

# 福建省泉州地区新生儿有机酸血症的 发病率与疾病谱筛查结果分析\*

钟锦平,傅清流,林壹明 (泉州市儿童医院检验科,福建泉州 362000)

**摘要:**目的 了解福建省泉州地区新生儿有机酸血症(organic academia, OA)筛查的发病率及疾病谱特征。方法 采用串联质谱技术对泉州地区364 545例新生儿干血斑样本进行遗传代谢病筛查,应用高通量测序技术结合Sanger测序法对可疑阳性患儿进行致病基因检测,统计分析泉州及其他地区OA的新生儿筛查数据。结果 364 545例筛查的新生儿中,明确诊断OA患儿39例,OA总发病率为1:9 347。共确诊OA 7种,其中最常见的是2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症12例(30.8%),其次为戊二酸血症I型7例(17.9%),其余的分别为异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症6例(15.4%)、3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症5例(12.8%)、异戊酸血症4例(10.3%)、甲基丙二酸血症3例(7.7%)和丙酸血症2例(5.1%)。此外,该研究检出4例母源性OA,分别为戊二酸血症I型和3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症各2例。结论 该研究系统回顾了泉州地区新生儿OA的筛查概况,泉州地区OA的总发病率较高,OA疾病谱与其他地区不同,最常见的三种OA为2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症、戊二酸血症I型和异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症。OA临床异质性强,发病率及疾病谱的阐明将为该地区的新生儿筛查提供科学依据与指导。

**关键词:**有机酸血症;新生儿筛查;发病率;疾病谱

中图分类号:R722.11;Q503 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)05-052-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.013

## Systematic Analysis of the Incidence and Disease Spectrum of Organic Academia Newborn Screening Results in Quanzhou, Fujian Province

ZHONG Jin-ping, FU Qing-liu, LIN Yi-ming (Department of Clinical Laboratory,  
Quanzhou Maternity and Children's Hospital, Fujian Quanzhou 362000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the characteristics of newborn screening for organic academia (OA), the incidence and disease spectrum in Quanzhou. **Methods** A total of 364 545 neonates in Quanzhou were screened for inherited metabolic diseases by tandem mass spectrometry. High-throughput sequencing combined with Sanger sequencing was used to detect the relevant pathogenic genes in suspected positive patients, statistical analysis of OA newborn screening data in Quanzhou and other regions. **Results** Among the 364 545 screening newborns, 39 patients were diagnosed with OA, the overall incidence of OA was 1:9 347. Seven cases of OA were diagnosed, the most common of which was 2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency in 12 cases (30.8%), followed by glutaric acid-induced type I in 7 cases (17.9%). The remaining were isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency in 6 cases (15.4%), 3-methylcrotonyl-CoA dehydrogenase deficiency in 5 cases (12.8%), and isovaleric acid in 4 cases (10.3%), methylmalonic acidemia in 3 cases (7.7%), and propionic acidemia in 2 cases (5.1%). In addition, 4 cases of maternal OA were detected, including two cases of glutaric acid type I and two cases of 3-methyl crotonyl-CoA dehydrogenase deficiency. **Conclusion** This study systematically reviewed the OA newborn screening results in Quanzhou and findings showed that the total incidence of OA in Quanzhou was higher. The disease spectrum of OA was different from other regions. The most common OA was 2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency glutaric acid type I, and isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency. The OA had obvious clinical heterogeneity, the clarification of the incidence and disease spectrum would provide scientific evidence and guidance for newborn screening in the region.

**Keywords:** organic acidemia; newborn screening; incidence; disease spectrum

有机酸血症(organic academia, OA)是一组由于氨基酸、糖酵解及脂肪氧化代谢途径中某种酶的缺陷,导致中间代谢产物有机酸蓄积的疾病<sup>[1]</sup>。该病临床表现复杂多样,诊断缺乏特异性,有机酸大

量蓄积会导致患儿出现严重的神经系统及其他脏器损害,给家庭和社会带来沉重负担。临床上该组疾病可以通过尿气相色谱质谱分析技术检出,但多数患儿由于诊断延迟往往已错过最佳治疗时机,且

\* 基金项目:泉州市科技计划项目(2018N085S)。

作者简介:钟锦平(1979-),男,本科,主管技师,研究方向为临床检验学, E-mail:1621312892@qq.com。

通讯作者:林壹明(1987-),男,硕士,主管技师,研究方向为医学遗传学, E-mail:linyiming0819@sina.com。

OA在临床高危的遗传代谢病患儿中所占的比例较高<sup>[2]</sup>。若能早期诊断OA并进行及时的干预治疗可以有效改善预后,但由于尿气相色谱质谱分析技术操作繁琐,通量低,难以进行大规模的筛查。因此,基于串联质谱技术的新生儿筛查尤为重要<sup>[3]</sup>,目前国内报道OA疾病谱多数来自临床高危病人,较少关于新生儿筛查的OA疾病谱报道。为了解福建省泉州地区OA的发病率及疾病谱特征,本研究总结泉州地区5年的OA新生儿筛查数据,报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 2014年1月~2018年11月在泉州市儿童医院新生儿疾病筛查中心进行串联质谱遗传代谢病筛查的新生儿共计364 545例,其中男性209 136例,女性155 409例。本研究经医院学术伦理委员会批准通过,所有受试者的父母或监护人均签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 新生儿非衍生法筛查试剂盒为芬兰Perkin Elmer公司生产的试剂:NeoBase™ Non-derivatized MSMS Kit; TQD串联质谱仪购自美国Waters公司。

## 1.3 方法

1.3.1 样本采集及新生儿筛查:采集新生儿足跟血4滴滴于专用滤纸片上,室温下自然晾干后冷链递送至筛查中心。干血滴滤纸片经由含有氨基酸和酰基肉碱内标的有机溶剂萃取后,应用TQD串联质谱系统进行氨基酸和酰基肉碱分析。新生儿遗传代谢病筛查异常进行召回复查,结果仍异常的患儿进行进一步的确诊分析。

1.3.2 基因检测及诊断:基因检测送至杭州博圣生物技术有限公司,采用高通量的测序方法对OA的相关基因进行靶向捕获及检测。首先提取可疑阳性患儿的基因组DNA样本,利用超声将DNA打断成主峰为150~200 bp的弥散小片段。接着采用捕获oligo通过多重PCR方法靶向富集目标区域基因组序列,并纯化捕获产物构建文库。利用建库试剂盒处理纯化产物,用Qubit测定文库浓度并对文库进行质检,确保打断的片段在250~350 bp左右,没有接头片段。最后利用定量试剂盒对文库进行精确定量,变性稀释至上机要求浓度后在MiSeq(Illumina)测序平台进行测序分析。对所有发现的变异都应用Sanger测序进行位点验证。若患儿的等位基因同时出现基因突变则为确诊的OA患儿。

## 2 结果

2.1 筛查概况 见表1。364 545例筛查的新生儿中,经过基因检测明确诊断OA患儿39例,其中男性16例,女性23例,总发病率为1:9 347。确诊OA共7种,其中最常见的是2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症12例(30.8%),其次为戊二酸血症I型7例(17.9%),其余的分别为异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症6例(15.4%)、3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症5例(12.8%)、异戊酸血症4例(10.3%)、甲基丙二酸血症3例(7.7%)和丙酸血症2例(5.1%)。此外,本研究检出4例母源性OA,分别为戊二酸血症I型和3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症各2例。

表1 泉州地区39例OA患儿的新生儿筛查结果

疾病名称	确诊例数	致病基因(等位基因总数)	所占比例(%)	发病率
2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症	12	ACADSB(24)	30.8	1:30 379
戊二酸血症I型	7	GCDH(14)	17.9	1:52 078
异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症	6	ACAD8(12)	15.4	1:60 758
3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症	5	MCCC1(6),MCCC2(4)	12.8	1:72 909
异戊酸血症	4	IVD(8)	10.3	1:91 136
甲基丙二酸血症	3	MUT(4),MMAA(2)	7.7	1:121 515
丙酸血症	2	PCCB(4)	5.1	1:182 273

2.2 不同地区的OA发病率及疾病谱 见表2。不同国家和地区OA的发病率和疾病谱有明显差异。如美国北卡罗来纳州<sup>[4]</sup>最常见的3种OA为3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症、甲基丙二酸血症和异戊酸血症。澳大利亚<sup>[5]</sup>排名前三的OA为3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症、戊二酸血症I型和丙酸血症。我国浙江省<sup>[6]</sup>最常见的OA

则为甲基丙二酸血症,其次为3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症。与这些研究相似的是,本研究戊二酸血症I型和3-甲基巴豆酰辅酶A脱氢酶缺乏症也较为常见。而明显不同的是,其他研究常见的甲基丙二酸血症在本研究中却很少见,而本研究最常见的OA为2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症,异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症也比较常见。

表2 不同地区 OA 患儿的新生儿筛查结果

疾病名称筛查信息	美国北卡罗来纳州 <sup>[4]</sup>	澳大利亚 <sup>[5]</sup>	浙江省 <sup>[6]</sup>
筛查例数	944 078	622 489	1: 861 262
OA 确诊例数	58	46	92
OA 发病率	1: 16 300	1: 13 532	1: 20 200
2-甲基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症	1: 470 000	0	0
戊二酸血症 I 型	1: 190 000	1: 69 165	1: 310 200
异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症	1: 450 000	0	0
3-甲基巴豆酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症	1: 36 000	1: 34 583	1: 68 900
异戊酸血症	1: 130 000	1: 622 489	1: 265 900
甲基丙二酸血症	1: 90 000	1: 103 748	1: 46 500
丙酸血症	1: 300 000	1: 77 811	1: 310 200

3 讨论 本研究总结了福建泉州及其他地区新生儿 OA 的发病率和疾病谱,结果显示泉州地区 OA 的总发病率高于美国、澳大利亚等国家和浙江地区。值得注意的是,除了地区和种族差异外,筛查参考值的设定和筛查病种的制定也会影响 OA 的检出率。不同国家和地区的 OA 疾病谱有明显差异,其中本研究常见的 2-甲基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症和异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症在其他地区鲜有报道。

2-甲基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症是一种由于 L-异亮氨酸代谢障碍导致 2-甲基丁酰甘氨酸等相关代谢物在体内蓄积的有机酸代谢病。GIBSON 等<sup>[7]</sup>于 1999 年报道了全球首例 2-甲基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症患者,是一位患有神经发育障碍的儿童。在串联质谱筛查之前,该病的临床表现主要为病例报告,患儿可出现包括发育迟缓、智力低下、惊厥、肌肉萎缩、肌张力低下和孤僻行为等临床症状。近年来随着串联质谱新生儿疾病筛查的广泛开展,各个国家陆续报道了不同种族的 2-甲基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症患者,其中大部分新生儿筛查或者家系筛查发现的患儿暂无明显临床症状<sup>[8]</sup>。2013 年, VAN CALCAR 等<sup>[9]</sup>系统分析了美国威斯康星州 10 年的新生儿筛查数据,共发现 92 例患儿,其中 90 例都来自苗族,该州苗族人群发病率高达 1: 132,而非苗族人群的发病率则为 1: 540 780。而国内仅见湖南沈玉燕等<sup>[10]</sup>报道了 5 例患儿,初步估计总发病率为 1: 10 219。本研究应用串联质谱技术已完成约 36 万例样本检测,迄今发现了 12 例汉族患儿,预示着该病在汉族人群发病率并不低。目前该病尚未纳入我国新生儿筛查规定病种,因此本研究结果可为筛查病种的制定与实施提供参考依据。

异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症是由于异丁酰基辅酶 A 脱氢酶编码基因突变引起缬氨酸代谢障碍造成丁酰肉碱等物质蓄积的一种代谢障碍疾

病<sup>[11]</sup>。ROE 等<sup>[12]</sup>于 1998 年报道了全球首例异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症患者,是一个西班牙裔的 2 岁女孩,11 个月大时出现发育迟缓、贫血、心肌病变和继发性肉碱缺乏,通过补充左卡尼汀治疗,随访至 6 岁生长发育正常。直到 2002 年, NGUYEN 等<sup>[13]</sup>才阐明了该病的分子致病机制,明确致病基因为 ACAD8 (MIM 604773)。2004 年, BATTAILLE 等<sup>[14]</sup>阐明了异丁酰辅酶 A 脱氢酶的蛋白三维结构,并分析三个 ACAD8 基因突变如何影响蛋白结构和功能。此后,国际上陆陆续续有关于异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症的报道,但关于该病的具体发病率目前尚不清楚, OGLEBEE 等<sup>[15]</sup>初步估计其发病率高于 1: 70 000, GALLANT 等<sup>[16]</sup>报道了美国加利福尼亚的发病率为 1: 292 451。而国内目前尚无关于异丁酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症筛查的研究报道,而本研究首次在国内阐明了该病的发病率,可为临床诊断及干预提供参考依据,有助于提高儿科医生对该病的认识及鉴别诊断能力,从而避免误诊。

在多数研究中常见的经典 OA 如甲基丙二酸血症和丙酸血症在本研究中却很少见。甲基丙二酸血症在北方的发病率较高,如山东省的发病率高达 1: 3 920<sup>[17]</sup>。本研究仅检出 3 例甲基丙二酸血症,而浙江省最常见的甲基丙二酸血症的发病率为 1: 46 500,也明显低于山东的报道,提示该病可能存在地区差异性且呈北高南低的趋势。戊二酸血症 I 型是本研究第二常见的 OA,据报道 90% 的患儿在早期会并发急性脑病,通过新生儿筛查早期诊治可明显减少患儿的神经系统后遗症,从而避免不可逆转的神经损害。结合戊二酸血症 I 型在本地区的高发病率及临床症状较严重,对该病应引起足够的重视,避免漏筛。3-甲基巴豆酰辅酶 A 脱氢酶缺乏症是多个国家新生儿筛查最常见的 OA,该病被认为是相对良性的疾病,但仍有 10%~15% 的患儿会出现乏力、呕吐和喂养困难等临床症状,

应注意进行长期的随访。此外,本研究发现了4例母源性OA,目前对于新生儿筛查发现的母源性病例报道较少且尚无统一的管理规范,这种情况下小孩往往只是携带者,应注意鉴别诊断。

综上所述,本研究系统回顾了福建省泉州地区OA的新生儿筛查概况,泉州地区OA的总发病率较高,OA疾病谱与其他地区不同,最常见的三种OA为2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症、戊二酸血症I型和异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症。OA临床异质性大,发病率及疾病谱的阐明将为本地区的新生儿筛查提供科学依据与指导。

#### 参考文献:

- [1] El-HATTAB A W. Inborn errors of metabolism[J]. Clin Perinatol, 2015, 42(2): 413-439.
- [2] HAN Lianshu, HAN Feng, YE Jun, et al. Spectrum analysis of common inherited metabolic diseases in Chinese patients screened and diagnosed by tandem mass spectrometry[J]. J Clin Lab Anal, 2015, 29(2): 162-168.
- [3] 刘芙蓉,王兴,孙小红,等. 甘肃省正常新生儿干血斑氨基酸及酰基肉碱串联质谱检测指标医学参考范围的调查[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 31-34, 37.  
LIU Furong, WANG Xing, SUN Xiaohong, et al. Investigation on the medical reference range of the normal neonates with the amino acid and acyl carnitine tandem mass spectrometry in Gansu Province[J]. J Mod Lab Med, 2018, 33(2): 31-34, 37.
- [4] FRAZIER D M, MILLINGTON D S, MCCANDLESS S E, et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005[J]. J Inher Metab Dis, 2006, 29(1): 76-85.
- [5] KASPER D C, RATSCHMANN R, METZ T F, et al. The national Austrian newborn screening program—eight years experience with mass spectrometry. past, present, and future goals[J]. Wien Klin Wochenschr, 2010, 122(21/22): 607-613.
- [6] 洪芳,黄新文,张玉,等. 浙江省新生儿有机酸尿症筛查及随访分析[J]. 浙江大学学报(医学版), 2017, 46(3): 240-247.  
HONG Fang, HUANG Xinwen, ZHANG Yu, et al. Screening for newborn organic aciduria in Zhejiang province: prevalence, outcome and follow-up[J]. Journal of Zhejiang University (Medical Sciences), 2017, 46(3): 240-247.
- [7] GIBSON K M, BURLINGAME T G, HOGEMA B, et al. 2-Methylbutyryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a new inborn error of L-isoleucine metabolism[J]. Pediatr Res, 2000, 47(6): 830-833.
- [8] ALFARDAN J, MOHSEN A W, COPELAND S, et al. Characterization of new ACADSB gene sequence mutations and clinical implications in patients with 2-methylbutyryl-glycinuria identified by newborn screening[J]. Mol Genet Metab, 2010, 100(4): 333-338.
- [9] VAN CALCAR S C, BAKER M W, WILLIAMS P, et al. Prevalence and mutation analysis of short/branched chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (SBCADD) detected on newborn screening in Wisconsin[J]. Mol Genet Metab, 2013, 110(1/2): 111-115.
- [10] 沈玉燕,黎剑,肖刚. 怀化市51 097例新生儿2-甲基丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(8): 88-89, 119.  
SHEN Yuyan, LI Jian, XIAO Gang. Screening results of neonatal 2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency from 51 097 cases in Huaihua[J]. Chin J Birth Health Heredity, 2017, 25(8): 88-89, 119.
- [11] LIN Yiming, PENG Weilin, JIANG Mengyi, et al. Clinical, biochemical and genetic analysis of Chinese patients with isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. Clin Chim Acta, 2018, 487: 133-138.
- [12] ROE C R, CEDERBAUM S D, ROE D S, et al. Isolated isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency: an unrecognized defect in human valine metabolism[J]. Mol Genet Metab, 1998, 65(4): 264-271.
- [13] NGUYEN T V, ANDRESEN B S, CORYDON T J, et al. Identification of isobutyryl-CoA dehydrogenase and its deficiency in humans[J]. Mol Genet Metab, 2002, 77(1/2): 68-79.
- [14] BATTAILLE K P, NGUYEN T V, VOCKLEY J, et al. Structures of isobutyryl-CoA dehydrogenase and enzyme-product complex: comparison with isovaleryl- and short-chain acyl-CoA dehydrogenases[J]. J Biol Chem, 2004, 279(16): 16526-16534.
- [15] OGLESBEE D, HE Miao, MAJUMDER N, et al. Development of a newborn screening follow-up algorithm for the diagnosis of isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. Genet Med, 2007, 9(2): 108-116.
- [16] GALLANT N M, LEYDIKER K, TANG Hao, et al. Biochemical, molecular, and clinical characteristics of children with short chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency detected by newborn screening in California[J]. Mol Genet Metab, 2012, 106(1): 55-61.
- [17] HAN Bingjuan, CAO Zhiyang, TIAN Liping, et al. Clinical presentation, gene analysis and outcomes in young patients with early-treated combined methylmalonic acidemia and homocystinemia (cb1C type) in Shandong province, China[J]. Brain Dev, 2016, 38(5): 491-497.