

论著·临床研究

## 胎龄联合出生体重对新生儿遗传代谢病相关代谢物的影响

易芳<sup>1,2</sup> 王玲<sup>2</sup> 王梅<sup>3</sup> 袁雪莲<sup>1</sup> 万华靖<sup>2</sup> 李佳圆<sup>1</sup>

(1. 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610041;  
2. 成都新基因格生物科技有限公司 / 成都新基因格医学检验所, 四川 成都 610041;  
3. 成都市妇女儿童中心医院新筛中心, 四川 成都 610041)

**[摘要]** **目的** 探讨胎龄联合出生体重对遗传代谢病 (IMD) 相关代谢物的影响。**方法** 从2014~2016年间参加IMD筛查的38931名新生儿中, 随机抽取3381例经随访排除IMD疾病的新生儿样本, 按胎龄联合出生体重分为极早产适于胎龄儿组 ( $n=12$ )、早产小于胎龄儿组 ( $n=18$ )、早产适于胎龄儿组 ( $n=219$ )、早产大于胎龄儿组 ( $n=18$ )、足月小于胎龄儿组 ( $n=206$ )、足月适于胎龄儿组 ( $n=2677$ )、足月大于胎龄儿组 ( $n=231$ )。采集各组新生儿出生3~7 d充分哺乳后的足跟血, 采用串联质谱检测干血斑中17种IMD关键代谢指标水平。利用Spearman秩相关分析各影响因素与代谢指标的相关性, 采用协方差分析各组代谢指标水平差异。**结果** 在控制了新生儿生理及病理状态等相关因素后, 与足月适于胎龄儿组相比, 亮氨酸、异亮氨酸、羟基脯氨酸、缬氨酸在极早产适于胎龄儿、早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组, 鸟氨酸在早产适于胎龄儿组, 脯氨酸在极早产、早产适于胎龄儿组中水平明显下降 ( $P<0.05$ ); 苯丙氨酸在极早产、早产适于胎龄儿组, 甲硫氨酸在早产小于胎龄儿组, 酪氨酸在早产适于胎龄儿组中水平则明显升高 ( $P<0.05$ ); 游离肉碱、乙酰肉碱、丙酰肉碱在早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组, 十八碳烯酰肉碱在早产小于胎龄儿组中水平明显升高 ( $P<0.05$ )。大部分肉碱指标在早产和足月的小于胎龄儿分别与适于胎龄儿、大于胎龄儿组间比较中差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。**结论** 胎龄不足和低出生体重均会造成IMD筛查指标异常, 故在判读IMD筛查指标异常时应结合胎龄和体重情况综合判断。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(5): 352-357]

**[关键词]** 遗传代谢病; 代谢物; 胎龄; 出生体重; 新生儿

### Combined effect of gestational age and birth weight on metabolites related to inherited metabolic diseases in neonates

YI Fang, WANG Ling, WANG Mei, YUAN Xue-Lian, WAN Hua-Jing, LI Jia-Yuan. West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Li J-Y, Email: lijia yuan73@163.com)

**Abstract: Objective** To study the combined effect of gestational age and birth weight on metabolites related to inherited metabolic diseases (IMD). **Methods** A total of 3381 samples ruled out of IMD by follow-up were randomly selected from 38931 newborns who participated in the neonatal IMD screening during 2014-2016. The 3381 neonates were categorized into seven groups according to their gestational age and birth weight: extremely preterm appropriate-for-gestational age (AGA) group ( $n=12$ ), preterm small-for-gestational age (SGA) group ( $n=18$ ), preterm AGA group ( $n=219$ ), preterm large-for-gestational age (LGA) group ( $n=18$ ), full-term SGA group ( $n=206$ ), full-term AGA group ( $n=2677$ ), and full-term LGA group ( $n=231$ ). Heel blood samples were collected from each group on postnatal days 3-7 after adequate breastfeeding. Levels of 17 key IMD-related metabolic indices in dried blood spots were measured using tandem mass spectrometry. Spearman's correlation analysis was used to investigate the relationships between 17 IMD-related metabolic indices and their influencing factors, while covariance analysis was used to compare the metabolic indices between these groups. **Results** After adjusting the influencing factors such as physiological and pathological status, compared with the full-term AGA group, the extremely preterm AGA, preterm SGA, and preterm AGA groups

[收稿日期] 2017-12-25; [接受日期] 2018-03-27

[作者简介] 易芳, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 李佳圆, 女, 教授。

had significantly reduced levels of leucine/isoleucine/hydroxyproline and valine ( $P<0.05$ ); the preterm AGA group had a significantly decreased ornithine level ( $P<0.05$ ); the extremely preterm AGA and preterm AGA groups had a significantly reduced proline level ( $P<0.05$ ). Besides, the phenylalanine level in the extremely preterm AGA and preterm AGA groups, the methionine level in the preterm SGA group, and the tyrosine level in the preterm AGA group all significantly increased ( $P<0.05$ ). The increased levels of free carnitine, acetylcarnitine, and propionylcarnitine were found in the preterm SGA and preterm AGA groups. The oleylcarnitine level also significantly increased in the preterm SGA group ( $P<0.05$ ). Most carnitine indices showed significant differences between the SGA group and the AGA/LGA group in both preterm and full-term infants ( $P<0.05$ ). **Conclusions** Low gestational age and low birth weight may result in abnormal results in IMD screening. Therefore, gestational age and birth weight should be considered to comprehensively judge the abnormal results in IMD screening. [Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(5): 352-357]

**Key words:** Inherited metabolic diseases; Metabolite; Gestational age; Birth weight; Neonate

遗传代谢病 (inherited metabolic diseases, IMD) 是一类由基因突变导致酶、受体等缺陷, 而引起代谢产物蓄积或缺乏的疾病<sup>[1]</sup>。目前 IMD 筛查方法是通过串联质谱技术检测干血滤纸片上的氨基酸 (amino acid, AA) 或肉碱 (carnitine, CA) 水平, 根据 AA 或 CA 的异常值情况来初筛新生儿 IMD 高危人群<sup>[2]</sup>。随着筛查谱的扩大以及筛查人群的增加, 该筛查方法的假阳性人数也在不断攀升<sup>[3]</sup>。研究发现, 胎龄、出生体重、婴儿及母亲疾病等因素均会影响 AA 和 CA 水平<sup>[4-5]</sup>, 其中早产或低体重儿器官发育或代谢途径多不成熟, 以致体内多种 AA 与 CA 含量异常于正常新生儿, 从而导致假阳性结果增加<sup>[6]</sup>。目前国内外已有研究关注胎龄以及出生体重对 IMD 代谢指标的影响, 但多数研究仅分别关注两个因素对 AA 和 CA 的影响, 而忽略了胎龄和出生体重的强相关性。本研究拟利用新基因格医学检验所于 2014 年建立的四川省新生儿近 40000 例 IMD 筛查队列 (共覆盖四川省 7 个市, 37 家医院) 分析不同胎龄 + 出生体重组合下 IMD 关键指标水平分布情况, 为制定国内精准 IMD 判读参考范围提供依据, 最终降低 IMD 筛查的假阳性率, 提高筛查效率。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

研究对象来源于 2014~2016 年, 由成都新基因格医学检验所开展 IMD 筛查的四川省 7 个市, 37 家医院出生的 38931 例新生儿, 经初检、复查确定为未患 IMD 的新生儿 38920 例, 排除采血期  $<3$  d 或  $>7$  d 者 832 例, 简单随机抽样法从剩余 38088 例新生儿中抽取 10% 的新生儿进行阴性电话随访, 最终实际随访到 3381 例新生儿。所有受

检者监护人均已签署知情同意书。

### 1.2 分组

根据《实用新生儿学》<sup>[7]</sup> 第 4 版对早产儿、小于胎龄儿、适于胎龄儿、大于胎龄儿的定义, 以《中国不同胎龄新生儿出生体重曲线研制》<sup>[8]</sup> 提供的不同胎龄男女性新生儿出生体重百分位数参考值 (2015) 为标准, 将 3381 例新生儿按照不同胎龄联合出生体重分为 7 个水平组。(1) 极早产适于胎龄儿组: 胎龄  $<32$  周, 出生体重在同胎龄平均体重第 10~90 百分位者, 共 12 例 (0.35%); (2) 早产小于胎龄儿组: 胎龄为  $32\sim36^{+6}$  周, 出生体重低于同胎龄平均体重第 10 百分位者, 共 18 例 (0.53%); (3) 早产适于胎龄儿组: 胎龄为  $32\sim36^{+6}$  周, 出生体重在同胎龄平均体重第 10~90 百分位者, 共 219 例 (6.48%); (4) 早产大于胎龄儿组: 胎龄为  $32\sim36^{+6}$  周, 出生体重高于同胎龄平均体重第 90 百分位者, 共 18 例 (0.53%); (5) 足月小于胎龄儿组: 胎龄  $\geq 37$  周, 出生体重低于同胎龄平均体重第 10 百分位者, 共 206 例 (6.09%); (6) 足月适于胎龄儿组: 胎龄  $\geq 37$  周, 出生体重在同胎龄平均体重第 10~90 百分位者, 共 2677 例 (79.18%); (7) 足月大于胎龄儿组: 胎龄  $\geq 37$  周, 出生体重高于同胎龄平均体重第 90 百分位者, 共 231 例 (6.83%)。

### 1.3 新生儿基本信息

基本人口学信息, 采血同时应用结构化基线信息采集表, 调查胎龄、出生体重、性别、出生日期、采血时出生天数等信息。随机抽取全部阴性检测样本 38088 例的 10% 进行阴性电话随访, 实际随访到 3381 例新生儿, 补充调查其采血前的病理生理信息, 包括采血前的喂养情况, 黄疸、肺炎发生情况等; 以及母亲孕期的疾病信息, 包括妊娠高血压、妊娠糖尿病、妊娠胆汁淤积及胎膜早破等因素。

## 1.4 标本采集及实验室检测

按照《新生儿遗传代谢病筛查血片采集技术规范》<sup>[9]</sup>采集出生3~7 d充分哺乳的新生儿足跟血,滴在S&S903滤纸片上,自然渗透两面,无污染,无重叠,形成直径大于8 mm的全血斑点3个,悬空平置晾干后放入密封袋,保存在2~8℃冰箱中,5个工作日内递送至实验室。根据指标所提示疾病的发病率<sup>[10]</sup>,本研究应用LC-MS/MS系统(Waters,美国)检测IMD相关的11个氨基酸指标和6个肉碱指标。首先,使用打孔器采取质控及待测样本一个血点(直径3.2 mm),置于V型96孔板中;之后,向每孔中移液100 μL内标工作液,密封,45℃恒温振荡萃取45 min;最后,将工作液转移至V型底检测板中,密封,上机检测,利用待测物对内标准品的响应程度与其浓度成正比而定量。

## 1.5 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件对数据进行统计学分析。呈正态分布的计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用协方差分析,控制相关的

混杂因素,估计不同胎龄+出生体重组间各指标的调整测量值的分布范围差异,组间两两比较采用LSD-*t*检验。非正态分布计量资料用中位数(四分位间距) $[P_{50}(P_{25}, P_{75})]$ 表示,多组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验。计数资料用百分率(%)表示,多组间比较采用卡方检验或Fisher确切概率法。非正态分布计量资料和计数资料的双变量相关分析采用Spearman秩相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基本信息描述

本研究将3381例新生儿按照胎龄+出生体重分为7个水平组,检验结果显示新生儿肺炎、母亲妊娠高血压、母亲妊娠糖尿病、母亲妊娠胆汁淤积、胎膜早破、新生儿采血时年龄、胎龄及出生体重在各组间的分布比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。

表1 各组新生儿基本资料及母亲孕期疾病情况分布比较 [例(%)或 $P_{50}(P_{25}, P_{75})$ ]

| 变量          | 极早产适于胎龄儿<br>( <i>n</i> =12) | 早产小于胎龄儿<br>( <i>n</i> =18) | 早产适于胎龄儿<br>( <i>n</i> =219) | 早产大于胎龄儿<br>( <i>n</i> =18) | 足月小于胎龄儿<br>( <i>n</i> =206) | 足月适于胎龄儿<br>( <i>n</i> =2677) | 足月大于胎龄儿<br>( <i>n</i> =231) | $\chi^2(Z)$ 值 | <i>P</i> 值 |
|-------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------|------------|
| 性别          |                             |                            |                             |                            |                             |                              |                             |               |            |
| 男           | 10(83.33)                   | 14(77.78)                  | 133(60.73)                  | 9(50.00)                   | 115(55.83)                  | 1545(57.71)                  | 121(52.38)                  | 10.414        | 0.108      |
| 女           | 2(16.67)                    | 4(22.22)                   | 86(39.27)                   | 9(50.00)                   | 91(44.17)                   | 1132(42.29)                  | 110(47.62)                  |               |            |
| 采血前喂养不充分    | 0(0)                        | 0(0)                       | 1(0.46)                     | 0(0)                       | 2(0.97)                     | 62(2.32)                     | 7(3.03)                     | *             | 0.389      |
| 新生儿黄疸       | 3(25.00)                    | 8(44.44)                   | 99(45.21)                   | 9(50.00)                   | 91(44.17)                   | 1248(46.62)                  | 99(42.86)                   | 3.924         | 0.687      |
| 新生儿肺炎       | 2(16.67)                    | 2(11.11)                   | 7(3.20)                     | 0(0)                       | 5(2.43)                     | 29(1.08)                     | 2(0.87)                     | *             | <0.001     |
| 母亲妊娠高血压     | 0(0)                        | 2(11.11)                   | 3(1.37)                     | 0(0)                       | 2(0.97)                     | 6(0.22)                      | 0(0)                        | *             | 0.001      |
| 母亲妊娠糖尿病     | 0(0)                        | 1(5.56)                    | 0(0)                        | 0(0)                       | 0(0)                        | 3(0.11)                      | 2(0.87)                     | *             | 0.018      |
| 母亲妊娠胆汁淤积    | 0(0)                        | 1(5.56)                    | 5(2.28)                     | 0(0)                       | 0(0)                        | 5(0.19)                      | 0(0)                        | *             | 0.001      |
| 胎膜早破        | 3(25.00)                    | 2(11.11)                   | 25(11.42)                   | 1(5.56)                    | 2(0.97)                     | 3(0.11)                      | 0(0)                        | *             | <0.001     |
| 新生儿采血时年龄(d) | 6.5(6, 7)                   | 3(3, 4.25)                 | 3(3, 4)                     | 3(3, 3)                    | 3(3, 3)                     | 3(3, 3)                      | 3(3, 3)                     | (129.373)     | <0.001     |
| 胎龄(周)       | 32(32, 32)                  | 36(36, 36)                 | 36(35, 36)                  | 36(35, 36)                 | 39(38, 40)                  | 39(38, 40)                   | 39(38, 40)                  | (787.315)     | <0.001     |
| 出生体重(g)     | 1930<br>(1834, 2160)        | 2115<br>(1990, 2158)       | 2630<br>(2400, 2880)        | 3390<br>(3165, 3520)       | 2650<br>(2478, 2776)        | 3300<br>(3090, 3500)         | 4050<br>(3900, 4200)        | (1462.563)    | <0.001     |

注: \*示采用Fisher确切概率法。

### 2.2 各影响因素与代谢指标的相关性分析

新生儿基本资料、疾病情况及母亲孕期疾病情况与新生儿代谢指标的相关性分析发现,胎龄、出生体重、出生季节、性别、采血前喂养不充分及采血前患黄疸与大部分代谢指标均存在较

强的相关性( $|r| > 0.05$ ,  $P < 0.05$ ),新生儿肺炎、母亲妊娠高血压、母亲妊娠胆汁淤积及胎膜早破仅与少数指标存在弱相关( $|r| < 0.05$ ,  $P < 0.05$ ),而母亲妊娠糖尿病则不与任何指标存在相关性( $P > 0.05$ ),见表2。

表2 17个关键代谢指标检测结果与指标影响因素的相关系数矩阵 (相关系数  $r$ )

| 指标             | 新生儿基本资料             |                     |                     |                     | 新生儿疾病信息             |                     |                     | 母亲孕期疾病信息           |        |                     |                     |
|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------|---------------------|---------------------|
|                | 胎龄                  | 出生体重                | 出生季节                | 性别                  | 采血前喂养不充分            | 采血前患黄疸              | 采血前有肺炎              | 妊娠高血压              | 妊娠糖尿病  | 妊娠胆汁淤积              | 妊娠胎膜早破              |
| 苯丙氨酸           | -0.010              | -0.008              | 0.160 <sup>b</sup>  | -0.010              | -0.028              | 0.080 <sup>b</sup>  | 0.016               | 0.018              | 0.017  | 0.004               | 0.019               |
| 酪氨酸            | -0.150 <sup>b</sup> | -0.083 <sup>b</sup> | -0.094 <sup>b</sup> | -0.018              | 0.019               | 0.099 <sup>b</sup>  | -0.046 <sup>b</sup> | -0.029             | -0.015 | 0.013               | -0.004              |
| 亮氨酸\异亮氨酸\羟基脯氨酸 | 0.132 <sup>b</sup>  | 0.073 <sup>b</sup>  | 0.192 <sup>b</sup>  | -0.053 <sup>b</sup> | -0.050 <sup>b</sup> | -0.047 <sup>b</sup> | -0.009              | 0.007              | -0.006 | -0.027              | 0.015               |
| 缬氨酸            | 0.204 <sup>b</sup>  | 0.089 <sup>b</sup>  | 0.068 <sup>b</sup>  | -0.067 <sup>b</sup> | -0.001              | 0.025               | -0.026              | 0.001              | -0.016 | -0.036 <sup>a</sup> | -0.020              |
| 脯氨酸            | 0.130 <sup>b</sup>  | -0.037 <sup>a</sup> | 0.057 <sup>b</sup>  | -0.023              | -0.002              | <0.001              | 0.013               | 0.011              | -0.003 | -0.016              | 0.027               |
| 鸟氨酸            | 0.159 <sup>b</sup>  | 0.042 <sup>a</sup>  | 0.251 <sup>b</sup>  | 0.011               | -0.038 <sup>a</sup> | -0.012              | -0.030              | -0.008             | -0.004 | -0.047 <sup>b</sup> | -0.030              |
| 甲硫氨酸           | 0.032               | 0.052 <sup>b</sup>  | -0.298 <sup>b</sup> | -0.059 <sup>b</sup> | 0.008               | -0.028              | 0.014               | 0.036 <sup>a</sup> | 0.003  | -0.001              | 0.018               |
| 甘氨酸            | 0.025               | -0.058 <sup>b</sup> | 0.069 <sup>b</sup>  | -0.046 <sup>b</sup> | 0.019               | 0.078 <sup>b</sup>  | -0.018              | 0.042 <sup>a</sup> | 0.003  | -0.003              | -0.011              |
| 瓜氨酸            | 0.108 <sup>b</sup>  | -0.008              | -0.152 <sup>b</sup> | -0.069 <sup>b</sup> | 0.073 <sup>b</sup>  | 0.053 <sup>b</sup>  | -0.006              | 0.043 <sup>a</sup> | 0.004  | -0.016              | -0.024              |
| 精氨酸            | -0.027              | 0.013               | -0.385 <sup>b</sup> | 0.059 <sup>b</sup>  | 0.016               | 0.009               | -0.008              | 0.023              | -0.014 | 0.003               | 0.021               |
| 琥珀酰丙酮          | -0.027              | -0.027              | -0.095 <sup>b</sup> | -0.003              | 0.026               | 0.004               | 0.002               | 0.006              | 0.015  | 0.024               | 0.017               |
| 游离肉碱           | -0.079 <sup>b</sup> | -0.166 <sup>b</sup> | 0.093 <sup>b</sup>  | 0.112 <sup>b</sup>  | -0.108 <sup>b</sup> | -0.037 <sup>a</sup> | 0.046 <sup>b</sup>  | 0.031              | -0.020 | 0.008               | 0.066 <sup>b</sup>  |
| 乙酰肉碱           | -0.037 <sup>a</sup> | -0.084 <sup>b</sup> | -0.192 <sup>b</sup> | 0.118 <sup>b</sup>  | -0.013              | 0.098 <sup>b</sup>  | -0.024              | 0.037 <sup>a</sup> | -0.003 | 0.013               | -0.011              |
| 丙酰肉碱           | -0.109 <sup>b</sup> | 0.010               | -0.023              | 0.060 <sup>b</sup>  | -0.082 <sup>b</sup> | 0.025               | -0.033              | -0.002             | -0.004 | 0.017               | 0.014               |
| 棕榈酰肉碱          | 0.001 <sup>a</sup>  | -0.003              | -0.129 <sup>b</sup> | 0.075 <sup>b</sup>  | 0.028               | 0.167 <sup>b</sup>  | -0.024              | 0.016              | -0.016 | -0.003              | -0.067 <sup>b</sup> |
| 十八碳酰肉碱         | -0.055 <sup>b</sup> | -0.062 <sup>b</sup> | -0.042 <sup>a</sup> | 0.042 <sup>a</sup>  | -0.006              | 0.118 <sup>b</sup>  | 0.004               | 0.025              | 0.001  | 0.005               | -0.000              |
| 十八碳烯酰肉碱        | -0.032              | -0.085 <sup>b</sup> | 0.029               | 0.110 <sup>b</sup>  | -0.045 <sup>b</sup> | 0.075 <sup>b</sup>  | -0.026              | 0.022              | -0.012 | -0.009              | -0.007              |

注: a 示  $P<0.05$ , b 示  $P<0.01$ 。

### 2.3 各组代谢指标的协方差分析

应用协方差分析,根据差异检验以及相关性质结果,控制不同胎龄体重组合下分布有统计学差异或与代谢指标相关的影响因素,包括采血时年龄、出生季节、性别、采血前喂养不充分、采血前患黄疸、新生儿肺炎、母亲妊娠高血压、母亲妊娠糖尿病、母亲妊娠胆汁淤积及胎膜早破,发现除瓜氨酸(Cit)、精氨酸(Arg)、琥珀酰丙酮(SA)、棕榈酰肉碱(C16)、十八碳酰肉碱(C18),其余指标在各组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。对协方差分析结果有统计学差异的指标作两两比较,结果显示与足月适于胎龄儿相比,氨基酸指标主要在极早产适于胎龄儿、早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组发生显著变化,其中亮氨酸\异亮氨酸\羟基脯氨酸(Leu\Ile\Pro-OH)、缬氨酸(Val)在3组中水平均明显下降( $P<0.05$ );鸟氨酸(Orn)

在早产适于胎龄儿组,脯氨酸(Pro)在极早产、早产适于胎龄儿组中水平明显下降( $P<0.05$ );苯丙氨酸(Phe)在极早产、早产适于胎龄儿组,甲硫氨酸(Met)在早产小于胎龄儿组,酪氨酸(Tyr)在早产适于胎龄儿组中水平则明显升高( $P<0.05$ )。与足月适于胎龄儿相比,肉碱指标主要在早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组发生显著变化,其中游离肉碱(C0)、乙酰肉碱(C2)、丙酰肉碱(C3)水平在两组中均明显升高( $P<0.05$ ),十八碳烯酰肉碱(C18:1)在早产小于胎龄儿组中水平明显升高( $P<0.05$ )。早产和足月儿中,小于胎龄儿、适于胎龄儿、大于胎龄儿三组间比较结果显示大部分氨基酸指标差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而大部分肉碱指标在小于胎龄儿组分别与适于胎龄儿、大于胎龄儿组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。



表 3 不同胎龄出生体重组合下 17 种检测指标的水平及差异分析 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 指标             | 极早产适于胎龄儿<br>(n=12) | 早产小于胎龄儿<br>(n=18)         | 早产适于胎龄儿<br>(n=219)        | 早产大于胎龄儿<br>(n=18)          | 足月小于胎龄儿<br>(n=206)             | 足月适于胎龄儿<br>(n=2677)            | 足月大于胎龄儿<br>(n=231)             | F 值    | P 值    |
|----------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------|--------|
| 苯丙氨酸           | 60.63 ± 3.35       | 50.61 ± 2.63 <sup>a</sup> | 51.70 ± 0.77 <sup>a</sup> | 52.02 ± 2.59 <sup>a</sup>  | 50.61 ± 0.77 <sup>a</sup>      | 49.41 ± 0.21 <sup>a,c</sup>    | 51.65 ± 0.72 <sup>a,f</sup>    | 4.493  | <0.001 |
| 酪氨酸            | 75.6 ± 15.3        | 69.3 ± 12.1               | 97.4 ± 3.5 <sup>b</sup>   | 100.0 ± 11.8               | 87.3 ± 3.5 <sup>c</sup>        | 85.0 ± 1.0 <sup>c</sup>        | 79.2 ± 3.3 <sup>c</sup>        | 3.238  | 0.004  |
| 亮氨酸\异亮氨酸\羟基脯氨酸 | 102.5 ± 10.1       | 107.2 ± 7.9               | 115.6 ± 2.3               | 117.4 ± 7.8                | 125.8 ± 2.3 <sup>a,b,c</sup>   | 127.0 ± 0.6 <sup>a,b,c</sup>   | 131.2 ± 2.2 <sup>a,b,c</sup>   | 6.168  | <0.001 |
| 缬氨酸            | 90.5 ± 8.9         | 94.2 ± 7.0                | 98.6 ± 2.0                | 104.3 ± 6.9                | 113.0 ± 2.0 <sup>a,b,c</sup>   | 114.3 ± 0.6 <sup>a,b,c</sup>   | 116.2 ± 1.9 <sup>a,b,c</sup>   | 11.227 | <0.001 |
| 脯氨酸            | 157.6 ± 15.5       | 178.6 ± 12.2              | 174.8 ± 3.6               | 173.3 ± 12.0               | 199.8 ± 3.5 <sup>a,c,d</sup>   | 190.5 ± 1.0 <sup>a,c,e</sup>   | 183.7 ± 3.3 <sup>e</sup>       | 5.780  | <0.001 |
| 鸟氨酸            | 86.4 ± 14.1        | 92.8 ± 11.1               | 97.8 ± 3.3                | 85.8 ± 10.9                | 115.6 ± 3.2 <sup>a,b,c,d</sup> | 113.9 ± 0.9 <sup>c,d</sup>     | 112.3 ± 3.0 <sup>c,d</sup>     | 5.620  | <0.001 |
| 甲硫氨酸           | 19.57 ± 1.78       | 23.70 ± 1.40              | 17.90 ± 0.41 <sup>b</sup> | 19.14 ± 1.38 <sup>b</sup>  | 18.82 ± 0.41 <sup>b</sup>      | 18.39 ± 0.11 <sup>b</sup>      | 19.33 ± 0.38 <sup>b,c,f</sup>  | 3.835  | 0.001  |
| 甘氨酸            | 529.6 ± 42.4       | 511.5 ± 33.4              | 480.0 ± 9.8               | 467.5 ± 32.7               | 516.2 ± 9.7 <sup>e</sup>       | 483.3 ± 2.7 <sup>e</sup>       | 477.7 ± 9.1 <sup>e</sup>       | 2.262  | 0.035  |
| 瓜氨酸            | 11.38 ± 1.29       | 10.32 ± 1.01              | 10.37 ± 0.30              | 10.64 ± 0.99               | 11.74 ± 0.29                   | 11.26 ± 0.08                   | 11.21 ± 0.28                   | 2.086  | 0.052  |
| 精氨酸            | 9.06 ± 1.84        | 6.52 ± 1.45               | 7.98 ± 0.43               | 7.60 ± 1.42                | 7.87 ± 0.42                    | 8.27 ± 0.12                    | 9.00 ± 0.40                    | 1.107  | 0.356  |
| 琥珀酰丙酮          | 0.470 ± 0.030      | 0.470 ± 0.024             | 0.451 ± 0.007             | 0.459 ± 0.023              | 0.464 ± 0.007                  | 0.455 ± 0.002                  | 0.449 ± 0.006                  | 0.647  | 0.693  |
| 游离肉碱           | 18.07 ± 2.14       | 29.30 ± 1.68 <sup>a</sup> | 21.14 ± 0.49 <sup>b</sup> | 20.80 ± 1.65 <sup>b</sup>  | 20.37 ± 0.49 <sup>b</sup>      | 17.93 ± 0.14 <sup>b,c,e</sup>  | 17.93 ± 0.46 <sup>b,c,e</sup>  | 16.642 | <0.001 |
| 乙酰肉碱           | 18.13 ± 1.89       | 23.89 ± 1.49 <sup>a</sup> | 18.83 ± 0.44 <sup>b</sup> | 18.82 ± 1.46 <sup>b</sup>  | 18.57 ± 0.43 <sup>b</sup>      | 16.60 ± 0.12 <sup>b,c,e</sup>  | 17.35 ± 0.41 <sup>b,c,e</sup>  | 10.530 | <0.001 |
| 丙酰肉碱           | 1.663 ± 0.202      | 1.959 ± 0.159             | 1.685 ± 0.047             | 2.060 ± 0.156 <sup>c</sup> | 1.327 ± 0.046 <sup>b,c,d</sup> | 1.402 ± 0.013 <sup>b,c,d</sup> | 1.723 ± 0.044 <sup>d,e,f</sup> | 18.252 | <0.001 |
| 棕榈酰肉碱          | 2.135 ± 0.292      | 2.573 ± 0.231             | 2.439 ± 0.068             | 2.677 ± 0.226              | 2.536 ± 0.067                  | 2.509 ± 0.019                  | 2.529 ± 0.063                  | 0.586  | 0.742  |
| 十八碳酰肉碱         | 0.857 ± 0.085      | 0.942 ± 0.067             | 0.807 ± 0.020             | 0.877 ± 0.065              | 0.809 ± 0.019                  | 0.781 ± 0.005                  | 0.793 ± 0.018                  | 1.808  | 0.094  |
| 十八碳烯酰肉碱        | 1.248 ± 0.132      | 1.558 ± 0.104             | 1.394 ± 0.031             | 1.495 ± 0.102              | 1.446 ± 0.030                  | 1.338 ± 0.008 <sup>b,c</sup>   | 1.344 ± 0.029 <sup>e</sup>     | 3.426  | 0.002  |

注: a 示与极早产适于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ ; b 示与早产小于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ ; c 示与早产适于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ ; d 示与早产大于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ ; e 示与足月小于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ ; f 示与足月适于胎龄儿比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

本研究协方差分析表明除 Cit、Arg、SA、C16、C18, 其余指标在各组间均存在统计学差异。与足月适于胎龄儿组相比, Leu\Ile\Pro-OH、Val、在极早产适于胎龄儿、早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组, Orn 在早产适于胎龄儿组, Pro 在极早产、早产适于胎龄儿组中水平明显下降; Phe 在极早产、早产适于胎龄儿组, Met 在早产小于胎龄儿组, Tyr 在早产适于胎龄儿组中水平则明显升高; C0、C2、C3 在早产小于、适于胎龄儿组, C18:1 在早产小于胎龄儿组中水平明显升高。早产及足月儿中小于、适于、大于胎龄儿 3 组比较结果显示, 大部分肉碱指标在小于胎龄儿组分别与适于、大于胎龄儿组间比较差异有统计学意义。

IMD 代谢指标水平受许多因素影响, 本研究通过比较各因素在不同胎龄体重组合下的分布差异以及与 17 种代谢指标的相关性, 确定了可能影响指标水平的因素。新生儿生理病理情况如性别、年龄、黄疸等可通过影响器官代谢或酶的活性而直接影响代谢物水平, 出生季节则影响代谢指标

在干血斑中的稳定性<sup>[4]</sup>。母亲孕期疾病情况可能通过影响新生儿胎龄体重间接影响代谢物水平。本研究通过协方差分析, 控制可能的影响因素, 得到了代谢指标在各胎龄体重组合下的调整测量水平, 从而反映各胎龄体重组合对代谢指标的真实效应。

早产或低出生体重儿因肝、肾脏发育不成熟, 其对应的代谢酶活性低或合成酶不足, 容易造成氨基酸过量或缺乏。Wilson 等<sup>[11]</sup>将 412494 例加拿大新生儿分成足月产(>36 周)、接近足月产(33~36 周)、早产(28~32 周)、极早产(<28 周)四个胎龄组, 发现与足月产儿相比, 非足月产儿的 Phe 明显升高, 而 Cit、Orn 则明显降低。Liu 等<sup>[12]</sup>分别对 60 例小于胎龄儿与适于胎龄儿研究发现, 早产和足月儿丙氨酸(Ala)、谷氨酸(Glu)、Pro 等有明显差异, 早产和足月产小于胎龄儿 Arg、Glu、组氨酸(His)、Leu、Orn 等有统计学差异。Alexandre-Gouabau 等<sup>[13]</sup>证明与适于胎龄儿相比, 小于胎龄儿 Pro、Arg、His 水平更低。本研究发现 Phe 在极早产、早产适于胎龄儿组, Met 在早产小于胎龄儿组, Tyr 在早产适于胎龄儿组中水平高于

足月适于胎龄儿组,这可能是低胎龄低体重引起 Phe 羟化酶活性轻度延迟,从而造成一过性的 Phe 升高<sup>[14]</sup>,4-羟基苯基丙酮酸氧化酶不足、胱硫醚酶活性降低则导致 Tyr、Met 的升高<sup>[15]</sup>。与足月适于胎龄儿相比,Leu\Ile\Pro-OH、Val 在极早产适于胎龄儿、早产小于胎龄儿、早产适于胎龄儿组,Orn 在早产适于胎龄儿组,Pro 在极早产、早产适于胎龄儿组中水平降低,可能是极早产、早产适于胎龄儿,早产小于胎龄儿的胎盘氨基酸转运功能受损导致<sup>[12]</sup>。同时,因代谢物水平也可反映营养代谢状态,也说明了早产小于、适于胎龄儿氨基酸的合成能力不足及低效率的营养吸收<sup>[16]</sup>。

董丽萍等<sup>[17]</sup>对山东鲁中地区 47883 例新生儿的研究发现,与足月儿相比,早产儿 C0、C3 明显升高, C16、C18 明显降低。Liu 等<sup>[16]</sup>证明与适于胎龄儿相比,小于胎龄儿中 C2、C3、C16、C18:1 明显升高。与以往研究结果部分一致,本研究发现,与足月适于胎龄儿组比较,早产小于、适于胎龄儿组 C0、C2、C3,早产小于胎龄儿组 C18:1 存在显著升高。母体内肉碱通过胎盘转运至胎儿,在孕中期开始逐渐降低,足月时最低。在孕后期,胎儿体内肉碱逐渐向组织内主动转运,血浆肉碱水平逐渐降低<sup>[18]</sup>,早产小于、适于胎龄儿尚未完成这一转运过程,故肉碱水平高于正常儿,同时也反映了肉碱的低效用<sup>[16]</sup>。另外,早产及足月的小于、适于、大于胎龄儿三组比较结果显示大部分肉碱指标在小于与适于、大于胎龄儿组间比较中差异有统计学意义,提示同胎龄下,出生体重相对不足对新生儿肉碱指标影响较大。

本研究首次将胎龄与出生体重联合,分析了二者不同组合下对代谢指标的影响,发现胎龄和出生体重均可影响代谢指标浓度。本研究在调整了胎儿性别、采样日龄及新生儿疾病后,初步估计了不同的胎龄+出生体重组合下 17 个 IMD 核心指标水平,后续将扩大样本,据此制定分级参考值范围,并验证参考值范围的有效性,最终实现 IMD 精准筛查,降低假阳性率,提高筛查准确度。

#### 【参 考 文 献】

[1] 林书祥,舒剑波,王朝,等. 15851 例遗传代谢病高危患儿的临床分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2017, 19(12): 1243-1247.

- [2] Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects[J]. Clin Biochem, 2006, 39(4): 315-332.
- [3] Tarini BA, Christakis DA, Welch HG. State newborn screening in the tandem mass spectrometry era: more tests, more false-positive results[J]. Pediatrics, 2006, 118(2): 448-456.
- [4] Ryckman KK, Berberich SL, Shchelochkov OA, et al. Clinical and environmental influences on metabolic biomarkers collected for newborn screening[J]. Clin Biochem, 2013, 46(1-2): 133-138.
- [5] Oladipo OO, Weindel AL, Saunders AN, et al. Impact of premature birth and critical illness on neonatal range of plasma amino acid concentrations determined by LC-MS/MS[J]. Mol Genet Metab, 2011, 104(4): 476-479.
- [6] Slaughter JL, Meinzen-Derr J, Rose SR, et al. The effects of gestational age and birth weight on false-positive newborn-screening rates[J]. Pediatrics, 2010, 126(5): 910-916.
- [7] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕. 实用新生儿学[M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 245-247.
- [8] 朱丽,张蓉,张淑莲,等. 中国不同胎龄新生儿出生体重曲线研制[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(2): 97-103.
- [9] 卫妇社〔2010〕96号. 新生儿遗传代谢病筛查血片采集技术规范[S].
- [10] Bennett MJ. Follow-up testing for metabolic diseases identified by expanded newborn screening using tandem mass spectrometry[M]. Washington, DC: The National Academy of Clinical Biochemistry, 2008: 12-15.
- [11] Wilson K, Hawken S, Ducharme R, et al. Metabolomics of prematurity: analysis of patterns of amino acids, enzymes, and endocrine markers by categories of gestational age[J]. Pediatr Res, 2014, 75(2): 367-373.
- [12] Liu J, Chen XX, Li XW, et al. Metabolomic research on newborn infants with intrauterine growth restriction[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(17): e3564.
- [13] Alexandre-Gouabau MC, Courant F, Le Gall G, et al. Offspring metabolomic response to maternal protein restriction in a rat model of intrauterine growth restriction (IUGR)[J]. J Proteome Res, 2011, 10(7): 3292-3302.
- [14] 林飞,徐钰琪,阙婷,等. 新生黄疸患儿与早产低体质量儿体内氨基酸水平变化原因分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(21): 2947-2949.
- [15] Mandour I, El Gayar D, Amin M, et al. Amino acid and acylcarnitine profiles in premature neonates: a pilot study[J]. Indian J Pediatr, 2013, 80(9): 736-744.
- [16] Liu Q, Wu J, Shen W, et al. Analysis of amino acids and acylcarnitine profiles in low birth weight, preterm, and small for gestational age neonates[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2017, 30(22): 2697-2704.
- [17] 董丽萍,牟凯,朱峰,等. 山东鲁中地区新生儿体内游离肉碱及酰基肉碱的变化特点[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(13): 2671-2675.
- [18] Gucciardi A, Zaramella P, Costa I, et al. Analysis and interpretation of acylcarnitine profiles in dried blood spot and plasma of preterm and full-term newborns[J]. Pediatr Res, 2015, 77(1-1): 36-47.

(本文编辑: 万静)