

Prader-Willi 综合征的临床筛查和基因诊断

董国庆¹ 苏月月¹ 丘晓颖¹ 陆喜燕¹ 李坚旭¹ 黄秒¹ 罗小平²

(1. 南方医科大学附属深圳市妇幼保健院儿科, 广东 深圳 518028;
2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北 武汉 430030)

[摘要] **目的** 探讨临床疑似 Prader-Willi 综合征 (PWS) 患儿的临床筛查、基因诊断及确诊病例临床诊断评分结果的差异。**方法** 选取 2016 年 7 月至 2018 年 12 月收治的临床疑似 PWS 患儿 94 例为研究对象, 应用甲基化特异性多重连接依赖性探针扩增 (MS-MLPA) 技术进行检测, 对确诊患儿采用临床诊断评分进行评估, 并分析确诊患儿的围生期特征。**结果** MS-MLPA 技术确诊 PWS 患儿 11 例, 检出率为 12%; 其中男 7 例, 女 4 例; 中位确诊年龄 3 岁 4 个月 (范围: 25 d 至 6 岁 8 个月)。11 例 PWS 患儿中仅 5 例 (45%) 满足临床诊断标准。PWS 患儿围生期主要特征有胎动减少 9 例 (82%)、剖宫产 11 例 (100%)、新生儿期肌张力低下 11 例 (100%)、喂养困难 11 例 (100%) 及哭声低下 11 例 (100%)。**结论** 对临床疑似的 PWS 患儿应及早进行基因检测确诊, 单纯依靠临床诊断评分可能导致 PWS 漏诊。 [中国当代儿科杂志, 2020, 22(9): 1001-1006]

[关键词] Prader-Willi 综合征; 甲基化特异性多重连接依赖性探针扩增; 基因; 筛查; 诊断; 儿童

Clinical screening and genetic diagnosis for Prader-Willi syndrome

DONG Guo-Qing, SU Yue-Yue, QIU Xiao-Ying, LU Xi-Yan, LI Jian-Xu, HUANG Miao, LUO Xiao-Ping. Department of Pediatrics, Shenzhen Maternity & Child Healthcare Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen, Guangdong 518028, China (Email: szdonggq@163.com)

Abstract: Objective To study the clinical screening and genetic diagnosis of children suspected of Prader-Willi syndrome (PWS), as well as the differences in the scores of clinical diagnostic criteria among the children with a confirmed diagnosis of PWS. **Methods** A total of 94 children suspected of PWS who were admitted from July 2016 to December 2018 were enrolled as subjects. Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA) was performed to confirm the diagnosis. For the children with a confirmed diagnosis of PWS, the scores of clinical diagnostic criteria were determined, and the perinatal characteristics were analyzed. **Results** A total of 11 children with PWS were confirmed by MS-MLPA, with a detection rate of 12%, among whom there were 7 boys and 4 girls, with a median age of 3 years and 4 months (range 25 days to 6 years and 8 months) at the time of confirmed diagnosis. Among the 11 children with PWS, only 5 children (45%) met the criteria for clinical diagnosis. The main perinatal characteristics of the children with PWS were decreased fetal movement (9 cases, 82%), cesarean section birth (11 cases, 100%), hypotonia (11 cases, 100%), feeding difficulties (11 cases, 100%), and weak crying (11 cases, 100%). **Conclusions** Gene testing should be performed as early as possible for children suspected of PWS by clinical screening. PWS may be missed if only based on the scores of clinical diagnostic criteria.

[Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(9): 1001-1006]

Key words: Prader-Willi syndrome; Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification; Gene; Screening; Diagnosis; Child

Prader-Willi 综合征 (Prader-Willi syndrome, PWS) 是一种由父源染色体 15q11-q13 区域基因功能缺陷引起的累及全身多系统异常的印记基因遗

传病, 发病率约 1/10 000~1/30 000, 其基因缺陷主要类型有父源染色体 15q11-q13 区域约 5~6 Mb 片段缺失 (60%~75%)、母源单亲二倍体 (maternal

[收稿日期] 2020-04-01; [接受日期] 2020-05-27

[基金项目] 深圳市卫生计生系统科研项目 (SZGW2017001); 深圳市三名工程 (SZSM201812056)。

[作者简介] 董国庆, 男, 硕士, 主任医师。Email: szdonggq@163.com。

uniparental disomy, mUPD, 20%~30%)、印记中心缺陷(imprinting center defect, ID, 2%~5%)、染色体易位、重排(<1%)等^[1]。PWS患儿临床表现复杂多样,缺乏特异性,且受年龄、基因、种族等多种因素影响,仅凭临床诊断标准易造成漏诊、误诊。PWS与新生儿期肌张力低下、喂养困难密切相关,若缺乏早期诊断和干预管理,随年龄增长可逐渐出现严重肥胖、身材矮小、智力障碍和行为异常等问题^[2-3]。二代测序技术通过捕获新合成的末端标记来确定DNA序列,而PWS为甲基化异常所致的表观遗传疾病,其基因组DNA序列无变化,但基因表达和性状可发生遗传变异,因此尚不能通过二代测序技术诊断PWS。目前最主要的检测手段为DNA甲基化分析技术,包括甲基化特异性多重连接依赖性探针扩增(methylation-specific multiple ligation-dependent probe amplification, MS-MLPA)和甲基化特异性聚合酶链式反应(methylation-specific polymerase chain reaction, MS-PCR)^[1]。本研究通过对临床疑似PWS患儿进行MS-MLPA技术检测,对确诊PWS患儿依据临床诊断评分标准^[4]进行评估,并分析PWS患儿的围生期特征,以期为进一步完善PWS的临床诊断评分标准及早期诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2016年7月至2018年12月在深圳市妇幼保健院出生或儿科就诊,经临床筛查明确为临床疑似PWS患儿94例为研究对象。纳入标准:(1)符合2001年Gunay-Aygun等^[5]提出的不同年龄段PWS进行分子检测的临床筛查标准,即①年龄<2岁,低肌张力伴吸吮力差;②2岁≤年龄<6岁,低肌张力伴吸吮力差、整体发育迟滞;③6岁≤年龄<13岁,低肌张力伴吸吮力差、整体发育迟滞、过度摄食、肥胖(若不控制饮食);④年龄≥13岁,有认知受损、精神发育迟缓、过度摄食、肥胖(若不控制饮食)、下丘脑性性腺机能减退,伴或不伴行为障碍。(2)年龄<18岁。(3)染色体核型正常(新生儿病例在生后2周内染色体核型报告正常)。(4)排除其他明确病因的疾病。

本研究获深圳市妇幼保健院伦理委员会批准,审批号为深妇幼伦审[2017]33号。患儿监护人均签署知情同意书。

1.2 血样采集及DNA提取

获知情同意后,采集所有研究对象的外周静脉血2 mL, EDTA抗凝,采用Lab-Aid 824核酸提取试剂盒(厦门致善生物科技股份有限公司提供)提取DNA, DU-800核酸蛋白分析仪(美国Beckman公司)测纯度、浓度,置于-20℃保存。

1.3 MS-MLPA反应

采用含有47个特异性探针的MS-MLPA试剂盒Me028(荷兰MRC-Holland公司)对基因组DNA进行检测,其中11个15q11区域外参考探针,28个针对PWS/天使综合征(AS)特异性探针,5个甲基化特异性探针,3个甲基化质控探针。反应步骤如下:(1)DNA的变性和探针杂交:DNA 3 μL置PCR仪98℃变性10 min,降温至25℃时加入1.5 μL探针混合液(0.75 μL SALSAProbe Mix+0.75 μL MLPA缓冲液)于室温下混匀,95℃孵育1 min,60℃杂交16~20 h。(2)连接和酶切反应:PCR仪降至20℃,加入6.5 μL A液(1.5 μL Ligase buffer A+5 μL H₂O)混匀,取5 μL至新管。PCR仪升至49℃,加入5 μL B液(4.125 μL H₂O+0.75 μL Ligase buffer B+0.125 μL Ligase 65)进行拷贝数检测;新管加5 μL含酶B液(3.875 μL H₂O+0.75 μL Ligase buffer B+0.125 μL Ligase 65+0.25 μL HhaI)进行甲基化检测;49℃孵育30 min,98℃加热5 min。(3)扩增:待PCR仪降至4℃,加入5 μL PCR混合物(3.75 μL H₂O+1 μL PCR Primer Mix+0.25 μL SALSAPolymerase)混匀后,启动PCR反应,95℃30 s、60℃30 s、72℃1 min,33个循环,72℃20 min。(4)产物分析:ABI 3130毛细管电泳分离,取9 μL甲酰胺和1 μL PCR反应产物进行毛细管电泳(ABI 3500DX)。(5)数据分析:采用Genemarker软件以正常人检测图谱为对照分析数据。

1.4 临床资料收集

回顾性收集所有研究对象的临床资料,包括母孕史、出生史、生长发育史、体格检查、临床诊断评分结果等。

1.5 PWS的临床诊断评分标准

根据《中国Prader-Willi综合征诊治专家共识

(2015)》^[4]中的临床诊断评分标准对PWS患儿进行评分并记录。该评分标准包括6条主要标准和11条次要标准。主要标准(1分/项)有：
 (1)新生儿和婴儿期肌张力低下、吸吮力差；
 (2)婴儿期喂养、存活困难；(3)1~6岁间体重过快增加，肥胖、贪食；(4)特征性面容：婴儿期头颅长、窄脸、杏仁眼、小嘴、薄上唇、嘴角向下(3种及以上)；(5)外生殖器小、青春发育延迟，或发育不良、青春期内分泌发育延迟；
 (6)发育迟缓、智力障碍。次要标准(0.5分/项)有：
 (1)胎动减少，婴儿期嗜睡、少动；(2)特征性行为问题：易怒、情感暴发和强迫性行为等；
 (3)睡眠呼吸暂停；(4)15岁时仍矮小(无家族遗传)；(5)色素沉着减退(与家庭成员相比)；(6)与同身高人相比，小手(<正常值第25百分位数)和小足(<正常值第10百分位数)；
 (7)手窄、双尺骨边缘缺乏弧度；(8)内斜视、

近视；(9)唾液黏稠，可在嘴角结痂；(10)语言清晰度异常；(11)自我皮肤损伤(抠、抓、挠等)。年龄<3岁患儿，总分≥5分(主要诊断标准达4分)；年龄≥3岁，总分≥8分(主要诊断标准达5分)即可诊断^[4]。

1.6 统计学分析

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。符合正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，偏态分布计量资料以中位数(范围)表示。计数资料以例和构成比(%)表示。

2 结果

2.1 临床疑似PWS患儿的基本资料

94例临床疑似PWS患儿中，男55例，女39例，中位入组年龄4岁8个月(范围：13d至14岁5个月)，见表1。

表1 94例临床疑似PWS患儿的性别、年龄分布

年龄(岁)	例数	性别[例(%)]		年龄 [中位数(范围),岁]	MS-MLPA 确诊 PWS例数[例(%)]
		男	女		
<2	32	17(53)	15(47)	0.33(0.04~1.75)	6(19)
2~	30	17(57)	13(43)	4.00(2.00~5.90)	3(10)
6~	31	20(65)	11(35)	8.16(6.00~12.00)	2(6)
≥13	1	1(100)	0(0)	14.42(14.42~14.42)	0(0)

注：[MS-MLPA]甲基化特异性多重连接依赖性探针扩增。

2.2 MS-MLPA 检测结果

94例临床疑似PWS患儿中，11例检测到父源拷贝数或甲基化异常，确诊为PWS，检出率为12%。83例未检测到拷贝数或甲基化异常(图1A)，为非PWS儿童。11例确诊病例中，7例(64%)为父源缺失型PWS，包括5例父源缺失I型(图1B)、2例父源缺失II型(图1C)；4例(36%)存在甲基化异常，可能为mUPD或ID(图1D)。

2.3 PWS患儿的围生期特征和临床诊断评分结果

11例PWS患儿均为汉族；男7例，女4例；

中位确诊年龄3岁4个月(范围：25d至6岁8个月)；足月儿9例，早产儿2例；平均出生体重为 2.6 ± 0.5 kg，平均出生身高为 48.3 ± 1.8 cm。患儿均为剖宫产出生，其围生期主要临床特征有：宫内胎动减少9例(82%)，新生儿期均有肌张力低下、吸吮力差及哭声低下。其他临床特征及临床诊断评分见表2。11例中仅5例(46%)达到PWS临床诊断标准^[4]，余6例(54%)未达到，分值相差0.5~2.5分，大多数为3岁以上儿童。见表2。

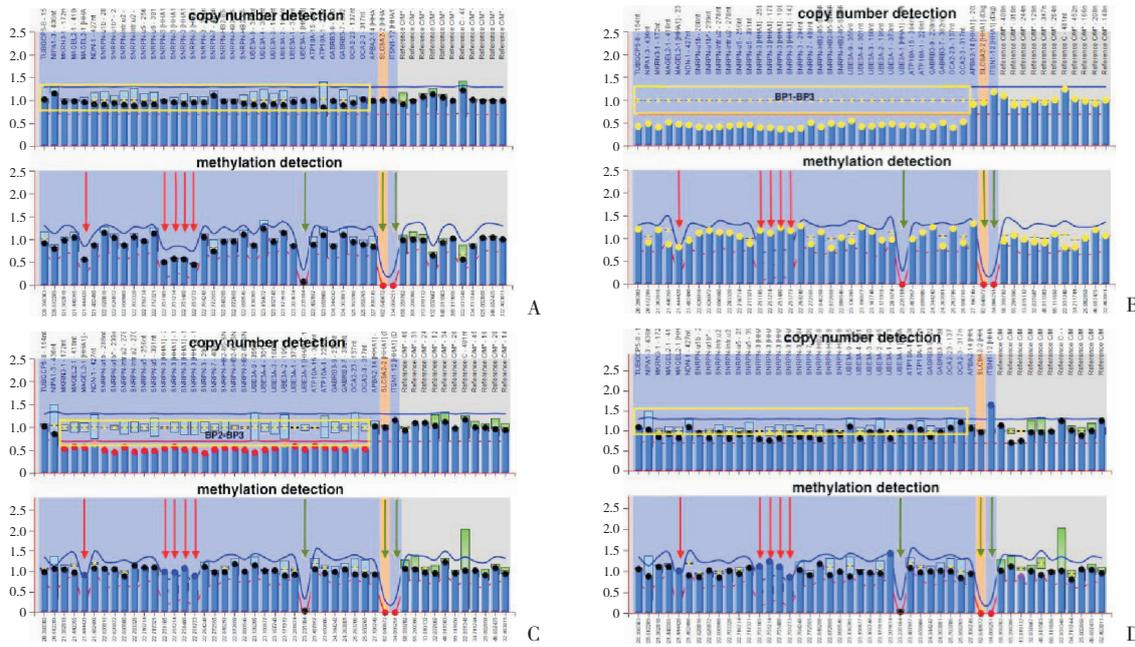


图1 MS-MLPA 检测结果图 纵轴代表荧光强度，横轴代表基因片段位置。每幅图上半部分为基因拷贝数（HhaI 酶切前）检测（黄色方框内），下半部分为基因甲基化（HhaI 酶切后）检测，包括5个甲基化特异性探针（红色箭头）、3个质控探针（绿色箭头）。图A示正常儿童对照图谱，含有父源、母源2个拷贝，不存在信号缺失；甲基化特异性探针（红色箭头）在酶切前后峰值减半，提示同时存在非甲基化父源片段（能被HhaI酶消化）和甲基化母源片段（不能被HhaI酶消化）。图B、C分别为PWS父源缺失I、II型患儿图谱，拷贝数检测分别有BP1-BP3、BP2-BP3区域基因信号减半，提示相应区域基因缺失；其甲基化检测前后峰值未减半，提示不存在非甲基化父源片段，存在甲基化母源片段而呈现高甲基化状态。图D为甲基化异常PWS患儿图谱，其拷贝数检测信号正常；甲基化检测前后峰值未减半，提示不存在非甲基化父源片段，存在甲基化母源片段而呈现高甲基化状态。

表2 11例PWS患儿围生期特征和临床诊断评分结果

项目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
性别	女	男	男	男	男	男	女	男	女	男	女
诊断年龄	6个月 26d	6个月	1岁 3个月	25d	2个月	6岁 6个月	3岁 4个月	4岁 10个月	6岁 8个月	2岁 4个月	1岁 9个月
出生方式	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产	剖宫产
胎龄(周)	39	40	37	41 ⁺¹	36 ⁺³	38	38	42	38	35 ⁺⁶	38 ⁺²
出生体重(kg)	2.60	3.45	2.22	2.83	2.50	2.35	3.00	3.00	2.65	1.87	2.10
出生身长(cm)	48	50	46	49	46	49	50	49	50	45	49
新生儿期											
低肌张力*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
吸吮力差*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
哭声低下	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
特征性面容*	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
性腺发育不良*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
婴儿期喂养困难*	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
发育迟缓、智力障碍*	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
过度摄食、肥胖*	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
胎动减少	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
色素沉着减退	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
手足短小	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
自我皮肤损伤	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
内斜视、近视	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
唾液黏稠	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
行为问题	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
评分结果#	6.5	5.0	3.0	5.0	4.0	5.5	7.0	6.0	7.5	6.5	6.0

注：+ 示有；- 示无；* 该项目为主要诊断标准；# 按《中国 Prader-Willi 综合征诊治专家共识（2015）》中临床诊断评分标准进行评分。

3 讨论

PWS于1956年由Prader等^[6]首次报道,是引起综合征性肥胖症的常见原因之一^[3],其临床表现复杂,存在地域和种族的差异,造成临床诊断较为困难。为此,1993年Holm等^[7]提出了PWS的临床诊断评分标准,2012年Cassidy等^[1]修正了该标准^[1],2015年中国专家共识参考上述标准,制定了PWS临床诊断评分标准^[4]。Gunay-Aygun等^[5]根据Holm等^[7]的临床诊断评分标准进行评分,发现17%(15/90)PWS患儿不符合该临床诊断标准,继而提出了PWS临床筛查标准。本研究依据Gunay-Aygun等^[5]的筛查标准,筛选出94例疑似病例进行MS-MLPA检测,结果确诊PWS 11例(12%)。Tuysuz等^[8]对65例0~2岁肌张力低下的婴儿进行PWS筛查,11%(7/65)的婴儿确诊为PWS,与本研究检出率基本相符。同时本研究根据我国PWS临床诊断评分标准^[4]对11例PWS患儿进行评分,发现6例(54%)未达到临床诊断标准,分值相差0.5~2.5分。因此,仅根据临床诊断评分有可能造成漏诊、误诊,需进一步完善该临床诊断评分标准。

现阶段国外报道的PWS平均诊断年龄从18d至4.9岁不等^[9-11]。李洁玲等^[12]研究显示PWS确诊年龄为14d至14岁,病程最长可达9年。本研究PWS确诊年龄为25d至6岁8个月,中位年龄3岁4个月。PWS属罕见病,由于临床医师认识不足,或选择不当的早期基因检测方法,往往造成诊断延误^[11]。因此,对早期临床筛查的疑似PWS患儿应尽早行合适的基因检测方法明确诊断,如高分辨染色体核型分析(HRB)、荧光原位杂交术(FISH)、微阵列基因分析(CMA)、DNA甲基化分析等,这些方法都有各自的局限性,应根据实际情况综合运用。HRB、FISH均属细胞遗传学检测方法,两者仅能检出部分的缺失型PWS与染色体易位,HRB缺失型的检出率约60%,FISH将缺失型检出率提升至70%~75%。CMA可检测基因组拷贝数缺失与重复,但不能明确其等位基因来源,确诊PWS仍需联合甲基化分析、FISH等检测手段^[1]。其中DNA甲基化分析技术是目前应用最为广泛的PWS分子生物学诊断手段,包括MS-PCR和MS-MLPA技术,两者均可覆盖>99%的

PWS^[1,4]。MS-PCR技术不能区分PWS的遗传发病类型,相反,MS-MLPA技术不仅能分辨父源缺失型与非缺失型,同时可区分父源缺失I、II型,另外MS-MLPA也可检测出AS^[13]。本研究应用MS-MLPA技术确诊PWS患儿11例,包括5例(45%)父源缺失I型、2例(18%)父源缺失II型、4例(36%)甲基化异常。研究表明,不同基因型PWS的某些临床特征在出现频率或严重程度有所差异^[14],且不同基因型PWS家庭PWS的再发风险不同,如父源缺失型和mUPD的再发风险<1%,而印记中心微缺失患儿的再发风险可达50%,存在母亲15号染色体同源罗伯逊易位[t(15q;15q)]患儿的再发风险接近100%^[4]。因此,早期明确基因型对指导PWS患儿治疗及遗传咨询有重要意义^[1,4]。

本研究中PWS患儿中绝大多数为足月儿,出生体重、出生身长多低于正常范围。所有患儿均为剖宫产出生,国内有报道PWS患儿剖宫产率为64.3%~83.3%^[14-16];Singh等^[17]报道剖宫产率约55%,认为高剖宫产率与宫内窘迫、羊水过多、胎心异常因素相关。本研究中82%患儿产前存在胎动减少,与文献报道的72.7%~90.9%的发生率基本一致^[17-19]。Holm等^[7]和中国专家共识^[4]都将胎动减少作为临床诊断标准的次要证据之一。Gunay-Aygun等^[5]发现胎动减少虽为次要诊断证据,但其敏感性较高(89.3%),提示在产前筛查时应予以关注。Yang等^[20]对134名PWS患儿的围生期特征进行分析,发现主要特征有宫内胎动减少(88.6%)、剖宫产(82.8%)、肌张力低下(98.5%)、喂养困难(99.3%)及哭声低下(97.8%)。本研究中11例PWS患儿均存在新生儿期低肌张力、吸吮困难、哭声低下。多个研究显示肌张力低下、吸吮困难、哭声低下为我国PWS患儿新生儿期普遍存在的临床特征^[14-16,18],对于存在上述临床特征的患儿,临床医师需警惕PWS的可能性。

典型PWS患儿在新生儿期表现为肌张力低下和喂养困难,需要留置胃管或特殊工具喂养,极大地增加了患儿的住院率和医疗费用^[1]。Shoffstall等^[21]发现所有年龄段PWS患者的住院治疗费用是非PWS患者的4.8~10.7倍,且治疗费用和住院时间随诊断年龄的延误而增加。Bacheré等^[22]发现早期诊断结合多学科护理可缩短PWS患儿的住院和胃管喂养时间,并可预防早期肥胖。研究显示,

早期生长激素治疗不仅能改善身材和身体成分(降低体脂和增加肌肉),还能降低肥胖相关并发症的发生率和病死率^[23]。因此,有国外学者建议对新生儿进行PWS筛查,以降低漏诊、误诊带来的家庭和社会负担^[11,24]。其中Mahmoud等^[24]采用MS-PCR和MS-MLPA在新生儿筛查滤纸血样中成功识别了30例PWS患儿,为实现PWS新生儿筛查提供了一定的依据。

综上所述,对临床疑似PWS患儿,如有宫内胎动减少、剖宫产、新生儿期低肌张力、吸吮困难和哭声低下等,应及早进行基因检测确诊,单纯依靠临床诊断评分可能导致PWS漏诊。

利益冲突声明:所有作者声明不存在利益冲突关系。

[参 考 文 献]

- [1] Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, et al. Prader-Willi syndrome[J]. *Genet Med*, 2012, 14(1): 10-26.
- [2] Butler MG, Manzardo AM, Heinemann J, et al. Causes of death in Prader-Willi syndrome: Prader-Willi Syndrome Association (USA) 40-year mortality survey[J]. *Genet Med*, 2017, 19(6): 635-642.
- [3] Irizarry KA, Miller M, Freemark M, et al. Prader Willi syndrome: genetics, metabolomics, hormonal function, and new approaches to therapy[J]. *Adv Pediatr*, 2016, 63(1): 47-77.
- [4] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.中国Prader-Willi综合征诊治专家共识(2015)[J].*中华儿科杂志*, 2015, 53(6): 419-424.
- [5] Gunay-Aygun M, Schwartz S, Heeger S, et al. The changing purpose of Prader-Willi syndrome clinical diagnostic criteria and proposed revised criteria[J]. *Pediatrics*, 2001, 108(5): E92.
- [6] Prader A, Labhart A, Willi H. Ein syndrom von adipositas, kleinwuchs, kryptorchismus und oligophrenia nach myatonieartigem zustand im neugeborenenalter[J]. *Schweiz Med Wochenschr*, 1956, 86: 1260-1261.
- [7] Holm VA, Cassidy SB, Butler MG, et al. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria[J]. *Pediatrics*, 1993, 91(2): 398-402.
- [8] Tuysuz B, Kartal N, Erener-Ercan T, et al. Prevalence of Prader-Willi syndrome among infants with hypotonia[J]. *J Pediatr*, 2014, 164(5): 1064-1067.
- [9] Sanjeeva GN, Maganthi M, Kodishala H, et al. Clinical and molecular characterization of Prader-Willi syndrome[J]. *Indian J Pediatr*, 2017, 84(11): 815-821.
- [10] Gold JA, Mahmoud R, Cassidy SB, et al. Comparison of perinatal factors in deletion versus uniparental disomy in Prader-Willi syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2018, 176(5): 1161-1165.
- [11] Bar C, Diene G, Molinas C, et al. Early diagnosis and care is achieved but should be improved in infants with Prader-Willi syndrome[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12(1): 118.
- [12] 李洁玲,曹洁. Prader-Willi综合征46例临床分析[J].*中国实用儿科杂志*, 2017, 32(3): 215-219.
- [13] Butler MG, Manzardo AM, Forster JL. Prader-Willi syndrome: clinical genetics and diagnostic aspects with treatment approaches[J]. *Curr Pediatr Rev*, 2016, 12(2): 136-166.
- [14] 刘舒,欧阳海梅,陈暖,等.新生儿Prader-Willi综合征14例临床表型与基因型分析[J].*中国实用儿科杂志*, 2018, 33(5): 374-376.
- [15] 田园,梁延霄,麻宏伟. Prader-Willi综合征十例临床分析[J].*国际儿科学杂志*, 2018, 45(5): 409-411.
- [16] 张娟利,严琴琴,蔡玉香,等.新生儿Prader-Willi综合征8例临床分析[J].*中国儿童保健杂志*, 2020, 28(4): 467-470.
- [17] Singh P, Mahmoud R, Gold JA, et al. Multicentre study of maternal and neonatal outcomes in individuals with Prader-Willi syndrome[J]. *J Med Genet*, 2018, 55(9): 594-598.
- [18] 李海霞,刘克战. Prader-Willi综合征11例新生儿临床诊治及随访分析[J].*中华新生儿科杂志*, 2018, 33(4): 283-286.
- [19] Geysenbergh B, De Catte L, Vogels A. Can fetal ultrasound result in prenatal diagnosis of Prader-Willi syndrome?[J]. *Genet Couns*, 2011, 22(2): 207-216.
- [20] Yang L, Zhou Q, Ma B, et al. Perinatal features of Prader-Willi syndrome: a Chinese cohort of 134 patients[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2020, 15(1): 24.
- [21] Shoffstall AJ, Gaebler JA, Kreher NC, et al. The high direct medical costs of Prader-Willi syndrome[J]. *J Pediatr*, 2016, 175: 137-143.
- [22] Bacheré N, Diene G, Delagnes V, et al. Early diagnosis and multidisciplinary care reduce the hospitalization time and duration of tube feeding and prevent early obesity in PWS infants[J]. *Horm Res*, 2008, 69(1): 45-52.
- [23] Tauber M, Diene G, Molinas C. Growth hormone treatment for Prader-Willi syndrome[J]. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2018, 16(Suppl 1): 91-99.
- [24] Mahmoud R, Singh P, Weiss L, et al. Newborn screening for Prader-Willi syndrome is feasible: early diagnosis for better outcomes[J]. *Am J Med Genet A*, 2019, 179(1): 29-36.

(本研究编辑:王颖)