doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2309151

论著·临床研究

宁夏地区新生儿杜氏肌营养不良症筛查

井淼 王悦 景晓莹 毛新梅

(北京大学第一医院宁夏妇女儿童医院/宁夏回族自治区妇幼保健院遗传代谢性疾病科, 宁夏银川 750002)

[摘要] **目的** 初步评估宁夏地区男性新生儿人群中杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 发病率, 建立新生儿DMD筛查的临界值以区分新生儿正常人群和患病人群。**方法** 采用免疫荧光分析法对10 000例男性新生儿足跟干血斑滤纸片中的肌酸激酶同工酶浓度进行检测, 筛查出高于正常临界值的新生儿, 召回进行血清肌酸激酶浓度测定, 异常者通过基因检测以明确DMD诊断。**结果** 共筛查10 000例男性新生儿, 其中2例新生儿经基因检测确诊为DMD, 初步估算宁夏地区男性新生儿DMD发病率为1/5 000; 宁夏地区新生儿肌酸激酶同工酶浓度临界值为468.57 ng/mL。**结论** 在宁夏地区进行新生儿DMD筛查是可行的, 通过对DMD患儿的早期筛查、早期诊断和早期治疗, 可以改善患儿生活质量, 为家庭再生育赢得更短的决策时间。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (3): 258-261]

[关键词] 杜氏肌营养不良症; 筛查; 发病率; 肌酸激酶同工酶; 临界值; 新生儿

Screening for Duchenne muscular dystrophy in newborns in the Ningxia region

JING Miao, WANG Yue, JING Xiao-Ying, MAO Xin-Mei. Department of Inherited Metabolic Diseases, Peking University First Hospital Ningxia Women and Children's Hospital/Ningxia Hui Autonomous Region Maternal and Child Health Hospital, Yinchuan 750002, China (Mao X-M, Email: mxm_yf@126.com)

Abstract: Objective To evaluate the incidence rate of Duchenne muscular dystrophy (DMD) in the male newborns in the Ningxia region and establish a critical threshold for screening DMD in newborns to distinguish between the normal population and affected individuals. **Methods** A total of 10 000 male newborns were screened using immunofluorescence analysis of creatine kinase isoenzyme concentrations in heel spot dried blood specimens. Newborns with the concentrations higher than the critical threshold were recalled for serum creatine kinase measurements. Genetic testing was performed to confirm diagnosis in cases showing abnormalities. **Results** Among the screened 10 000 male newborns, two were confirmed to have DMD through genetic testing, resulting in a preliminary estimated incidence rate of 1/5 000 for male newborns in the Ningxia region. The critical threshold for creatine kinase isoenzyme concentration in newborns in this region was determined to be 468.57 ng/mL. **Conclusions** Screening for DMD in newborns is feasible in the Ningxia region. Early screening, diagnosis, and treatment of DMD can improve the quality of life for affected individuals and help families make informed decisions regarding further pregnancies.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(3): 258-261]

Key words: Duchenne muscular dystrophy; Screening; Incidence rate; Creatine kinase isoenzyme; Critical threshold; Newborn

杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy, DMD), 也称假性肥大型肌肉萎缩症, 是X染色体连锁隐性遗传的一种神经肌肉疾病。据报道, 此病是由DMD基因突变导致抗肌萎缩蛋白结

构、功能发生改变, 预后极差^[1]。临床上以缓慢进行性加重肌肉无力、肌萎缩、腓肠肌假性肥大、血清肌酸激酶 (creatinine kinase, CK) 增高为特征^[2-4]。DMD起病隐匿, 病情进展缓慢, 早期无特

[收稿日期] 2023-09-28; [接受日期] 2024-02-02

[基金项目] 宁夏回族自治区卫生健康委重点研究项目 (2020-NW-50)。

[作者简介] 井淼, 女, 本科, 副主任技师。

[通信作者] 毛新梅, 女, 主任医师。Email: mxm_yf@126.com。

征性临床表现，新生儿容易漏诊误诊。DMD 新生儿男孩患病率为 1:3 500~1:5 000^[5]，有关女性患者的报道较少。

目前，DMD 国内患病率尚无明确数据，现存 DMD 患者及新生儿发病率均无报道。许多患儿未能及时得到诊断或仅在儿童晚期严重残疾时才被诊断，甚至因再次生育而影响整个家庭，带来更多社会问题。宁夏是个多民族地区，由于少数民族特殊的婚俗习惯，使得遗传代谢病发病率较高^[6]，本研究旨在了解宁夏地区男性新生儿人群中 DMD 疾病发病情况。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取宁夏回族自治区 76 家市（县、区）级助产机构 2021 年 1—12 月间出生的、符合本研究纳排标准的 10 000 例男性新生儿作为研究对象，其中银川市 3 000 例、石嘴山市 500 例、吴忠市 2 000 例、固原市 3 000 例、中卫市 1 500 例。纳入标准：（1）宁夏户籍单胎新生儿；（2）父母身体健康，无严重急慢性病史及明确遗传性疾病；（3）父母之一签署知情同意书，自愿参加研究；（4）接受随访至项目结束。排除标准：（1）父母不是宁夏户籍；（2）婴儿年龄大于 28 d；（3）辅助受孕妊娠及过程中接受了胚胎植入前遗传学筛查/胚胎植入前遗传学诊断检测后出生的新生儿。

本研究获得我院伦理委员会批准（批号：KJK-LL-2023-15）。

1.2 血片采集与送检

于新生儿出生 72 h 后（或喂足奶 6~8 次）采集足跟血（常规新生儿筛查采血）4 滴，要求血斑大于 8 mm，两边渗透，自然晾干，密封后保存于 4~8℃ 冰箱，5 个工作日内邮寄至新生儿疾病筛查中心进行实验室检测。

1.3 干血斑滤纸片中肌酸激酶同工酶测定

采用免疫荧光分析法 DELFIA 技术，严格按照仪器和试剂说明书进行操作。DMD 新生儿筛查的设备型号为 PerkinElmer 免疫荧光分析仪 1420，商业化试剂盒由 PerkinElmer 公司提供。进行检测新生儿足跟干血斑滤纸片中肌酸激酶同工酶（creatine kinase isoenzyme, CK-MM）浓度，检测完毕后，系统整合完整的数据分析程序，并获得结果。

1.4 新生儿 DMD 的诊断流程

筛查 CK-MM $\geq$ 400 ng/mL 的新生儿召回抽静脉血进行血清 CK 浓度测定，血清 CK $\geq$ 200 U/L 者判定为异常，随后通过多重连接依赖式探针扩增技术法和全外显子组测序检测 DMD 患儿中 DNA 的拷贝数变化，若有 DMD 基因缺失、增加或变异则确诊为 DMD。

1.5 质量控制

每批 DMD 新生儿初筛检测均需要高、中、低三个标准的质控品来进行质控。实验室建立自己的质控平均值和允许误差范围，要求误差不超过 $\pm 20\%$ 。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以例数和百分率或构成比（%）表示。非正态分布计量资料以中位数（四分位数间距） $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示。

2 结果

2.1 一般情况

共筛查 10 000 例男性新生儿，胎龄 <37 周、37~41 周、>41 周分别有 467 例（4.67%）、9 389 例（93.89%）、144 例（1.44%）；出生体重 <2 500 g、2 500~3 999 g、 $\geq$ 4 000 g 分别有 368 例（3.68%）、9 011 例（90.11%）、621 例（6.21%）。

2.2 宁夏地区男性新生儿人群中 DMD 发病情况

经基因检测，2 例新生儿确诊为 DMD，初筛时 CK-MM 分别为 9 338 ng/mL 和 7 169 ng/mL，复查血清 CK 分别为 9 816 U/L 和 8 527 U/L，DMD 基因变异分别为 c.3347_3350delAGAA（p.K1116Mfs* 36）和 exon48-50 半合子缺失，均为自发变异。宁夏地区男性新生儿 DMD 发病率为 1/5 000。

2.3 宁夏地区新生儿正常人群和患病人群的临界值

10 000 例男性新生儿干血斑 CK-MM 浓度范围为 5.42~9 338.00 ng/mL，中位数为 61.91 ng/mL，平均值为 77.95 ng/mL。依据美国临床实验室标准化协会 EP28-A3c 指南的要求^[7]，2 000 个样本量以上允许计算 99.5% 及以上百分位数（在百分位数的极端侧需有 ≥ 9 个结果）为临界值。以 $P_{99.5}$ 对应值（379.10 ng/mL）为初始临界值，10 000 例男性新生儿干血斑 CK-MM $\geq$ 379.10 ng/mL（可疑阳性）有 16 例。若将临界值设定在 $P_{99.75}$ ，可疑阳性结果有 10

例, 满足在百分位数的极端侧有 ≥ 9 个结果。因此, 本研究设定超过 $P_{99.75}$ 者需要召回复查血液中CK浓度, 最佳临界值确定为468.57 ng/mL。

2.4 2例DMD患儿随访情况

2例DMD新生儿一直在我院新生儿疾病筛查中心严格按照国家基本公共卫生服务0~6岁儿童健康管理模式4:2:1(1岁之内每3个月体检1次, 1~2岁每6个月体检1次, 3~6岁每年体检1次)进行随访管理。患儿1, 随访至30月龄, CK异常增高, 肝酶轻度异常, 心电图检查结果正常, 监测身高、体重及0~6岁儿童神经心理发育量表评估正常。患儿2, 随访至28月龄, CK异常增高, 肝酶轻度异常, 心电图检查结果正常, 监测身高、体重及0~6岁儿童神经心理发育量表评估正常。

3 讨论

DMD是一种由抗肌萎缩蛋白结构、功能发生改变所致的X染色体连锁隐性遗传的致死性神经肌肉疾病^[8]。抗肌萎缩蛋白主要分布于骨骼肌及心肌中, 抗肌萎缩蛋白生成的减少导致DMD患儿肌肉纤维完整性受损, 进一步引发肌肉萎缩和无力, 表现为学步延迟、行走困难、上下楼梯困难和宽步态等症状^[9]。随着患儿年龄的增长, 其临床表现呈进行性加重, 最终可能因呼吸衰竭、心力衰竭等严重并发症而死亡^[10]。DMD通常在男性中更为常见, 而女性则多为无症状携带者^[11]。流行病学研究显示, 男性新生儿发病率为1/5 000~1/6 000, 有症状的女性携带者为1/10 000~1/45 000^[12]。全球范围内, DMD患病率约为每10万名男性中有7.1例, 而在普通人群中每10万名有2.8例, 全球新生儿中的DMD出生发病率约为每10万活产男性中有19.8例。在流行病学研究中, 由于样本规模、被调查群体的选择、研究设计和其他多种因素的影响, 研究结果存在非常高的异质性^[3]。本研究初步探讨了宁夏地区男性新生儿人群中DMD的发病情况, 结果显示10 000例新生儿中有2例确诊为DMD, 初步估计宁夏地区男性新生儿人群中DMD的发病率为1/5 000。

本研究初步建立了宁夏地区DMD新生儿筛查CK-MM临界值为468.57 ng/mL, 建立适合宁夏地区DMD新生儿筛查临界值对临床工作的意义重大, 以最大程度的降低假阳性率, 提高阳性预测值^[13]。为了保证实验室检测结果的准确性和建立良好的

临界值, 实验室须严格按照操作流程执行, 并做好室内质量管理和控制。仪器校准和调试是影响实验结果准确性的关键因素, 建立良好的实验环境如温度、湿度等, 加强工作人员的业务培训等均是建立良好临界值的关键所在^[14]。另外, 影响新生儿检测结果的因素也包括胎龄、出生体重及采血时出生后日龄等, 甚至出生的季节及种族^[15]。一项研究指出, 对于早产儿和低体重的新生儿, 可能会导致结果假阴性^[16]。CK-MM浓度与采样时胎龄和出生后日龄的相关性更密切, 与出生时的体重关系较小^[14]。另一项研究^[16]报道1例极低出生体重(1 200 g)早产儿(胎龄27周)出现假阴性结果。这些提醒我们, 当临床症状和表现提示有可疑DMD时, 无论新生儿筛查结果是否为阴性, 临床医生都应重新检查患儿。定期的儿科临床就诊仍然是预防DMD漏诊的必要途径。随着筛查量的不断增加, 宁夏地区新生儿DMD筛查的临界值也会随着实验经验的积累和阳性预测值的变化作出相应的调整, 包括可能的相关影响因素分析等。

有研究报道, 由于护理和管理指南的制定以及心肺功能障碍治疗的改进, DMD患者的预期寿命得以延长至40岁左右^[17]。随着医疗的发展, DMD患者的生存率有所提高。一项法国研究显示, 1970年以前出生的DMD患者的平均预期寿命为25.77岁, 1970年以后出生的DMD患者的平均预期寿命增至40.95岁^[18]。DMD患儿的早期筛查、诊断和治疗能显著提高生活质量^[19]。随着临床研究和基因科学的发展, 医学界对未来DMD的治疗方案充满希望, 认为在早期阶段采取合适的护理和管理措施将大大改善患儿的生活^[20]。此外, DMD患儿的确诊通常需要近5年时间, 而早期筛查可以为患儿父母赢得更短的生育决策时间, 特别是在家庭中已有DMD患儿的情况下, 通过产前诊断可以尽早对胎儿进行评估并做出妊娠决策, 从而降低出生缺陷并提高新生儿的健康水平^[21]。

综上所述, 本研究不仅揭示了宁夏地区DMD在新生儿中的发病率, 还为新生儿筛查确定了CK-MM的临界值, 从而强调了在该地区进行新生儿DMD筛查的可行性与重要性。然而, 由于样本量有限, 本研究结论需要通过更大样本验证。

作者贡献声明: 井森、王悦负责研究实施和质控、数据整理、论文撰写; 景晓莹负责文献查阅、统计分析、协助论文撰写; 毛新梅负责研究

选题和设计, 论文润色并对论文科学性负责。

利益冲突声明: 所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Duan D, Goemans N, Takeda S, et al. Duchenne muscular dystrophy[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 13. PMID: 33602943. PMCID: PMC10557455. DOI: 10.1038/s41572-021-00248-3.
- [2] Leiva-Cepas F, Montaña Martínez A, López-López I. Update on Duchenne muscular dystrophy[J]. *Semergen*, 2021, 47(7): 472-481. PMID: 34417099. DOI: 10.1016/j.semerg.2021.06.008.
- [3] Ryder S, Leadley RM, Armstrong N, et al. The burden, epidemiology, costs and treatment for Duchenne muscular dystrophy: an evidence review[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12(1): 79. PMID: 28446219. PMCID: PMC5405509. DOI: 10.1186/s13023-017-0631-3.
- [4] Hammer S, Toussaint M, Vollsæter M, et al. Exercise training in Duchenne muscular dystrophy: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Rehabil Med*, 2022, 54: jrm00250. PMID: 35642324. PMCID: PMC8862644. DOI: 10.2340/jrm.v53.985.
- [5] Matsuo M. Duchenne muscular dystrophy[J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1995, 26 Suppl 1: 166-171. PMID: 8629099.
- [6] Mao X, Li S, Ma Y, et al. Ethnic preference distribution of inborn errors of metabolism: a 4-year study in a multi-ethnic region of China[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 511: 160-166. PMID: 33058845. DOI: 10.1016/j.cca.2020.10.003.
- [7] Yang D, Su Z, Zhao M. Big data and reference intervals[J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 527: 23-32. PMID: 34999059. DOI: 10.1016/j.cca.2022.01.001.
- [8] Salari N, Fatahi B, Valipour E, et al. Global prevalence of Duchenne and Becker muscular dystrophy: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2022, 17(1): 96. PMID: 35168641. PMCID: PMC8848641. DOI: 10.1186/s13018-022-02996-8.
- [9] McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, et al. Long-term effects of glucocorticoids on function, quality of life, and survival in patients with Duchenne muscular dystrophy: a prospective cohort study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10119): 451-461. PMID: 29174484. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32160-8.
- [10] Pascual-Morena C, Cavero-Redondo I, Reina-Gutiérrez S, et al. Prevalence of neuropsychiatric disorders in Duchenne and Becker muscular dystrophies: a systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2022, 103(12): 2444-2453. PMID: 35839922. DOI: 10.1016/j.apmr.2022.05.015.
- [11] Katz SL, Mah JK, McMillan HJ, et al. Routine lung volume recruitment in boys with Duchenne muscular dystrophy: a randomised clinical trial[J]. *Thorax*, 2022, 77(8): 805-811. PMID: 35236763. PMCID: PMC9340020. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2021-218196.
- [12] Crisafulli S, Sultana J, Fontana A, et al. Global epidemiology of Duchenne muscular dystrophy: an updated systematic review and meta-analysis[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2020, 15(1): 141. PMID: 32503598. PMCID: PMC7275323. DOI: 10.1186/s13023-020-01430-8.
- [13] Jia C, Zhao D, Li Y, et al. Newborn screening and genomic analysis of Duchenne muscular dystrophy in Henan, China[J]. *Clin Chim Acta*, 2023, 539: 90-96. PMID: 36516925. DOI: 10.1016/j.cca.2022.11.024.
- [14] Jia X, Jiang X, Huang Y. A pilot study of newborn screening for Duchenne muscular dystrophy in Guangzhou[J]. *Heliyon*, 2022, 8(10): e11071. PMID: 36281417. PMCID: PMC9587328. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e11071.
- [15] Chien YH, Lee NC, Weng WC, et al. Duchenne muscular dystrophy newborn screening: the first 50, 000 newborns screened in Taiwan[J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(7): 4563-4566. PMID: 35562557. PMCID: PMC9106269. DOI: 10.1007/s10072-022-06128-2.
- [16] Timonen A, Lloyd-Puryear M, Hougaard DM, et al. Duchenne muscular dystrophy newborn screening: evaluation of a new GSP® neonatal creatine kinase-MM kit in a US and Danish population[J]. *Int J Neonatal Screen*, 2019, 5(3): 27. PMID: 33072986. PMCID: PMC7510235. DOI: 10.3390/ijns5030027.
- [17] Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 3: primary care, emergency management, psychosocial care, and transitions of care across the lifespan[J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(5): 445-455. PMID: 29398641. PMCID: PMC5902408. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30026-7.
- [18] Passamano L, Taglia A, Palladino A, et al. Improvement of survival in Duchenne muscular dystrophy: retrospective analysis of 835 patients[J]. *Acta Myol*, 2012, 31(2): 121-125. PMID: 23097603. PMCID: PMC3476854.
- [19] Miller AR, Condin CJ, McKellin WH, et al. Continuity of care for children with complex chronic health conditions: parents' perspectives[J]. *BMC Health Serv Res*, 2009, 9: 242. PMID: 20025770. PMCID: PMC2805629. DOI: 10.1186/1472-6963-9-242.
- [20] Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care[J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(2): 177-189. PMID: 19945914. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70272-8.
- [21] Chouteau WA, Burrows C, Wittekind SG, et al. Emergency planning as part of healthcare transition preparation for patients with Duchenne muscular dystrophy[J]. *J Pediatr Nurs*, 2021, 61: 298-304. PMID: 34450470. DOI: 10.1016/j.pedn.2021.08.003.

(本文编辑: 王颖)
(版权所有©2024中国当代儿科杂志)