

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.12.004

论著 · 临床研究

15 851 例遗传代谢病高危患儿的临床分析

林书祥^{1,2} 舒剑波^{1,2} 王朝^{1,2} 潘蕊^{1,2} 孟英韬^{1,2} 张春花³ 张碧丽² 王丹² 张玉琴²

(1. 天津市儿科研究所, 天津 300074; 2. 天津市儿童医院, 天津 300074;
3. MILS International, Kanazawa, Ishikawa 912-8105, Japan)

[摘要] **目的** 探讨尿气相色谱-质谱法在遗传代谢病(IMD)高危患儿筛查中的应用价值,以及确诊 IMD 的疾病谱和确诊 IMD 患儿的临床特点,为临床诊断和治疗提供参考。**方法** 回顾性分析 2012 年 2 月至 2016 年 12 月在天津市儿童医院就诊的 15 851 例 IMD 高危患儿且接受了尿气相色谱-质谱法检测的患儿的临床资料。**结果** 15 851 例 IMD 高危患儿中,检出代谢异常 5 793 例,占 36.55%。确诊为 IMD 117 例(0.74%),其中甲基丙二酸血症 77 例(65.8%)。新生儿期 IMD 确诊患儿的临床表现主要为黄疸、代谢性酸中毒、肌张力异常、喂养困难、反应差、嗜睡或昏迷等,非新生儿期 IMD 确诊患儿的临床表现主要为精神运动发育落后、代谢性酸中毒、抽搐、反复呕吐、贫血等。**结论** 气相色谱-质谱法是对 IMD 高危患儿筛查的有效方法;甲基丙二酸血症是最常见的 IMD;新生儿期和非新生儿期 IMD 确诊患儿的临床表现有不同。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(12): 1243-1247]

[关键词] 气相色谱-质谱法;遗传代谢病;儿童

Clinical analysis of 15 851 children at risk of inherited metabolic diseases

LIN Shu-Xiang, SHU Jian-Bo, WANG Chao, PAN Rui, MENG Ying-Tao, ZHANG Chun-Hua, ZHANG Bi-Li, WANG Dan, ZHANG Yu-Qin. Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China (Zhang Y-Q, Email: zhangyuqin0809@sina.com)

Abstract: Objective To explore the value of urine gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in the screening of children at risk of inherited metabolic diseases (IMD), and to identify the disease spectrum of IMD and the clinical characteristics of children with IMD. **Methods** The clinical data of 15 851 children at risk of IMD who underwent urine GC-MS in the Tianjin Children's Hospital between February 2012 and December 2016 were retrospectively analyzed. **Results** In the 15 851 children, 5 793 (36.55%) were detected to have metabolic disorders. A total of 117 (0.74%) children were confirmed to have IMD, including 77 cases of methylmalonic acidemia (65.8%). The clinical manifestations of confirmed cases in the neonatal period mainly included jaundice, metabolic acidosis, abnormal muscular tension, feeding difficulty, poor response, and lethargy or coma. The clinical manifestations of confirmed cases in the non-neonatal period mainly included delayed mental and motor development, metabolic acidosis, convulsion, recurrent vomiting, and anemia. **Conclusions** GC-MS is an effective method for the screening for IMD in children at risk. Methylmalonic acidemia is the most common IMD. The clinical manifestations of IMD are different between the confirmed cases in the neonatal and non-neonatal periods. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(12): 1243-1247]

Key words: Gas chromatography-mass spectrometry; Inherited metabolic disease; Child

[收稿日期] 2017-08-18; [接受日期] 2017-10-26

[基金项目] 天津市卫生与计划生育委员会科技基金(2013KY11);天津市自然科学基金青年项目(16JCQNJC11900)。

[作者简介] 林书祥,男,本科,副主任技师。

[通信作者] 张玉琴,女,主任医师。

遗传代谢病 (inherited metabolic disease, IMD) 又称为先天性代谢缺陷 (inborn errors of metabolism), 是由于生化代谢途径中的酶、辅酶或运载蛋白缺陷或异常, 导致底物堆积或产物缺乏, 从而引起相应临床症状的一组疾病。目前已报道超过 500 种 IMD, 尽管每一种都比较罕见, 但总体发病率并不低, 大约 1/2500^[1]。天津市儿童医院于 2012 年起采用气相色谱-质谱法 (GC/MS) 对临床 IMD 高危患儿进行检测, 至 2016 年 12 月共检测了 15851 例患儿。本研究对其临床资料进行回顾性分析, 探讨 GC/MS 在 IMD 高危患儿筛查中的应用价值, 以及确诊 IMD 的疾病谱和确诊 IMD 患儿的临床特点, 为 IMD 的临床诊断和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

纳入 2012 年 2 月至 2016 年 12 月在天津市儿童医院就诊的 IMD 高危患儿共 15851 例, 其中男 9494 例, 女 6357 例, 年龄为 1 d 至 16 岁。纳入标准:

(1) 具有 IMD 可能高危因素的早产儿或巨大儿;
(2) 患儿有多发畸形、先天性心脏病等出生缺陷;
(3) 不明原因的反复呕吐、喂养困难、黄疸、抽搐、肝脾肿大、精神运动发育迟缓、肌张力异常、皮炎等;
(4) 难以解释的高氨血症、代谢性酸中毒、低血糖、贫血等;
(5) 母亲有不良妊娠/生育史者。患儿均接受了尿 GC/MS 检测, 样本采集及检测经过天津市儿童医院伦理委员会批准和家长知情同意。

1.2 标本采集

收集患儿新鲜尿液标本 3 mL, 晨尿或随机尿均可, 尿液标本于 -20℃ 冷冻保存。

1.3 检测方法

对样品进行尿素酶预处理, 除去尿素及蛋白质, 加入内标, 用三甲基硅烷基与三甲基氯硅烷混合进行甲基硅烷化衍生后, 利用气相-色谱质谱仪检测^[2-3]。色谱条件: 分流进样, 进样量 1 μ L, 进样口温度 260℃, 离子源温度 260℃, 接口温度 280℃。程序升温起始温度 60℃, 保持 1 min, 以 17℃/min 升至 220℃, 以 15℃/min 升至 325℃, 保持 5 min。载气为氦气, 流量控制方式为线速度, 压力 100 kPa, 分流比为 20%。质谱条件: 电离方

式 EI; 电子能量 70 eV; 质谱扫描范围: 50~750 m/z; 扫描方式为全扫描。

1.4 IMD 的诊断

IMD 的诊断主要依据 GC/MS 检测结果, 结合临床表现及常规实验室检查结果综合判断, 部分患儿通过反复检测及基因分析结果确诊, 诊断标准参照文献^[4]。

1.5 统计学分析

应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计数资料以百分比或万分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IMD 确诊患儿的一般资料

15851 例患儿中, 发现代谢异常 5793 例, 占 36.55%, 其中确诊为 IMD 117 例, 确诊率为 0.74%。117 例确诊患儿中, 男性 78 例, 女性 39 例; 新生儿期 (<28 d) 29 例, 婴幼儿期 (28 d 至不满 3 岁) 69 例, 学龄前期 (3 岁至不满 7 岁) 13 例, 学龄期 (7 岁至不满 13 岁) 6 例。

2.2 IMD 疾病谱

本研究共检出 15 种 IMD, 其中甲基丙二酸血症 77 例, 占确诊患儿的 65.8%, 其次为高苯丙氨酸血症、 β -酮酰丙酸酶缺陷症、琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症及戊二酸血症 I 型。占比最高的前 5 种疾病合计占 86.2%, 见表 1。其中 3 例甲基丙二酸血症患儿通过反复检测确诊, 6 例 β -酮酰丙酸酶缺陷症及 1 例 2-甲基-3-羟基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺陷症患儿通过基因分析确诊。

在新生儿期共检出 6 种 IMD, 占比前 3 位的依次是甲基丙二酸血症、高苯丙氨酸血症及枫糖尿症, 占新生儿期确诊患儿的 89.5%, 见表 2。在非新生儿期共检出 15 种 IMD, 占比前 3 位的依次是甲基丙二酸血症、琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症及 β -酮酰丙酸酶缺陷症, 占非新生儿期确诊患儿的 76.1%, 见表 3。

2.3 IMD 确诊患儿的临床特点

新生儿期 IMD 确诊患儿的临床表现主要为黄疸、代谢性酸中毒、肌张力异常、喂养困难、反应差、嗜睡或昏迷等, 见表 4; 非新生儿期 IMD 确诊患儿的临床表现主要为精神运动发育落后、代谢性

酸中毒、抽搐、反复呕吐、贫血等，见表 5。

表 1 IMD 确诊患儿的疾病谱

疾病	例数	占确诊患儿百分比	检出率 (万分率)
甲基丙二酸血症	77	65.8	48.6
高苯丙氨酸血症	8	6.8	5.0
β- 脲酰丙酸酶缺陷症	6	5.1	3.8
琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症	6	5.1	3.8
戊二酸血症 I 型	4	3.4	2.5
枫糖尿症	3	2.6	1.9
尿素循环障碍	3	2.6	1.9
丙酸血症	2	1.7	1.3
尿黑酸尿症	2	1.7	1.3
高肌氨酸血症	1	0.9	0.6
戊二酸血症 II 型	1	0.9	0.6
多种羧化酶缺乏症	1	0.9	0.6
异戊酸血症	1	0.9	0.6
3 甲基戊二烯酸尿症	1	0.9	0.6
2 甲基 3 羟基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺陷症	1	0.9	0.6
合计	117	100	73.8

注：共检测患儿 15851 例，确诊 IMD 患儿 117 例。

表 2 新生儿期 IMD 疾病谱

疾病	例数	占新生儿期 IMD 患儿百分比	检出率 (万分率)
甲基丙二酸血症	21	72.4	13.2
高苯丙氨酸血症	3	10.3	1.9
枫糖尿症	2	6.8	1.3
β- 脲酰丙酸酶缺陷症	1	3.4	0.6
尿素循环障碍	1	3.4	0.6
丙酸血症	1	3.4	0.6
合计	29	100	18.3

注：共检测患儿 15851 例，新生儿期 IMD 确诊患儿 29 例。

表 3 非新生儿期 IMD 疾病谱

疾病	例数	占非新生儿期 IMD 患儿百分比	检出率 (万分率)
甲基丙二酸血症	56	63.6	35.3
琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症	6	6.8	3.8
β- 脲酰丙酸酶缺陷症	5	5.7	3.2
高苯丙氨酸血症	5	5.7	3.2
戊二酸血症 I 型	4	4.5	2.5
尿素循环障碍	2	2.3	1.3
尿黑酸尿症	2	2.3	1.3
枫糖尿症	1	1.1	0.6
丙酸血症	1	1.1	0.6
高肌氨酸血症	1	1.1	0.6
戊二酸血症 II 型	1	1.1	0.6
多种羧化酶缺乏症	1	1.1	0.6
异戊酸血症	1	1.1	0.6
3 甲基戊二烯酸尿症	1	1.1	0.6
2 甲基 3 羟基丁酰辅酶 A 脱氢酶缺陷症	1	1.1	0.6
合计	88	100	55.4

注：共检测患儿 15851 例，非新生儿期 IMD 确诊患儿 88 例。

表 4 29 例新生儿期确诊 IMD 患儿的临床表现

临床表现	例数	百分比
黄疸	16	55
代谢性酸中毒	12	41
肌张力异常	9	31
喂养困难	9	31
反应差、嗜睡或昏迷	7	24
先天性心脏病	5	17
呼吸异常	4	14
抽搐	3	10
反复呕吐	3	10
贫血	2	7
低血糖	2	7
中性粒细胞减少	2	7

表 5 88 例非新生儿期确诊 IMD 患儿的临床表现

临床表现	例数	百分比
精神运动发育落后	32	36
代谢性酸中毒	16	18
抽搐	14	16
反复呕吐	13	15
贫血	13	15
反应差、嗜睡或昏迷	8	9
中性粒细胞减少	7	8
肌张力异常	7	8
呼吸异常	6	7
浮肿、蛋白尿	2	2
脑积水	2	2
黄疸	2	2
先天性心脏病	1	1
喂养困难	1	1
低血糖	1	1

2.4 其他代谢异常种类

本研究检出的 5793 例代谢异常患儿中,除了 117 例 IMD 确诊患儿,还包括其他原因引起的代谢异常 5676 例 (35.80%), 其中酮尿 1929 例 (33.98%), 酮性双羧酸尿 680 例 (11.98%), 甲基丙二酸略高 623 例 (10.97%), 乳酸尿症 320 例 (5.64%), 乳糖增高 284 例 (5.00%), 丝氨酸苏氨酸比例颠倒和比例减小 275 例 (4.84%), 半乳糖增高 262 例 (4.62%), 果糖增高 201 例 (3.54%), 3- 羟基丙酸增高 200 例 (3.52%), 戊二酸增高 181 例 (3.19%), 氨基酸尿 168 例 (2.96%), 琥珀酸增高 133 例 (2.34%), 非酮性双羧酸尿 120 例 (2.11%), 4- 羟基苯乳酸增高 117 例 (2.06%), 扁桃酸增高 106 例 (1.87%), 4- 羟基苯丙酮酸增高 72 例 (1.27%), 2- 羟基异戊酸增高 65 例 (1.15%), N- 乙酰酪氨酸增高 55 例 (0.97%), 高香草酸增高 25 例 (0.44%), 3- 羟基异戊酸增高 17 例 (0.30%), 尿嘧啶增高 13 例 (0.23%), 甘油酸增高 12 例 (0.21%), 乙基丙二酸增高 6 例 (0.11%), 乳清酸增高 5 例 (0.08%), 2- 羟基异己酸增高 4 例 (0.07%), 肌醇增高 4 例 (0.07%), 肌氨酸增高 3 例 (0.05%)。

3 讨论

IMD 临床表现多样,且缺乏特异性,常规实验室检测手段难以诊断。IMD 发病年龄越早,病情越重,病死率越高,是不明原因高危患儿死亡的重要原因之一。IMD 若在出生后 3 个月内得不到及时诊断、干预和治疗,20% 以上患儿可出现多器官和神经系统损害,若在出生 6 个月后才进行治疗,40% 以上患儿可出现智力发育障碍^[5]。自 1966 年 Tanaka 成功应用 GC/MS 诊断了首例异戊酸血症,GC/MS 在国外 IMD 的筛查与诊断中已广泛应用,特别是在北美、欧洲、日本等发达国家和地区,而国内近些年也做了大量的工作^[5-10],使许多患者得到了早期诊断、干预和治疗,大多患者病情得到缓解。

本研究共检测 IMD 高危患儿 15851 例,发现代谢紊乱患儿 5793 例,占 36.55%,确诊 IMD 117 例,确诊率为 0.74%。该确诊率低于既往研究 (2.10%~9.66%)^[5-6,8-9]。可能的原因是,随着临床医生对 IMD 的重视,扩大了高危患者的筛查数量,且由于未做串联质谱 (tandem mass spectrometry, MS/MS) 检测,未见异常的 10058 例患儿中不能排除像氨基酸代谢缺陷、脂肪酸代谢异常等 IMD。

本研究共检出 15 种 IMD,其中甲基丙二酸血症 77 例,占确诊患儿的 65.8%,其次为高苯丙氨酸血症、 β - 脲酰丙酸酶缺陷症、琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症及戊二酸血症 I 型。无论是新生儿期还是非新生儿期,甲基丙二酸血症都是本组病例中最常见的 IMD。本组病例 IMD 疾病谱与其他地区报道的不同^[5-9,11-14],特别是检出了 β - 脲酰丙酸酶缺陷症及琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症患儿各 6 例。可能的原因为: (1) IMD 疾病谱存在地区差异; (2) 相对于遗传代谢病的发病率,上述各研究的样本数量可能过少,可能存在选择偏倚; (3) 有的研究可能未将 β - 脲酰丙酸酶缺陷症及琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症这两种疾病的特异性代谢物纳入观察指标。

IMD 的发病年龄跨度很大,从新生儿到成人均可发病,但以新生儿和婴幼儿多见。本研究 117 例 IMD 确诊患儿中,新生儿期确诊 29 例,婴幼儿

期确诊69例,共98例(83.8%),与既往研究相似^[8-9]。本研究中新儿期IMD确诊患儿就诊时的临床表现主要为黄疸、代谢性酸中毒、肌张力异常、喂养困难、反应差、嗜睡或昏迷等,非新生儿期确诊患儿的临床表现主要为精神运动发育落后、代谢性酸中毒、抽搐、反复呕吐、贫血等。提示临床医生,当就诊患儿出现上述难以解释的临床表现时,应考虑IMD的可能,及时留尿送检,可联合MS/MS技术,必要时进行基因检测。本课题组曾报道了我国首例2-甲基-3-羟基丁酰辅酶A脱氢酶缺陷症患儿,由于该病的尿筛查代谢谱缺乏特异性标记物,使得该病极易与另一种先天性异亮氨酸遗传代谢病,即乙酰辅酶A硫解酶缺陷症相混淆,最终通过基因分析确诊该病^[15]。

目前已发现500多种IMD,而GC/MS联合MS/MS技术也仅能检出其中的100多种,因此临床医生需注意,即使IMD筛查结果阴性,也不能完全排除IMD。同时,对于高通量测序在IMD筛查中的应用,需注意当检测结果提示某种IMD,应注意患儿是否存在相应的代谢异常。本研究发现其他原因引起的代谢异常患儿5676例(35.80%),低于郝虎等^[9]报道的55.41%。在其他原因引起的代谢异常中,酮尿最多见,共检出1929例(33.98%)。另外检出甲基丙二酸略高623例(10.97%)。由于近些年发现了一些轻型的或“良性”的甲基丙二酸血症患者^[16-18],因此对于这些甲基丙二酸略高的患者,临床医生需要区分是继发的还是遗传的,需进行进一步追踪观察。

综上所述,本研究资料显示,IMD高危患儿中,代谢异常检出率为36.55%,其中IMD确诊率为0.74%,新生儿期和非新生儿期最常见的IMD均为甲基丙二酸血症,不同时期IMD确诊患儿的临床表现有不同;GC/MS是对IMD高危患儿进行筛查的有效方法。本研究结果可为IMD的临床诊疗及遗传咨询提供参考。

[参 考 文 献]

- [1] Tebani A, Abily-Donval L, Afonso C, et al. Clinical metabolomics: the new metabolic window for inborn errors of metabolism investigations in the post-genomic era[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(7): 1167.
- [2] Kuhara T. Diagnosis of inborn errors of metabolism using filter paper urine, urease treatment, isotope dilution and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 758(1): 3-25.
- [3] Kuhara T. Diagnosis and monitoring of inborn errors of metabolism using urease-pretreatment of urine, isotope dilution, and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2002, 781(1-2): 497-517.
- [4] 张美和,丛玉隆. 检验与临床诊断——儿科学分册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2006: 45-130.
- [5] 彭薇,张万巧,封志纯. 气相色谱-质谱法检测遗传代谢性疾病高危患儿[J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(9): 888-891.
- [6] 罗小平,王慕逖,魏虹,等. 尿滤纸片法气相色谱-质谱分析技术在遗传性代谢病高危筛查诊断中的应用[J]. *中华儿科杂志*, 2003, 41(4): 9-12.
- [7] 孙卫华,杨毅,曹迪,等. 气-质联用技术测定尿有机酸方法的建立及在遗传代谢病诊断中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(10): 1161-1165.
- [8] 韩凤,韩连书,叶军,等. 气相色谱-质谱检测的564例遗传代谢病疾病谱分析[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2013, 29(8): 693-695.
- [9] 郝虎,李思涛,欧阳学军,等. 遗传性代谢病高危婴幼儿4710例尿尿素酶预处理-气相色谱-质谱技术筛查分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(21): 1660-1662.
- [10] 田国力,王燕敏,许洪平,等. 非衍生化串联质谱技术筛查上海部分地区新生儿遗传代谢病的回顾性分析[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(12): 909-912.
- [11] Shu J, Lv X, Jiang S, et al. Genetic analysis of the UPB1 gene in two new Chinese families with β -ureidopropionase deficiency and the carrier frequency of the mutation c.977G>A in Northern China[J]. *Childs Nerv Syst*, 2014, 30(12): 2109-2114.
- [12] 舒剑波,林书祥,孟英韬,等. 一个 β -脲基丙酸酶缺陷症家系UPB1基因突变分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(5): 647-650.
- [13] 舒剑波,蔡凤英,范文轩,等. 一个琥珀酸半醛脱氢酶缺陷症家系ALDH5A1基因的突变检测[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(1): 6-9.
- [14] 娄燕,尹娜,陈凤琴,等. 串联质谱技术选择性筛查遗传代谢病高危患儿552例初步分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(4): 296-299.
- [15] 舒剑波,张玉琴,姜淑贞,等. 2-甲基-3-羟基丁酰辅酶A脱氢酶缺陷症一家系基因突变分析[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(10): 783-786.
- [16] Han L, Wu S, Ye J, et al. Biochemical, molecular and outcome analysis of eight Chinese asymptomatic individuals with methyl malonic acidemia detected through newborn screening[J]. *Am J Med Genet A*, 2015, 167A(10): 2300-2305.
- [17] Shinka T, Inoue Y, Yoshino M, et al. Two cases of benign methylmalonic aciduria detected during a pilot study of neonatal urine screening[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2002, 776(1): 65-70.
- [18] Lin HJ, Neidich JA, Salazar D, et al. Asymptomatic maternal combined homocystinuria and methylmalonic aciduria (cbIC) detected through low carnitine levels on newborn screening[J]. *J Pediatr*, 2009, 155(6): 924-927.

(本文编辑: 邓芳明)