兴肌肉萎缩症的新药及其开发[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(2): 165-169.
- [28] 董惠, 宋学琴. Duchenne 肌营养不良的临床表现及诊断治疗进展[J]. 临床荟萃, 2019, 34(3): 212-218.
- [29] 纪伟, 田国力, 王燕敏. 杜氏肌营养不良症基因治疗新进展[J]. 药学与临床研究, 2021, 29(3): 207-210.
- [30] 雷雨, 吴海龙, 刘杰, 等. Duchenne 型肌营养不良症运动疗法研究进展[J]. 护理研究, 2020, 34(16): 2877-2883.
- [31] 史菲菲, 刘红彦. Duchenne 型肌营养不良症治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2021, 18(30): 56-59.
- [32] 汪昌, 周洁, 石永光, 等. Duchenne 型肌营养不良酶学与肌肉脂肪浸润度的研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2021, 24(11): 954-960.
- [33] 许婷婷, 左玮, 刘鑫, 等. 反义寡核苷酸类药物在 Duchenne 型肌营养不良中的治疗进展[J]. 罕见病研究, 2022, 1(2): 199-205.
- [34] 杨一娴, 李昌盛, 王蓓蕾, 等. 杜氏肌营养不良症治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(31): 56-59.
- [35] 张成, 李欢. Duchenne 型肌营养不良症治疗研究进展及应用前景[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2018, 18(7): 480-493.