

上海地区临床实验室运动神经元存活基因外显子缺失项目检测能力的室间质量评价分析

张芃胤, 权 静, 肖艳群, 鲍 芸 (上海市临床检验中心分子生物学室, 上海 200126)

摘要: 目的 利用室间质量评价 (EQA) 分析上海地区临床实验室运动神经元存活 (survival motor neuron, SMN) 基因外显子缺失项目的检测能力。方法 选用含有不同 SMN 外显子拷贝数的细胞株基因组 DNA 作为 EQA 样本, 2023 年间共两次, 每次随机选取 5 份发放给上海地区各参评实验室, 要求其在规定时间内进行检测并上传结果, 依据回报结果统计分析并评价其检测能力。结果 两次 EQA 中 SMN1 判定结果回报全部正确的实验室分别占 100% (38/38) 和 97.22% (35/36), SMN1 第 7, 8 号外显子拷贝数检测的总体符合率分别为 96.92% (315/325) 和 98.18% (324/330), SMN2 第 7, 8 号外显子拷贝数检测的总体符合率分别为 100% (65/65) 和 96.56% (43/45)。回报错误结果中包括 1 例结果判定错误和 4 例拷贝数检测错误。结论 通过筛选出具有不同 SMN 外显子拷贝数的细胞株基因组 DNA 可有效模拟临床样本并应用于 SMN 外显子缺失 EQA 活动中。回报结果分析显示上海地区临床实验室 SMN 外显子缺失项目整体符合率较高, 但个别实验室检测能力尚待提高。

关键词: 脊髓性肌萎缩症; 运动神经元存活基因; 外显子缺失; 室间质量评价

中图分类号: R446 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2024)06-223-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.06.039

External Quality Assessment for Deletion of Exons in the Survival Motor Neuron Gene in Clinical Laboratories of Shanghai

ZHANG Pengyin, QUAN Jing, XIAO Yanqun, BAO Yun (Department of Molecular Biology, Shanghai Center for Clinical Laboratory, Shanghai 200126, China)

Abstract: **Objective** To analyze the detection ability of survival motor neuron (SMN) gene deletion of exons in clinical laboratories in Shanghai using external quality assessment (EQA). **Methods** Genomic DNA from the cell lines containing different SMN exon copy numbers were selected as EQA samples. The EQA sample panel, which consisted of 5 samples, was randomly selected twice and distributed to participating laboratories in Shanghai in 2023. The results were required to be conducted and uploaded within the specified time. Based on the reported results, statistical analysis was performed and the detection ability was evaluated. **Results** In the two EQA, laboratory that submitted all correct results for SMN1 accounted for 100% (38/38) and 97.22% (35/36), respectively. The overall coincidence rates were 96.92% (315/325) and 98.18% (324/330) for copy number detection of SMN1 exon 7 and 8, 100% (65/65) and 96.56% (43/45) for copy number detection of SMN2 exon 7 and 8. The reported error results included case of result judgment error and 4 cases of copy number detection errors. **Conclusion** Screening genomic DNA from the cell lines containing different SMN exon copy numbers can effectively simulate the clinical samples, which can be applied to EQA material for deletion of exons in the SMN gene. The reported results show that the overall compliance rate of SMN deletion of exons in clinical laboratories in Shanghai is relatively high, but the testing capabilities of some laboratories still need to be improved.

Keywords: spinal muscular atrophy; survival motor neuron gene; deletion of exons; external quality assessment

脊髓性肌萎缩症 (spinal muscular atrophy, SMA) 是一种脊髓前角 α -运动神经元退化变性导致的常染色体隐性遗传病, 也是婴幼儿期最常见的致死性神经遗传性疾病^[1]。临床主要表现为肢体近端对称性、进行性肌无力和肌萎缩。目前, SMA 分为 5 型: SMA 0 ~ IV 型, 儿童型 SMA (SMA 0 ~ III 型) 在疾病严重程度及预后均差于成人型

(SMA IV 型), 发病率相对高于成人。1995 年初, LEFEBVRE 等^[2]分离出 SMA 致病基因, 即运动神经元存活基因 (survival motor neuron, SMN)。SMN 包含 9 个外显子和 8 个内含子, 有两个高度同源的拷贝, SMN1 和 SMN2, 两者只有 5 个碱基的差别。其中 95% 的 SMA I ~ III 型可检测到 SMN1 外显子 7 和 (或) 外显子 8 纯合缺失^[3], 另

基金项目: 上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划 (沪卫人事[2022]65号); 上海市临床检验中心学科人才培养计划 (2024RCJH-02)。

作者简介: 张芃胤 (1984-), 男, 硕士, 主管技师, 研究方向: 临床分子生物学检测及质量控制工作, E-mail: zhangpengyin@sccl.org.cn。

通讯作者: 鲍芸 (1983-), 女, 博士, 副主任技师, 研究方向: 临床实验室管理工作, E-mail: baoyun@sccl.org.cn。

约5%可因杂合性缺失和基因内微小致病性变异患病。SMA的诊断以分子遗传学为基础,基因检测结果明确的无须再进行相关辅助检查[血清肌酸磷酸激酶(CPK)、肌肉电生理及肌肉活检等]^[4]。

一般来说,大部分正常个体都有2份拷贝的SMN1基因与2份拷贝的SMN2基因,SMN2基因发生外显子7的跳跃,转录过程中只产生少量的全长SMN mRNA。SMN1缺失患者携带SMN2拷贝数越多表型越轻^[5],这对于SMA的临床诊断、遗传咨询及生育指导具有一定的意义^[6-7],在新生儿筛查中也被作为症状出现前患者治疗评估的重要生物学标志物^[8],对于确诊SMA新生儿的后续临床治疗有重要指导价值。

目前,通过国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)审批的SMN1基因检测试剂盒有四种,检测方法主要涉及荧光定量PCR法和熔解曲线法两种。同时,也有临床实验室采用多重连接依赖探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)技术、MassARRAY质谱法、数字PCR法及其他实验室自建方法(laboratory developed tests, LDTs)等,同时检测SMN1和SMN2基因。这些检测方法都涉及到血液基因组DNA提取纯化、特异性PCR扩增、结果判定等,有的还需要片段杂交、电泳分析等,任何一个环节都可能会影响检测结果的准确性。基因检测的结果对SMA的诊断具有重要的意义,错误的检测结果将影响后续临床对患者病情的判断,携带者生育遗传风险的评估,因此必须加强检测质量以保证结果的准确性。为合理评估实验室检测能力,本研究使用人源性细胞系基因组DNA作为质控品,于2023年首次在国内同时开展SMN1和SMN2外显子缺失检测项目的室间质量评价计划,以评估该项目临床检测水平,分析存在的不足,为进一步提高该项目检测质量提供依据。

1 材料与方法

1.1 参评实验 2023年SMN外显子缺失检测室间质量评价(external quality assessment, EQA)参评实验室为42家,主要来自三级甲等医院相关科室和第三方医学检验实验室。两次质评活动开展的时间分别为2023年5月9日~5月23日和9月5日~9月19日。

1.2 仪器与试剂 5427R台式高速冷冻离心机(Eppendorf, 德国);ABI 7500实时荧光定量PCR仪(ABI, 美国);超微量紫外可见分光光度计NanoDrop(Thermo, 美国)。血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒(北京天根生化科技, 货号:DP304);SALSA MLPA Probemix P021-B1

SMA(MRC Holland, 荷兰)。

1.3 方法

1.3.1 室间质评物品准备:提取细胞培养物(Coriell Institute, 美国)的基因组DNA并测定浓度和纯度,采用MLPA法检测SMN1第7、8号外显子拷贝数和SMN2第7、8号外显子拷贝数,确定各基因组DNA的型别(未缺失、杂合缺失或纯合缺失)。TE缓冲液稀释后,最终浓度约为 $35 \pm 5 \text{ ng}/\mu\text{l}$, $A_{260\text{nm}/280\text{nm}}$ 为1.7~2.0,按照 $30 \mu\text{l}/\text{支}$ 分装并 -20°C 保存。

1.3.2 室间质评计划实施:SMN外显子缺失检测项目室间质评计划为一年两次,每次室间质评物品盘均含有5份拷贝数不同的物品,随机编码后冷链发送至各参评实验室,要求参评实验室在规定时间内按照常规物品检测流程进行检测并将第7、8号外显子拷贝数和判定结果通过网络上报至中心数据库。SMN2外显子缺失为调查项目,需回报第7、8号外显子的拷贝数。

1.4 统计学分析 依据各参评实验室回报结果计算得分情况,室间质评成绩计算为检测结果与预期相符的百分率。 $\geq 80\%$ 判定为室间质评成绩合格。同时统计分析物品的总体符合率及不同检测方法的符合率,并与实验室沟通分析错误检测结果的原因。

2 结果

2.1 室间质评物品验证结果 2023年室间质评物品采用MLPA法确定拷贝数及分型结果,MLPA结果见图1。两次室间质评物品盘构成及预期结果见表1。

2.2 参评实验室总体回报情况 2023年SMN1外显子缺失检测室间质评计划参评实验室为42家,两次质评活动中收到的有效回报结果分别为38份和36份,室间质评物品检测符合率见表1。参评实验室主要采用荧光定量PCR法、熔解曲线法和MLPA法检测,在两次质评活动中使用率分别为18/38(47.37%),12/38(31.58%),6/38(15.79%)

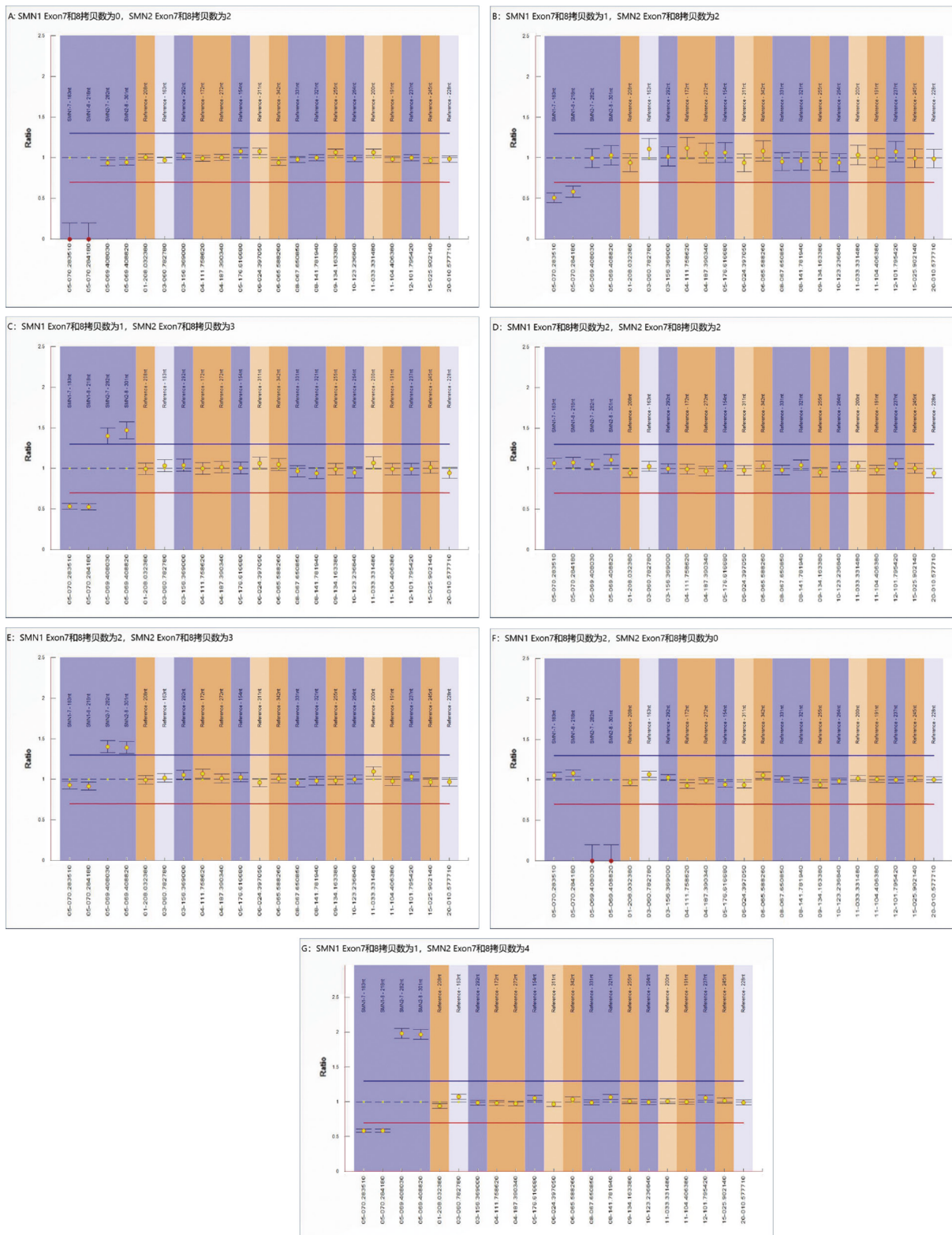
和15/36(41.67%),13/36(36.11%),5/36(13.89%)。SMN2外显子缺失检测调查项目分别有8家和5家回报了结果,其中6家参评实验室使用了MLPA法,另有1家使用数字PCR、1家为其他LDT方法。

2.3 参评实验室检测能力评价 2023年两次室间质评中SMN1判定结果回报全部正确的实验室分别占100%(38/38)和97.22%(35/36),其中第2次有1家实验室成绩为80分。SMN1拷贝数检测的总体符合率分别为96.92%(315/325)和98.18%(324/330),共有4家实验室出现了错误。SMN2拷贝数检测的总体符合率分别为100%(65/65)和

96.56% (43/45)，有1家实验室出现了错误。

本文还将两次 SMN1 外显子缺失室间质评项目中各检测方法的检测效能进行了分析比较，见表2。荧光定量PCR法和MLPA法的检测符合率均为

100.00%。检测错误结果发生在使用熔解曲线法的实验室。而在调查项目 SMN2 中，出现拷贝数错误的实验室使用的为 MLPA 法。



A 为 EQA 样本 2311 和 2321; B 为 2312; C 为 2313 和 2323; D 为 2314; E 为 2315 和 2325; F 为 2322; G 为 2324; 参考序列基因组为 GRCh37/hg19。

图1 2023年两次室间质评使用的质控品中SMN1, SMN2基因拷贝数

3 讨论

SMN 外显子缺失检测对于 SMA 疾病相关的基因诊断、产前诊断、植入前遗传学检测和携带者筛查具有重要意义。组织实施该项目室间质评计划，

能够对临床实验室检测质量进行比较全面的评估。本中心在国内首次开展了 SMN 外显子缺失室间质量评价计划，能够帮助实验室改进和提高该项目的检测质量。

表 1 2023 年两次 SMN1，SMN2 外显子 EQA 样本盘构成及检测符合率

检测基因	第 1 次			第 2 次		
	质评物品	预测结果	符合率 (%)	质评物品	预测结果	符合率 (%)
SMN1 第 7 号外显子拷贝数	2311	0	100.00(35/35)	2321	0	100.00(35/35)
	2312	1	100.00(35/35)	2322	2	97.14(34/35)
	2313	1	100.00(35/35)	2323	1	100.00(35/35)
	2314	2	94.29(33/35)	2324	1	97.14(34/35)
	2315	2	94.29(33/35)	2325	2	97.14(34/35)
SMN1 第 8 号外显子拷贝数	2311	0	100.00(30/30)	2321	0	100.00(31/31)
	2312	1	100.00(30/30)	2322	2	96.77(30/31)
	2313	1	93.33(28/30)	2323	1	100.00(31/31)
	2314	2	93.33(28/30)	2324	1	96.77(30/31)
	2315	2	93.33(28/30)	2325	2	96.77(30/31)
SMN1 判定结果	2311	纯合缺失	100.00(38/38)	2321	纯合缺失	100.00(36/36)
	2312	杂合缺失	100.00(38/38)	2322	未缺失	100.00(36/36)
	2313	杂合缺失	100.00(38/38)	2323	杂合缺失	100.00(36/36)
	2314	未缺失	100.00(38/38)	2324	杂合缺失	97.22(35/36)
	2315	未缺失	100.00(38/38)	2325	未缺失	100.00(36/36)
SMN2 第 7 号外显子拷贝数	2311	2	100.00(8/8)	2321	2	100.00(5/5)
	2312	2	100.00(8/8)	2322	0	100.00(5/5)
	2313	3	100.00(8/8)	2323	3	100.00(5/5)
	2314	2	100.00(8/8)	2324	4	100.00(5/5)
	2315	3	100.00(8/8)	2325	3	80.00(4/5)
SMN2 第 8 号外显子拷贝数	2311	2	100.00(5/5)	2321	2	100.00(4/4)
	2312	2	100.00(5/5)	2322	0	100.00(4/4)
	2313	3	100.00(5/5)	2323	3	100.00(4/4)
	2314	2	100.00(5/5)	2324	4	100.00(4/4)
	2315	3	100.00(5/5)	2325	3	75.00(3/4)

表 2 2023 年 SMN1 外显子缺失参评实验室所用检测方法 EQA 成绩

	检测方法	参评实验室数	100 分			<80 分	
			100 分	80 分	<80 分	100 分	<80 分
第 1 次	荧光定量 PCR	18	18	0	0		
	熔解曲线	12	12	0	0		
	MLPA	6	6	0	0		
	飞行质谱法	1	1	0	0		
	其他 LDT 方法	1	1	0	0		
第 2 次	荧光定量 PCR	15	15	0	0		
	熔解曲线	13	12	1	0		
	MLPA	5	5	0	0		
	飞行质谱法	1	1	0	0		
	其他 LDT 方法	2	2	0	0		

总体来看，参评实验室在 2023 年的两次 SMN1 室间质评中的准确率较高，但还是存在三家采用熔解曲线法的实验室出现错误的情况，涉及结果综合判定和拷贝数项目。经过与实验室沟通，并全面复盘了整个检测、上报环节后，发现这三家在实验过程中的分析数据 R 值并无问题。其中两家仅在拷贝数项目上出现了错误，分析原因为在参照试剂说明书进行结果判读的过程中，误将 R 值取整后当作该样本的拷贝数进行上报，表明检测人员在分析软件使用和对结果的理解分析上存在一定偏差，需要进一步有针对性的加强培训提高人员结果解读能力。同时也说明实验室通过参加外部室间质评计划能够发现日常检测中的问题，进行有针对性的分

析和内部整改能够改进质量提高检测水平。另一家在结果复制粘贴的过程中,出现了错行,造成了拷贝数和综合判定项目都出现了错误,说明实验室在结果转录和报告过程中未按要求进行审核,存在漏洞。

在调查项目 SMN2 中,第2次室间质评中出现了1例样本拷贝数错误。该实验室使用 MLPA 法进行检测,由于初次实验未能满足质控要求导致结果无效,随后在复测过程中又出现了结果判读上的错误。MLPA 法是目前国内外 SMA 管理共识推荐使用诊断金标准^[5],虽然该方法可以快速、灵敏、准确地检测基因的拷贝数变化和甲基化状态^[9],但是国内尚未有使用该方法的试剂通过国家药品监督管理局注册,仍属于实验室自建方法。实验操作过程涉及到探针和靶序列 DNA 的杂交、连接、扩增,扩增产物毛细管电泳、使用软件对数据进行分析与解读等多个环节^[10],流程复杂质量控制步骤繁多,对方法建立及性能确认、实验人员的实验操作、数据分析能力提出了很高的要求。采用 LDTs 方法检测的实验室应当在开展检测前,从精密度、准确度、可报告范围、参考区间、分析灵敏度和分析特异性等方面完成方法学性能确认^[11-12],并且在日常检测中严格遵循相应的标准操作程序,做好室内质控以保证质量。

本研究涉及的检测方法中,使用最多的是荧光定量 PCR 法,它操作简便、成本低廉、对实验人员要求不高,目前广泛应用于人群的筛查,但其特异性相比 MLPA 法略逊。其次是熔解曲线法,近年来尤其是采用高分辨率熔解曲线法 (high-resolution melting, HRM) 的分子诊断试剂增长较快。相对于传统的突变分析而言,HRM 简化了操作时间和步骤,降低了使用成本,用途更广,可应用于突变扫描、序列配对、基因分型和甲基化分析等,但需要 RT-PCR 仪配备专门的 HRM 模块和通道才能够进行熔解曲线分析。

综上所述,利用特定细胞株基因组 DNA 制备的 SMN 外显子缺失样本虽然尚无法监控核酸提取过程仍有不足之处,但是它易于保存和运输且可按照要求稀释成不同浓度的特点,在一定程度上也能够充分模拟临床样本,达到监控该项目检测质量的目的。EQA 结果表明大部分实验室 SMN1, SMN2 外显子缺失的检测能力良好,但部分实验室检测能力仍需进一步提高,尤其应当对拷贝数概念、试剂说明书理解等加强培训,采用 MLPA 法的实验室应特别注意方法性能确认、人员操作分析、质控环节才能保证检测质量。

参考文献:

- [1] 杨东铃,阮毅燕.脊髓性肌萎缩症治疗研究进展[J].中国当代儿科杂志,2022,24(2):204-209.
YANG Dongling, RUAN Yiyan. Recent research on the treatment of spinal muscular atrophy[J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2022, 24(2): 204-209.
- [2] LEFEBVRE S, BÜRGLEN L, REBOULLET S. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene[J]. Cell, 1995, 80(1): 155-165.
- [3] MERCURI E, PERA M C, SCOTO M, et al. Spinal muscular atrophy-insights and challenges in the treatment era[J]. Nature Reviews Neurology, 2020, 16(12): 706-715.
- [4] 张抒扬. 罕见病诊疗指南(2019版)[M]. 北京:人民卫生出版社,2019:570-574.
ZHANG Shuyang. Guidelines for the diagnosis and treatment of rare diseases (2019 edition)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2019: 570-574.
- [5] 中国研究型医院学会神经科学专业委员会. 中国出生缺陷干预救助基金会神经与肌肉疾病防控专项基金组织专家组. 脊髓性肌萎缩症新生儿筛查专家共识(2023版)[J]. 中华医学杂志, 2023, 103(27): 2075-2081.
Society for Neuroscience and Neurology, Chinese Research Hospital Association, Dedicated Fund for Neuromuscular Disorders, March of Dimes Birth Defects Foundation of China. Expert consensus on newborn screening for spinal muscular atrophy (2023 edition)[J]. National Medical Journal of China, 2023, 103(27): 2075-2081.
- [6] 北京医学会罕见病分会,北京医学会医学遗传学分会,北京医学会神经病学分会神经肌肉病学组,等. 脊髓性肌萎缩症多学科管理专家共识[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(19): 1460-1467.
Rare Diseases Committee of Beijing Medical Association, the Society of Medical Genetics, Beijing Medical Association, Neuromuscular Disease Group of Neurology Branch of Beijing Medical Association, et al. Expert consensus on multidisciplinary management of spinal muscular atrophy[J]. National Medical Journal of China, 2019, 99(19): 1460-1467.
- [7] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组,潘建延,谭虎,等. 脊髓性肌萎缩症的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3): 263-268.
Writing Group for Practice Guidelines for Diagnosis and Treatment of Genetic Disease, Medical Genetics Branch of Chinese Medical Association, PAN Jianyan, TAN HU, et al. Clinical practice guidelines for spinal muscular atrophy[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2020, 37(3): 263-268.
- [8] BLASCO-PÉREZ L, PARAMONOV I, LENO J, et

- al. Beyond copy number: A new, rapid, and versatile method for sequencing the entire SMN2 gene in SMA patients[J]. *Human Mutation*, 2021, 42(6): 787-795.
- [9] 李烨荣, 张菁菁, 吕娟. 脊髓性肌萎缩症携带者筛查技术研究进展 [J]. *临床检验杂志*, 2022, 40(1): 52-56, 59.
LI Yerong, ZHANG Jingjing, LÜ Juan. Research progress on screening technology for spinal muscular atrophy carriers[J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2022, 40(1): 52-56, 59.
- [10] EIJK-VAN OS P G, SCHOUTEN J P. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®) for the detection of copy number variation in genomic sequences[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011, 688: 97-126.
- [11] HALLING K C, SCHRIJVER I, PERSONS D L. Test verification and validation for molecular diagnostic assays[J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2012, 136(1): 11-13.
- [12] 张瑞, 李金明. 精准医学与临床实验室规范化 [J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40(4): 224-226.
ZHANG Rui, LI Jinming. Precision medicine and standardization of clinical laboratories[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2017, 40(4): 224-226.
收稿日期: 2024-06-02
修回日期: 2024-07-22
-
- (上接第 188 页)
- 检验医学杂志, 2022, 37(5): 61-64.
ZHENG Quanzhi, FU Qingliu, PENG Weilin, et al. Study on the value of tandem mass spectrometry and related gene mutation detection in neonates with isovaleric acidemia[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(5): 61-64.
- [11] 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 acidemia newborn screening results in Quanzhou, Fujian Province[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(5): 52-55.
- [12] VAN RIJT W J, FERDINANDUSSE S, GIANNPOUL OS P, et al. Prediction of disease severity in multiple Acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a retrospective and laboratory cohort study[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2019, 42(5): 878-889.
- [13] VAN RIJT W J, JAGER E A, ALLERSMA D P, et al. Efficacy and safety of D, L-3-hydroxybutyrate (D,L-3-HB) treatment in multiple Acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *Genetics in Medicine*, 2020, 22(5): 908-916.
- [14] VAN RIJT W J, HEINER-FOKKEMA M R, DU MARCHIE SARVAAS G J, et al. Favorable outcome after physiologic dose of sodium-D,L-3-hydroxybutyrate in severe MADD[J]. *Pediatrics*, 2014, 134(4): e1224-e1228.
- [15] 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]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2015, 29(2): 162-168.
- [16] WANG Zhiqiang, CHEN Xuejiao, MURONG Shenxing, et al. Molecular analysis of 51 unrelated pedigrees with late-onset multiple Acyl-CoA dehydrogenation deficiency (MADD) in southern China confirmed the most common ETFDH mutation and high carrier frequency of c.250G>A[J]. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 2011, 89(6): 569-576.
- [17] LUO Xiaomei, SUN Yu, XU Feng, et al. A pilot study of expanded newborn screening for 573 genes related to severe inherited disorders in China: results from 1 127 newborns[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2020, 8(17): 1058.
- [18] HAO Lili, LIANG Lili, GAO Xiaolan, et al. Screening of 1.17 million newborns for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry in Shanghai, China: a 19-year report[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2024, 141(1): 108098.
- [19] MEN Shuai, LIU Shuang, ZHENG Qin, et al. Incidence and genetic variants of inborn errors of metabolism identified through newborn screening: a 7-year study in eastern coastal areas of China[J]. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 2023, 11(6): e2152.
- [20] ZHU Min, ZHU Xuan, QI Xueliang, et al. Riboflavin-responsive multiple Acyl-CoA dehydrogenation deficiency in 13 cases, and a literature review in mainland Chinese patients[J]. *Journal of Human Genetics*, 2014, 59(5): 256-261.
- [21] LAN M Y, FU M H, LIU Y F, et al. High frequency of ETFDH c. 250G>A mutation in Taiwanese patients with late-onset lipid storage myopathy[J]. *Clinical Genetics*, 2010, 78(6): 565-569.
- [22] XI Jianying, WEN Bing, LIN Jie, et al. Clinical features and ETFDH mutation spectrum in a cohort of 90 Chinese patients with late-onset multiple Acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2014, 37(3): 399-404.
收稿日期: 2024-01-17
修回日期: 2024-03-15