

论著·临床研究

3例 Menkes 病患儿的临床与 ATP7A 基因分析及 1例产前诊断研究

王 峤 丁 圆 王静敏 黄琼辉 赵程峰 刘玉鹏 李溪远
吴桐菲 宋金青 王玉洁 杨艳玲

(北京大学第一医院儿科, 北京 100034)

[摘要] Menkes 病是一种罕见的 X 连锁隐性遗传病, 由于 ATP7A 基因突变导致铜吸收障碍, 铜相关酶功能缺陷, 引起多系统功能障碍。该文拟通过对 3 例 Menkes 病患儿的临床经过和 ATP7A 基因突变分析对该症进行研究, 并对 1 例再孕母亲进行产前诊断研究。3 例男婴于 8~9 个月时来院就诊, 均为婴儿期起病, 主要表现为抽搐和智力运动落后, 抗癫痫治疗无效, 面色苍白, 毛发稀疏、卷曲, 小头, MRI 扫描显示脑萎缩、白质异常、基底节损害和脑血管形态改变, 血浆铜蓝蛋白均显著降低, 分别为 70.2、73.5、81.0 mg/L (参考值 210~530 mg/L), 符合经典型 Menkes 病临床表型。例 1 和 2 的 ATP7A 基因存在 c.3914A>G (p. D1305G) 突变, 例 3 为 c.3265G>T (p.G1089X) 突变, 均为新生突变。c.3914A>G (p. D1305G) 为已知突变, c.3265G>T (p.G1089X) 为新突变, 均为我国首次报道。例 1 患儿的母亲再孕, 于妊娠 20 周时抽取羊水细胞, 通过胎儿 ATP7A 基因突变分析, 进行产前诊断。羊水细胞 ATP7A 基因未见 c.3914A>G, 提示胎儿未患与先证者相同的疾病。胎儿出生后发育正常。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(6): 624-628]

[关键词] Menkes 病; ATP7A 基因; 铜蓝蛋白; 产前诊断; 婴儿

Clinical and ATP7A gene analysis of three infants with Menkes disease and prenatal diagnosis for a fetus at risk

WANG Qiao, DING Yuan, WANG Jing-Min, HUANG Qiong-Hui, ZHAO Cheng-Feng, LIU Yu-Peng, LI Xi-Yuan, WU Tong-Fei, SONG Jin-Qing, WANG Yu-Jie, YANG Yan-Ling. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Yang Y-L, Email: organic.acid@126.com)

Abstract: Menkes disease is a rare X-linked recessive disorder characterized by multi-systemic disorder of copper deficiency caused by ATP7A gene mutation. In this study, the clinical and laboratory features of three patients with Menkes disease were analyzed. Prenatal diagnosis had been performed for a fetus of a family. Three patients were admitted at the age of 8-9 months due to severe epilepsies and marked delayed psychomotor development. Significantly light complexion, pudgy cheeks and sparse fuzzy wooly hair were observed. On their cranial MR imaging, cortical atrophy, leukoencephalopathy, basal ganglia damage and tortuosity of the intracranial vessels were found. Their plasma ceruloplasmin decreased to 70.2, 73.5 and 81 mg/L, significantly lower than normal range (210-530 mg/L). c.3914A>G (p. D1305G) was detected on ATP7A gene of case 1 and 2. A novel mutation, c.3265G>T (p.G1089X) was found in case 3. Both of them were firstly found in Chinese patients of Menkes disease. The mother of case 1 was tested at 20 weeks of pregnancy. Karyotype and ATP7A gene studies of the amniocytes were performed for the prenatal diagnosis of her fetus. Normal male karyotypes without c.3914A>G mutation on ATP7A gene was showed. Postnatal genetic analysis and normal development confirmed the prenatal diagnosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(6): 624-628]

Key words: Menkes disease; ATP7A gene; Ceruloplasmin; Prenatal diagnosis; Infant

[收稿日期] 2013-11-23; [接受日期] 2014-02-20

[基金项目] “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAI09B04) 资助。

[作者简介] 王峤, 女, 博士研究生。

[通信作者] 杨艳玲, 女, 教授。

Menkes 病 (MIM#309400) 是一种罕见的 X 连锁隐性遗传病, 由于 ATP7A 基因突变导致小肠上皮细胞铜转运机制障碍, 体内铜缺乏, 铜相关酶的功能缺陷引起多系统功能障碍。自 1962 年 Menkes 等^[1]首次报道以来, 至今全球已报道了近 400 例病例。据文献报道欧洲 Menkes 病发病率约为 1/300000, 日本约为 1/360000^[2], 我国关于 Menkes 病的研究较少^[3-5], 缺乏流行病学研究资料。Menkes 病的主要临床表现为神经系统损害、结缔组织异常、结节性脆发。男性患者通常在生后数月发病, 多于早期儿童期死亡。Menkes 病的诊断主要依据典型的临床表现, 特别是毛发改变, 血清铜和血浆铜蓝蛋白检测是关键的生化诊断线索。X 片、头颅 MRI、动脉造影亦有助于鉴别诊断。ATP7A 基因检测是确诊 Menkes 病的关键技术^[6], 迄今国内外已发现约 300 种突变^[7]。皮下注射组氨酸铜是最有效的治疗, 可显著改善患者预后^[8], 但是, 由于缺乏合法的药物来源, 患者难以获得治疗。本文就 2012 年 4 月至 2013 年 1 月我院诊断的 3 例 Menkes 病患儿的临床经过、生化表现和基因突变进行研究, 探讨 Menkes 病的临床特点、诊断与产前诊断方法, 提高认识。

1 资料与方法

1.1 研究对象

3 例患儿均为男婴, 2012 年 4 月至 2013 年 1 月于我院儿科就诊, 于 8~9 个月龄获得诊断。3 例患儿分别于生后 2、4、5 个月时起病, 主要表现为抽搐和智力运动落后。患儿父母均为非近亲结婚, 身体健康。仅 1 例患儿 (例 1) 有异常家族史, 其母亲第 1 胎妊娠 4 个月时发现胎儿脊柱裂, 引产。

1.2 方法

对 3 例患儿进行了详细临床调查、一般化验、血清铜蓝蛋白检测、脑电图、脑磁共振扫描。

ATP7A 基因检测: 在患儿家属知情同意的前提下, 采集患儿及其父母 EDTA 抗凝血各 3~5 mL 进行基因分析。基因扩增: 使用 BloodGen Midi Kit (CW BIO, China) 提取患儿及父母全基因组 DNA。根据人类基因组数据库中获得的 ATP7A 基因序列, 应用引物设计软件 Primer3, 总共设计了

14 对引物, 覆盖了该基因 23 个编码外显子 (表 1)。引物由上海英俊生物技术公司合成。根据 ATP7A 基因序列设计引物, 采用 PCR 方法进行扩增。PCR 反应条件为: 95℃预变性 5 min; 95℃变性 30 s, 55℃退火 30 s, 72℃链延伸 1 min, 扩增 30 个循环; 最后 72℃补充延伸 10 min。PCR 的体系均为 50 μL。基因序列分析: ATP7A 基因各外显子的 PCR 扩增产物, 用 ABI 3730XL 测序仪测序, 测序引物采用原 PCR 引物。基因序列分析采用 DNASTAR 软件进行序列分析和比对。

例 1 患儿母亲再孕, 于妊娠中期来院就诊, 要求进行胎儿诊断, 于孕 20 周时在 B 超引导下完成羊膜腔穿刺, 抽取羊水 20 mL, 常规离心后分取羊水细胞, 使用 BloodGen Midi Kit (CW BIO, China) 提取胎儿羊水脱落细胞 DNA, 进行 ATP7A 基因检测。

表 1 ATP7A 基因分析引物序列

引物名称	碱基序列	扩增产物大小 (bp)
ATP7A-1-F	GGACCTTGTTGGCTGTTGTAA	624
ATP7A-1-R	AGTGTGTCTGCTTCTATCTCATTG	
ATP7A-2-F	CTCTTCTTGAATGTGCTGTGATGA	1944
ATP7A-2-R	CTGGCTACCTCCATAGGACATAT	
ATP7A-3-F	ATGCTAACGGATAGTAGGAACCTTG	507
ATP7A-3-R	AACACTAAGGCTTCCAGGACAT	
ATP7A-4-F	GCCAAGTATTATGAAGCAAGGTGA	656
ATP7A-4-R	CCATGCTTGAAGAGTACCATTAGA	
ATP7A-5-F	GCTCCTCACGCAGTCATTCT	1164
ATP7A-5-R	GTGGTTCTAAGTGTGTTGCTCCT	
ATP7A-6-F	AATCAAGAGCAGGAAGCACAT	2429
ATP7A-6-R	ATAGCAAGGAATATGGGTGAA	
ATP7A-7-F	TCTCTGTTTCATGCTACAAGTTG	2402
ATP7A-7-R	CCTTCTCCTCCACCATGATTAC	
ATP7A-8-F	GCCAACAAGAGCTACCATACAG	1178
ATP7A-8-R	ATCACTCTCCCACTCCAAACC	
ATP7A-9-F	GGAGCACTTATATTCACTCCATAG	694
ATP7A-9-R	GCTAGGATAGGAGTCCAGGTT	
ATP7A-10-F	GGAGAGCTGTTGTGTATAACTAAG	665
ATP7A-10-R	CTGAAGTATCTGAATTGCTCCTACC	
ATP7A-11-F	ATCCACTGTCAAGTAGGCAATATG	570
ATP7A-11-R	TCAGCTAAGGCTAGACCTCATC	
ATP7A-12-F	TCACTGTTGGAGGCTATGTTCTA	2162
ATP7A-12-R	CTTGAAGGAACCAGATAGGACTAC	
ATP7A-13-F	TCTCCACATCCTTGCTATCACTA	1131
ATP7A-13-R	ACATTACCTCTCACCATACCAGTA	
ATP7A-14-F	CCACCAAGAGGATAAATGCTGAA	1470
ATP7A-14-R	CACTGCTCTACCTTATCTGTTGTT	

注: 退火温度均为 55℃。

2 结果

2.1 临床特点

3例患儿以顽固性惊厥为主要临床表现,分别于2个月、4个月和5个月出现抽搐,抗癫痫药物(妥泰、德巴金、曲莱等)治疗数月无效,伴智力运动倒退,喂养困难。3例患儿均以原因不明“癫痫”就诊,例3曾因血清碱性磷酸酶升高(559.3 IU/L,正常对照40~150 IU/L)及25-羟维生素D降低(29.2 nmol/L,正常对照47.7~144 nmol/L)被疑诊为“佝偻病”,注射维生素D₃后2个月未出现抽搐,7个半月时病情反复,频繁“屏气”样发作。来院时3例患儿均表现为严重智力运动障碍,不能竖头,不认人,肤色白,双颊肥胖,头发稀黄、卷曲、短、干燥易断,四肢肌张力低下,小头畸形,例1前额颅缝重叠,例2严重漏斗胸。3例患儿的临床特点见表2。

2.2 实验室检查

3例患儿血液常规化验显示轻度贫血,尿常规检查未见异常。例2轻度肝损害,谷草转氨酶

41 IU/L(参考值0~40 IU/L),谷丙转氨酶48 IU/L(参考值0~45 IU/L)。3例患儿血浆铜蓝蛋白均显著降低,分别为70.2、73.5、81.0 mg/L,见表2。患儿父母血浆铜蓝蛋白检测均正常。

2.3 影像学检查

3例患儿脑磁共振扫描显示不同程度的弥漫性脑损害。例1示双侧额叶、颞叶萎缩。例2显示双侧额、顶、颞区白质异常信号,大脑及小脑萎缩,脑内血管迂曲。例3双侧苍白球对称异常信号,小脑萎缩,脑内血管迂曲(图1)。

2.4 ATP7A 基因突变分析

3例患儿均存在ATP7A基因突变。例1和例2均为c.3914A>G(p.D1305G)突变,为已报道突变^[9]。例3为c.3265G>T(p.G1089X)突变,为未见报道的新突变。对于c.3265G>T,我们通过千人基因组计划(www.1000genomes.org)排除多态性,并且应用BLAST对比了p.G1089在不同物种中的保守性,发现该位点在哺乳动物中高度保守。见表2、图2。

表2 3例患儿的临床特点和主要辅助检查结果

项目	病例1	病例2	病例3
性别	男	男	男
发病年龄(月)	2	4	5
诊断年龄(月)	9	8	8
头围(cm)	40	40	43
临床表现	抽搐,智力运动落后	抽搐,智力运动倒退	抽搐,智力运动倒退
神经系统检查	四肢肌张力降低	四肢肌张力降低	四肢肌张力降低
脑磁共振扫描	双侧额叶、颞叶萎缩	大脑白质异常信号;脑萎缩;脑内血管迂曲	基底节损害;小脑萎缩;脑内血管迂曲
血浆铜蓝蛋白(mg/L)	70.2	73.5	81.0
ATP7A 基因突变	c.3914A>G (p.D1305G)	c.3914A>G (p.D1305G)	c.3265G>T (p.G1089X)

注:血浆铜蓝蛋白参考值为210~530 mg/L。

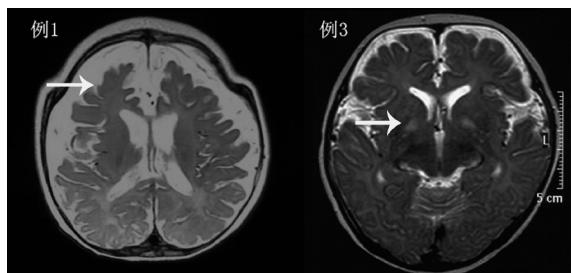


图1 患儿脑磁共振成像异常表现 例1患儿磁共振T2相示双侧额叶、颞叶体积缩小,脑周间隙增宽(箭头示额叶萎缩)。例3患儿磁共振T2相示双侧苍白球片状对称性长T2信号(箭头所示)。

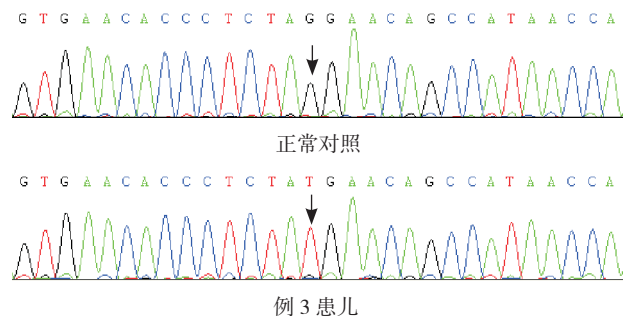


图2 ATP7A 基因测序图 例3患儿 c.3265G>T (p.G1089X) 突变。箭头所指为 c.3265 位点。

3例患儿父母ATP7A基因检测均未检出突变,证实3例患儿均为新生突变。

2.5 治疗与随访

3例患儿均符合经典型Menkes病诊断:婴儿期起病,表现为顽固性癫痫、智力运动障碍、特殊面容及毛发异常,血浆铜蓝蛋白明显减低,ATP7A基因突变分析结果进一步明确了病因。由于目前国内无合法的注射用组氨酸铜制剂,3例患儿均未能进行组氨酸铜注射治疗,仅以抗癫痫治疗等对症干预为主,辅以家庭管理。

随访结果:分别进行了电话随访。例1现在2岁3个月,仍不能竖头,顽固性癫痫,每5 min抽搐发作一次,持续数秒后自动缓解,兴奋时发作次数增加。例2于1岁时发热,频繁抽搐,间断高热10 d后死亡。例3现在1岁6个月,抽搐次数减少,但智力运动发育停滞,消瘦。

2.6 产前诊断

例1母亲羊水细胞染色体分析证实胎儿为男婴,核型46,XY,ATP7A基因测序分析未检出c.3914A>G突变,提示胎儿未患与例1相同的Menkes病。母亲于妊娠39周时羊膜早破,胎儿经剖宫产出生,出生后1 min、5 min和10 min Apgar评分均为10分,血清铜蓝蛋白正常,母乳喂养,智力运动及体格发育正常,与产前诊断结果相符。

3 讨论

Menkes病又称卷发综合征,是ATP7A酶缺陷导致的铜代谢障碍疾病。ATP7A酶在人体内分布广泛,介导铜离子的主动跨膜转运^[10]。ATP7A酶参与结合铜离子和水解ATP,通过8个疏水跨膜结构域组成铜离子转运通道,将结合的铜离子转运至细胞质^[11]。ATP7A基因突变导致ATP7A酶缺陷,肠黏膜对铜吸收障碍,同时细胞中的铜不能转运至细胞间液及血液,血中铜蓝蛋白和血铜水平降低。线粒体细胞色素C氧化酶、超氧化物歧化酶、酪氨酸酶、赖氨酰氧化酶、多巴胺-β-羟化酶等铜相关性酶活性下降导致患者出现多系统功能障碍,影响细胞呼吸、神经递质生物合成、自由基清除、胶原合成、角蛋白合成和黑色素合成^[12]。

根据患者的临床表现,Menkes病分为经典型、轻型和枕骨角综合征。经典型Menkes病患者的临

床表现通常较重,患者多于3岁内死亡。新生儿期患者可出现黄疸、低体温、低血糖、喂养困难、漏斗胸、腹股沟疝等。1~2个月时开始出现特征性的头发改变,发短、稀疏、粗糙、扭曲,面颊肥胖、皮肤苍白。2~3个月时可发生顽固性癫痫,随后出现智力运动落后或倒退,骨骼异常。头颅磁共振扫描常发现大脑及小脑萎缩、髓鞘化落后、脑白质病、基底节损害等。动脉造影可观察到患者颅内及颈部血管迂曲^[13]。经典型患者病程呈进展性,常在3岁内因感染、血管并发症或神经系统功能退化死亡。轻型患者主要表现为轻、中度的智力运动落后,伴有毛发、皮肤改变,动脉造影可见血管迂曲。枕骨角综合征患者头部侧位X片见枕骨外生骨疣,患者智力运动可正常或轻度落后,多在成年后被发现^[14]。本文3例患儿均在婴儿期发病,主要临床表现为顽固性癫痫和智力运动落后、倒退,同时伴有毛发、皮肤的特征性改变,均属于经典型Menkes病。例1和例2伴有骨骼改变(颅缝重叠和漏斗胸)。3例患儿的脑磁共振成像显著异常,显示脑萎缩、脑白质病和基底节损害,其中两例患儿动脉造影显示脑血管迂曲,符合Menkes病脑磁共振成像表现^[15]。

ATP7A基因是目前已知的唯一与Menkes病相关的基因,该基因位于Xq21.1,含23个外显子^[16]。迄今已报道约300种不同类型的ATP7A突变,包括碱基置换(54%)、缺失(29%)、重复(8%)、插入(2%)和倒位(0.1%)等。本研究3例患儿ATP7A基因均检测到致病突变,例1和2为c.3914A>G(p.D1305G),例3为c.3265G>T(p.G1089X)。2011年Gourdon等^[9]首次报道了c.3914A>G(p.D1305G)。p.D1305位于外显子20,在不同物种中高度保守,与ATP7A蛋白的磷酸化结构域有关,该位点突变可能导致ATP7A蛋白活化受限,影响铜离子跨膜转运,导致疾病。迄今我国尚未报道过该突变,本研究为首次报告,例1、例2分别来自广东和河南省,无血缘关系,父母均为非近亲结婚,推测c.3914A>G(p.D1305G)可能为中国Menkes病患者较常见的突变。c.3265G>T(p.G1089X)为国内外未报道的新突变。c.3265G>T(p.G1089X)突变造成编码肽链在1089位提前终止,比正常肽链少了412个氨基酸。G1089位于外显子16,这一区域主要负责

编码 ATP7A 蛋白的核苷酸结合部位^[7], 突变可能影响 ATP7A 蛋白与三磷酸腺苷的结合。由于后面 412 个氨基酸序列参与形成 ATP7A 酶的磷酸化结构域和疏水跨膜结构域 7、8, 缺陷可能导致这些重要结构域功能丧失, 从而影响酶活性, 导致疾病。3 例患儿血浆铜蓝蛋白均明显降低, 结合典型的临床表现, 提示 3 例患儿的 ATP7A 基因突变均导致 ATP7A 酶活性明显降低, 为该病的致病突变。

经典型 Menkes 病病程为进展性, 预后较差, 患儿多于早期儿童期死亡。该病的治疗主要依赖铜剂补充和对症治疗、护理。由于 Menkes 病患者肠道铜吸收障碍, 口服铜剂无效。国外经验证实组氨酸铜皮下注射是控制 Menkes 病的有效办法, 欧美、日本一些早期治疗的患者获得了良好的发育^[8]。目前国内尚无注射用组氨酸铜制剂, 主要治疗仍以对症治疗及家庭护理为主。本文 3 例患儿预后不良, 1 例患儿在 1 岁时死亡, 其他两例患儿无明显进步, 例 1 抽搐频率增加。

对于有 Menkes 病史的家族, 产前诊断是减少疾病再发的关键措施。1994 年 Tümer 等^[17]通过基因诊断, 首次成功地进行了 Menkes 病产前诊断。Menkes 病产前诊断的方法主要有以下三种: 基因分析、检测羊水细胞对 ⁶⁴Cu 的摄取量以及检测绒毛细胞的铜离子浓度^[18-20]。由于检测方法的限制以及生化检测的不稳定性, 基因分析技术更为普遍、可靠。在先证者基因突变明确的情况下, 对羊水细胞进行 ATP7A 基因分析可明确胎儿是否为 Menkes 病患者。本研究中例 1 母亲之胎儿为男性, 羊水细胞 ATP7A 基因分析未见异常, 胎儿出生后发育正常, 验证了产前诊断结果。

本研究总结和分析了 3 例经典型 Menkes 病患儿的临床表现和实验室诊断, 发现了一种 ATP7A 基因新突变 c.3265G>T (p.G1089X), 首次从中国患者检出了 c.3914A>G (p.D1305G), 进一步丰富了我国 Menkes 病的基因突变谱, 并帮助一个家系进行了胎儿的产前诊断, 为我国大陆地区首例 Menkes 病产前诊断经验。

[参 考 文 献]

[1] Menkes JH, Alter M, Steigleder GK, et al. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal

- cerebral and cerebellar degeneration[J]. *Pediatrics*, 1962, 29 (5): 764-779.
- [2] Gu YH, Kodama H, Shiga K, et al. A survey of Japanese patients with Menkes disease from 1990 to 2003: incidence and early signs before typical symptomatic onset, pointing the way to earlier diagnosis[J]. *J Inher Metab Dis*, 2005, 28 (4): 473-478.
- [3] 王晓慧, 吕俊兰, 张礼萍, 等. Menkes 病三例临床及实验室特点 [J]. *中华儿科杂志*, 2009, 47 (8): 604-606.
- [4] 赵程峰, 王静敏, 王菊莉, 等. Menkes 病患儿 ATP7A 基因突变及 X 染色体失活分析 [J]. *中国伤残医学*, 2013, 21 (5): 37-41.
- [5] 麻宏伟, 陈丽英, 张海娟, 等. Menkes 病一家系二例 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2001, 18 (4): 258.
- [6] Kaler SG. Diagnosis and therapy of Menkes syndrome, a genetic form of copper deficiency[J]. *Am J Clin Nutr*, 1998, 67 (5): 1029-1034.
- [7] Tümer Z. An Overview and update of ATP7A mutations leading to menkes disease and occipital horn syndrome[J]. *Hum Mutat*, 2013, 34 (3): 417-429.
- [8] Christodoulou J, Danks DM, Sarkar B, et al. Early treatment of Menkes disease with parenteral copper-histidine: long-term follow-up of four treated patients[J]. *Am J Med Genet*, 1998, 76 (2): 154-164.
- [9] Gourdon P, Liu XY, Skjorringe T, et al. Crystal structure of a copper-transporting PIB-type ATPase[J]. *Nature*, 2011, 475 (7354): 59-64.
- [10] Lutsenko S, LeShane ES, Shinde U. Biochemical basis of regulation of human coppertransporting ATPases[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 463(2): 134-148.
- [11] Palmgren MG, Nissen P. P-type ATPases[J]. *Annu Rev Biophys*, 2011, 40: 243-266.
- [12] Horn N, Tümer Z. Menkes disease and the occipital horn syndrome[M]// Royce PM, Steinmann B. *Connective Tissue and its Heritable Disorders: Molecular, Genetic, and Medical Aspects*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons Inc, 2002: 651-685.
- [13] 黄琼辉, 王静敏, 吴晔, 等. Menkes 病临床及 ATP7A 基因突变和拷贝数改变分析 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27 (8): 570-573.
- [14] 邓艳华, 王静敏, 牛争平, 等. Menkes 病患儿 ATP7A 基因突变分析 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2007, 22 (24): 1877-1879.
- [15] 程晓悦, 肖江喜, 袁新宇, 等. Menkes 病的 MR 影像表现 [J]. *中华放射学杂志*, 2013, 47 (7): 599-602.
- [16] Tümer Z, Vural B, Tunnesen T, et al. Characterization of the exon structure of the Menkes disease gene using vectorette PCR[J]. *Genomics*, 1995, 26 (3): 437-442.
- [17] Tümer Z, Tunnesen T, Bohmann J, et al. First trimester prenatal diagnosis of Menkes disease by DNA analysis[J]. *J Med Genet*, 1994, 31 (8): 615-617.
- [18] Horn N. Menkes' X-linked disease: prenatal diagnosis and carrier detection[J]. *J Inher Metab Dis*, 1983, 6(1): 59-62.
- [19] Heydorn K, Damsgaard E, Horn N. Accumulated experience with prenatal diagnosis of Menkes disease by neutron activation analysis of chorionic villi specimens[J]. *Biol Trace Elem Res*, 1999, 71-72: 551-561.
- [20] Das S, Whitney S, Taylor J, et al. Prenatal diagnosis of Menkes disease by mutation analysis[J]. *J Inher Metab Dis*, 1995, 18 (3): 364-365.

(本文编辑: 邓芳明)