

福建泉州地区新生儿氨基酸代谢障碍的筛查结果分析

钟锦平, 彭维林, 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氨基酸代谢障碍 (amino acid disorders, AAD) 的总体筛查概况。**方法** 应用串联质谱技术对泉州地区 2014 年 1 月~2018 年 11 月期间 364 545 例新生儿进行遗传代谢病筛查, 对可疑阳性患儿进行相关致病基因检测, 统计分析确诊 AAD 的种类、疾病构成和发病率。**结果** 共确诊 AAD 患儿 42 例, AAD 总发病率为 1:8 680。确诊 10 种不同的 AAD, 其中最常见的是苯丙氨酸羟化酶缺乏症 14 例 (33.3%), 其次为希特林蛋白缺乏症 10 例 (23.8%), 其余的分别为四氢生物蝶呤缺乏症 4 例 (9.5%)、非酮性高甘氨酸血症 3 例 (7.1%)、甲硫氨酸腺苷转移酶 I/III 缺乏症 3 例 (7.1%)、瓜氨酸血症 I 型 2 例 (4.8%)、精氨酸代琥珀酸尿症 2 例 (4.8%) 和鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症 2 例 (4.8%); 氨甲酰磷酸合成酶缺乏症和高脯氨酸血症较罕见, 各确诊 1 例。**结论** 福建省泉州地区新生儿 AAD 的疾病构成和发病率等特征的阐明可为该地区的出生缺陷防控提供科学依据与指导。

关键词: 氨基酸代谢障碍; 串联质谱技术; 新生儿; 疾病构成; 发病率

中图分类号: R722.11; R589.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 04-041-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.010

Retrospective Analysis of the Neonatal Screening Results of Amino Acid Disorders in Quanzhou Region, Fujian Province

ZHONG Jin-ping, PENG Wei-lin, 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 amino acid disorders (AAD) in Quanzhou of Fujian Province. **Methods** From January 2014 to November 2018, a total of 364 545 newborns in Quanzhou were screened for inherited metabolic diseases by tandem mass spectrometry. Genetic testing was performed for suspected positive newborns, statistical analysis was done to confirm the type of AAD, disease spectrum and incidence. **Results** A total of 42 patients with AAD were diagnosed, and the overall incidence of AAD was 1:8 680. Ten different types of AAD were diagnosed, among which phenylalanine hydroxylase deficiency was the most common disorder (14/42, 33.3%), followed by citrin deficiency (10/42, 23.8%), and the rest were 4 cases with tetrahydrobiopterin deficiency (9.5%), 3 cases with nonketotic hyperglycinemia (7.1%), 3 cases with methionineadenosine transferase I / III deficiency (7.1%), 2 cases with citrullinemia type I (4.8%), 2 cases with argininosuccinate lyase deficiency (4.8%) and 2 cases with ornithine carbamoyl transferase deficiency (4.8%), but carbamoylphosphate synthetase deficiency and hyperprolinemia were relatively rare, and one case was diagnosed respectively. **Conclusion** The clarification of the disease spectrum and incidence of AAD in Quanzhou of Fujian Province can provide scientific basis and guidance for birth defect prevention and control in this region.

Keywords: amino acid disorders; tandem mass spectrometry; newborn baby; disease spectrum; incidence

氨基酸代谢障碍 (amino acid disorders, AAD) 是由于氨基酸代谢途径中某种酶的缺陷, 导致有毒代谢产物蓄积引起器官损害的一组疾病^[1]。该组疾病可在任何年龄发病, 临床表现复杂多样, 若没有进行及时治疗可导致患儿出现肝肾功能损害、发育迟缓、智力落后、高氨血症, 严重可导致死亡^[2]。应用串联质谱技术检测新生儿的氨基酸水平可以发现 AAD, 早期诊断并及时治疗可避免患儿出现不可逆转的智力发育落后和多脏器损伤。AAD 在不同国家或地区的发病率存在差异, 如奥地利的

AAD 发病率为 1:4 980, 葡萄牙为 1:5 856, 美国北卡罗来纳州为 1:11 349^[3-5]。目前, 串联质谱技术已成为国际上筛查遗传代谢病的主要手段。我国自上世纪 80 年代起, 先后在北京、上海等发达城市开始开展新生儿疾病筛查工作。经过数年发展, 我国新生儿疾病筛查工作取得了巨大成绩, 建立了比较完善的新生儿疾病筛查体系。目前我国多数发达城市也已普遍开展串联质谱筛查, 但新生儿 AAD 大规模筛查的报道并不多^[6]。泉州新生儿疾病筛查分中心于 2013 年开始开展基于串联质谱技术的新

基金项目: 泉州市科技计划项目 (2018Z160, 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。

生儿疾病筛查^[7],本研究报道泉州地区五年的新生儿AAD筛查经验,旨在阐明泉州地区AAD的疾病构成和发病率等特征。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2014年1月~2018年11月,福建省泉州市新生儿疾病筛查分中心共筛查364 545例新生儿,其中女性155 409例,男性209 136例。本研究的标本采集及检测均经泉州市儿童医院学术伦理委员会批准通过,所有参与遗传代谢病筛查的新生儿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(NeoBase™ Non-derivatized MSMS Kit)购自芬兰Perkin Elmer公司;AQCUTYTQD串联质谱检测系统购自美国Waters公司。

1.3 方法

1.3.1 样本采集及新生儿疾病筛查:按照卫生部新生儿疾病筛查样本采集技术规范,采集新生儿足底末梢血3~4滴,滴于专用滤纸片上自然晾干,采用冷链运输的方式于3个工作日内将血片送至筛查中心。干血片经有机溶剂萃取后,应用TQD串联质谱仪进行检测,分析样本的氨基酸和酰基肉碱水平。对筛查结果提示可能患有AAD的新生儿进行召回及样本重复检测,结果仍异常的进行进一步的辅助检测及基因分析。

表1 364 545例新生儿的AAD筛查结果

疾病名称	n	致病基因(等位基因总数)	所占比例(%)	发病率
苯丙氨酸羟化酶缺乏症	14	PAH(28)	33.3	1:26 039
希特林蛋白缺乏症	10	SLC25A13(20)	23.8	1:36 455
四氢生物蝶呤缺乏症	4	PTS(8)	9.5	1:91 136
非酮性高甘氨酸血症	3	GLDC(6)	7.1	1:121 515
甲硫氨酸腺苷转移酶I/III缺乏症	3	MAT1A(6)	7.1	1:121 515
瓜氨酸血症I型	2	ASS1(4)	4.8	1:182 273
精氨酸琥珀酸尿症	2	ASL(4)	4.8	1:182 273
鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症	2	OTC(4)	4.8	1:182 273
氨甲酰磷酸合成酶缺乏症	1	CPS1(2)	2.4	1:364 545
高脯氨酸血症	1	PRODH(2)	2.4	1:364 545

2.2 中国不同地区的AAD筛查结果 见表2。我国三个地区AAD的疾病构成较为相似,发病率略有差异。浙江省^[9]筛查量最大,确诊AAD的种类最多,但AAD的总发病率低于江苏省徐州市^[10]

1.3.2 基因突变检测:采用高通量测序平台对高度疑似AAD的新生儿进行基因检测,对检测到的相关致病突变进行Sanger测序验证,具体基因检测流程见文献报道^[8]。若检出两个AAD致病基因突变并确认突变遗传自父母,则确诊为AAD患儿。

2 结果

2.1 新生儿AAD的筛查结果 见表1。研究期间共筛查364 545例新生儿,发现42例AAD患儿,其中男性24例,女性18例,所有确诊患儿均经基因诊断证实,总发病率为1:8 680。确诊10种不同类型的AAD,其中最常见的是苯丙氨酸羟化酶缺乏症(phenylalanine hydroxylase deficiency, PAHD)14例(33.3%),其次为希特林蛋白缺乏症(citrin deficiency, CD)10例(23.8%),其余的分别为四氢生物蝶呤缺乏症4例(9.5%)、非酮性高甘氨酸血症3例(7.1%)、甲硫氨酸腺苷转移酶I/III缺乏症(methionine adenosyltransferase I/III deficiency, MATD)3例(7.1%)、瓜氨酸血症I型2例(4.8%)、精氨酸琥珀酸尿症2例(4.8%)和鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症2例(4.8%);氨甲酰磷酸合成酶缺乏症和高脯氨酸血症较罕见,各确诊1例。

和山东省济宁市^[11]。我国三个地区最常见的3种AAD均为PAHD,CD和MATD。与这些研究相似的是,本研究PAHD和CD也较为常见。与研究不同的是,其他研究较为常见的MATD在本研

究中占比相对较低。

表2 中国三个不同地区新生儿的 AAD 筛查结果

疾病名称及筛查信息	浙江省 ^[9]	江苏省徐州市 ^[10]	山东省济宁市 ^[11]
筛查例数	1 861 262	401 660	514 234
苯丙氨酸羟化酶缺乏症	76	42	56
希特林蛋白缺乏症	29	7	13
四氢生物蝶呤缺乏症	7	6	4
非酮性高甘氨酸血症	0	0	0
甲硫氨酸腺苷转移酶 VIII 缺乏症	16	13	18
瓜氨酸血症 I 型	7	2	2
精氨酸代琥珀酸尿症	1	0	1
鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症	1	3	2
氨甲酰磷酸合成酶缺乏症	2	0	0
高脯氨酸血症	6	0	0
精氨酸血症	8	1	0
酪氨酸血症 I 型	1	4	0
枫糖尿症	9	1	4
胱硫醚 β -合成酶缺乏症	1	0	0
AAD 总确诊例数	164	79	100
AAD 发病率	1 : 11 349	1 : 5 084	1 : 5 142

3 讨论

新生儿 AAD 是一组严重危害人类健康的遗传代谢病,基于串联质谱技术新生儿筛查的开展避免了大部分 AAD 患儿严重后果的发生。本研究通过对比我国四个筛查量较大机构的 AAD 筛查概况,发现我国新生儿 AAD 的常见疾病构成较为相似,但存在一些差异。值得注意的是,不同研究机构的新生儿筛查体系、参考值设定、筛查病种和筛查经验不尽相同。相似之处表现为 PAHD, CD 和 MATD 是我国较常见的 3 种 AAD。不同之处如浙江省发现了数例枫糖尿症和精氨酸血症患儿,而本研究尚未检测到这两种疾病,徐州和济宁的研究也较少报道,这可能与浙江省的筛查量较大或者疾病存在地区差异有关。本研究报道了 3 例非酮性高甘氨酸血症患儿,而上述三个地区都未检测到这种疾病,该病在国内也极少被报道,发病率不详。非酮性高甘氨酸血症是一种较为罕见的疾病,本研究的报道有助于提高儿科医生对该病的认识及鉴别诊断能力。

PAHD 是由于 PAH 基因突变导致苯丙氨酸羟化酶活性降低或丧失,苯丙氨酸在肝脏组织出现代谢紊乱不能正常转化为酪氨酸,使得血苯丙氨酸在体

内蓄积。苯丙氨酸浓度增高会影响中枢神经系统发育,经典型苯丙酮尿症的苯丙氨酸浓度很高,需采取严格的饮食限制和特殊奶粉治疗,否则大多数患儿会发展成严重且不可逆的精神发育迟滞。自 1961 年 Guthrie 开展了 PAHD 的新生儿筛查,该项目在各国得到广泛应用,成为预防医学的一项重要措施。PAHD 是我国法律规定必须筛查的疾病,目前大多数患儿都能得到早期诊断和治疗,避免了智能落后的发生,取得良好的社会效果。PAHD 在中国人群的总发病率为 1 : 11 614,北方地区的发病率明显高于南方^[12]。该研究表明 PAHD 在泉州地区的发病率为 1 : 26 039,与浙江省发病率(1 : 20 445)较为接近^[13],但明显低于我国北方地区。

CD 是由于 SLC25A13 基因突变导致线粒体内膜钙结合的天冬氨酸/谷氨酸载体蛋白希特林蛋白缺乏,导致多种生化代谢紊乱的遗传代谢性肝病,在亚洲人群发病率较高。CD 有 3 种不同的临床表型,分别为希特林蛋白缺乏导致的肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency, NICCD)、希特林蛋白缺乏导致的生长发育落后和血脂异常(failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency, FTTCD)和成年发作瓜氨酸血症 II 型(adult onset type II citrullinemia, CTLN2)。NICCD, FTTCD 以及 CTLN2 三种 CD 患者的发病年龄及临床症状各不相同,大部分 CD 患儿在早期予以及时治疗预后良好,但也有个别 NICCD 患儿病情严重,需要接受肝移植治疗。相反,若 CD 患儿不能得到及时的诊断和治疗,部分患儿会出现不可逆的肝硬化。CD 在日本的发病率为 1 : 17 000,在韩国的发病率为 1 : 50 000,最新研究表明 CD 在我国的发病率为 1 : 26 403^[14]。目前 CD 的早期诊断主要是通过基于串联质谱技术的新生儿筛查发现,该技术以瓜氨酸及相应指标升高作为筛查指标可以筛查出部分的 CD 患儿。但该方法敏感度和特异度较差,部分 CD 患儿早期的瓜氨酸水平并不会升高,因此造成一定比例的 NICCD 出现漏筛。我们前期研究利用联合基因筛查的手段对 23 万的新生儿进行筛查,发现超过一半的 NICCD 患儿在常规新生儿筛查项目中被漏掉^[14]。因此需通过联合基因筛查或者引入二阶筛查来提高 CD 的新生儿筛查效能。

MATD 是一种由于 MAT1A 基因突变导致甲硫氨酸代谢受阻使得甲硫氨酸在体内蓄积的遗传代谢病,该病通常为常染色体隐性遗传,少数可呈显性遗传。MATD 的临床表现复杂,部分患者会出现生长发育迟缓、智力运动落后和肌张力低下等症状,极少数患者会出现脑皮质下和深层白质的脱髓鞘改

变。然而由于多数 MATD 表现相对良性,目前该病是否应该进行饮食控制治疗尚存争议。目前关于 MATD 的报道较少,其在全球的发病率也有较大差异。本研究发现 MATD 在泉州地区的发病率为 1:121 515,与日本的发病率(1:107 850)较为接近,明显低于西班牙(1:22 874)和葡萄牙(1:26 000)的发病率,但高于台湾的发病率(1:212 698)^[15-18]。而上述三个地区的研究表明 MATD 为我国较常见的 AAD,由于该病的远期预后尚不清楚,对新生儿筛查发现甲硫氨酸升高的患儿应尽早进行基因检测明确诊断,并做好治疗和个性化的随访管理。

综上所述,本研究分析并对比了泉州及我国三个不同地区新生儿 AAD 的筛查概况,泉州地区 AAD 的总体发病率并不低,常见 AAD 的疾病构成与我国其他地区相似。泉州地区最常见的 AAD 为 PAHD,其次为 CD, MATD 的发病率也较高。AAD 种类较多且疾病轻重不一,该研究阐明了泉州地区新生儿 AAD 的疾病构成及发病率,可为该地区的出生缺陷防控提供科学依据与指导。

参考文献:

- [1] ADEVA-ANDANY M M, LÓPEZ-MASIDE L, DONAPETRY-GARCÍA C, et al. Enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism in humans[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(6): 1005-1028.
- [2] YAHYAOU R, PÉREZ-FRÍAS J. Amino acid transport defects in human inherited metabolic disorders[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 21(1):119.
- [3] 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]. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 2010, 122(21/22): 607-613.
- [4] VILARINHO L, ROCHA H, SOUSA C, et al. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2010, 33 (Suppl 3): S133- S138.
- [5] FRAZIER D M, MILLINGTON D S, MCCANDLESS S E, et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North carolina:1997-2005[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2006, 29(1): 76-85.
- [6] 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]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(2):31-34,37.
- [7] 郑泉志,林壹明,傅清流. 泉州地区 72 746 例新生儿遗传代谢病串联质谱筛查回顾分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2017, 25 (1): 94-95, 88.
ZHENG Quanzhi, LIN Yiming, FU Qingliu. Retrospective analysis of 72 746 neonates results by tandem mass spectrometry screening for inherited metabolic disease in Quanzhou district [J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*, 2017, 25(1):94-95, 88.
- [8] 钟锦平,傅清流,林壹明. 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[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34 (5): 52-55.
ZHONG Jinping, FU Qingliu, LIN Yiming. Systematic analysis of the incidence and disease spectrum of organic academia newborn screening results in Quanzhou, Fujian Province [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(5):52-55.
- [9] 黄新文,张玉,洪芳,等. 浙江省新生儿氨基酸代谢疾病筛查及随访分析[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 46 (3): 233-239.
HUANG Xinwen, ZHANG Yu, HONG Fang, et al. Screening for amino acid metabolic disorders of newborns in Zhejiang province: prevalence, outcome and follow-up[J]. *Journal of Zhejiang University(Medical Sciences)*, 2017, 46 (3): 233-239.
- [10] WANG Ting, MA Jun, ZHANG Qin, et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry in Suzhou, China: disease spectrum, prevalence, genetic characteristics in a Chinese population[J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10:1052.
- [11] YANG Chiju, ZHOU Cheng, XU Peng, et al. Newborn screening and diagnosis of inborn errors of metabolism: A 5-year study in an eastern Chinese population.[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 502:133-138.
- [12] SHI Xiaotong, CAI Juan, WANG Yuanyu, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism in mainland china: 30 years of experience.[J]. *JIMD Reports*, 2012, 6: 79-83
- [13] CHEN Ting, XU Weize, WU Dingwen, et al. Mutational and phenotypic spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Zhejiang province, China[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 17137.
- [14] LIN Yiming, LIU Yaru, ZHU Lin, et al. Combining newborn metabolic and genetic screening for neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency.[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2020, 43(3): 467-477.
- [15] NAGAO M, TANAKA T, FURUJO M. Spectrum of mutations associated with methionine adenosyltransferase I/III deficiency among individuals identified during newborn screening in Japan[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2013, 110(4): 460-464.
- [16] CHIEN Y H, CHIANG Shuchuan, HUANG Aichu, et al. Spectrum of hypermethioninemia in neonatal screening.[J]. *Early Human Development*, 2005, 81(6): 529-533.