

· 论 著 ·

甘肃省 56 万例新生儿苯丙酮尿症筛查结果分析

王 兴¹, 郝胜菊¹, 陈丕亮², 冯 暄¹, 闫有圣^{1△}

(甘肃省妇幼保健院: 1. 医学遗传学中心; 2. 新生儿疾病筛查中心, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 回顾性分析甘肃省 567 691 例新生儿苯丙酮尿症筛查结果, 了解甘肃省新生儿苯丙酮尿症(PKU)的发病情况, 为甘肃省 PKU 的防治提供基础数据。方法 标本为甘肃省新生儿筛查中心于 2009~2014 年收集的 567 691 例新生儿足跟血滤纸干血斑样品, 用荧光定量法检测苯丙氨酸水平, 并采用尿喋呤谱分析及苯丙氨酸羟化酶(PAH)基因突变检测进行鉴别诊断。结果 在 567 691 例新生儿中, 确诊 PKU 患儿 166 例; 总体检出率为 1/3 420, 其中经典 PKU 119 例(71.7%), 中等型 PKU 33 例(19.9%), 轻型 PKU 14 例(8.4%)。结论 甘肃省 PKU 发病率远高于全国平均发病水平, 以经典型 PKU 发病为主, 应成为 PKU 重点防治地区。

关键词: 新生儿疾病筛查; 苯丙酮尿症; 荧光定量法; 甘肃

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.24.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)24-3588-03

Analysis on screening results of phenylketonuria among 567 691 neonates in Gansu Province

Wang Xing¹, Hao Shengju¹, Cheng Piliang², Feng Xuan¹, Yan Youshen^{1△}

(1. Genetics Center; 2. Neonatal Diseases Screening Center, Gansu Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To retrospectively analyze the screening results of phenylketonuria(PKU) among 567 691 neonates in Gansu Province to understand the prevalence situation of PKU and provide the basic data for preventing and treating PKU in Gansu Province. **Methods** 567 691 samples of neonatal dried heel blood spots were collected by Gansu Province Newborn Screening Center from 2009 to 2014 and the phenylalanine (Phe) level was quantitatively determined by the fluorescence quantification method. The identification was performed by using the urine pterine profile analysis and phenylalanine hydroxylase(PAH) gene mutation detection. **Results** Among 567 691 neonates, 166 neonates were diagnosed as PKU, the total detection rate was 1/3 420, in which 119 cases (71.7%) were classic PKU, 33 cases (19.9%) were moderate PKU and 14 cases (8.4%) were mild PKU. **Conclusion** The morbidity rate of PKU in Gansu Province is much higher than the national average incidence level, which is dominated by classic PKU. Therefore Gansu Province should become the major area of PKU prevention and treatment.

Key words: neonatal screening; phenylketonuria; fluorescence quantification; Gansu

苯丙酮尿症(PKU)是一种常染色体隐性遗传病, 患儿编码苯丙氨酸羟化酶(PAH)的基因突变或缺失, 导致肝脏内 PAH 活性减弱或丧失, 使苯丙氨酸不能转变成酪氨酸, 苯丙氨酸及其酮酸在体内堆积进而引发该疾病。临床表现不均一, 其主要临床特征为智力、体格发育落后, 精神行为异常等, 患儿在临床症状出现前可通过特殊饮食治疗, 减轻对神经系统的损伤, 防止痴呆等严重后果的发生^[1]。因此, 早发现、早确诊、早治疗就显得尤为重要。新生儿疾病筛查是目前 PKU 早期诊断的重要手段之一, 国内于上世纪 80 年代开始 PKU 的早期筛查, 并在全国逐渐推广, 甘肃省 PKU 筛查起步于上世纪末, 近几年筛查覆盖率不断提高并取得了一定的成果。现将 2009~2014 年甘肃省新生儿疾病筛查中心实验室的 567 691 例新生儿 PKU 筛查结果进行统计分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 甘肃省新生儿筛查中心于 2009 年 1 月至 2014 年 12 月接收新生儿筛查共 567 691 例, 分别来自于兰州市、白银市、武威市、酒泉市、定西市、临夏州和甘南州 6 个地区。用于筛查的足跟血滤纸片干血斑标本采集由接产单位于新生儿出生 72 h 并充分哺乳后按照《新生儿疾病筛查技术规范》的要求进行: 采集新生儿足跟血, 使用专用滤纸片(Schleicher&Schuell 903 滤纸)收集 3 个直径大于 8 mm 的血

斑, 室温下自然晾干, 2~6 °C 存放, 1 周内送至新生儿筛查中心。

1.2 仪器与试剂 检测仪器主要包括 PerkinElmer 公司的 Wallac 1420VIC-TOR 分析仪、震荡仪、恒温孵育箱、八道移液器。检测试剂采用芬兰雷勃公司苯丙氨酸荧光检测试剂盒。质控品包括芬兰雷勃公司苯丙氨酸荧光检测试剂盒所含有的 2 种不同苯丙氨酸浓度的干滤纸标准血斑质控品及国家原卫生部临检中心发放质控品。

1.3 方法 干血斑苯丙氨酸测定严格按照新生儿苯丙氨酸定量检测试剂盒内提供的实验步骤进行操作。用打孔器打取直径 3.0 mm 的标准品、质控品和待测样品血斑置于 96 孔细胞培养板内, 各孔加入 80%乙醇 80 μL, 室温下 1 000 r/min 振荡萃取 30 min。每孔吸取 50 μL 萃取液移至试剂盒内自带 96 孔反应白板, 加入反应混合液 50 μL(琥珀酸缓冲液、氨基酸荧光增强液、茚三酮试剂按 5:1:2 的比例现用现配)室温振荡混匀 1 min, 放入 60 °C 恒温孵育箱孵育 60 min。每孔加入 4 °C 铜试剂 200 μL, 室温静置 15 min。在 15 min 内用 Wallac 1420VIC-TOR 分析仪进行检测(激发波长 390 nm, 发射波长 485 nm), 其荧光强度与苯丙氨酸浓度(mg/dL)成正比。

1.4 质量控制 室内质量控制: 每一批实验均进行定标校准, 每一个反应板都带有雷勃公司提供的质控品进行质量评估, 保

证实验结果的准确性;空间质量评价:每年参加原卫生部临检中心新生儿血清苯丙氨酸检测的空间质评,并取得合格证。

1.5 PKU 诊断和分型

1.5.1 初筛阳性及召回复查 凡初筛干滤纸血苯丙氨酸浓度大于或等于 2.0 mg/dL(120 μmol/L)为可疑阳性,立即由新生儿筛查中心通知接产单位及家长本人,对可疑阳性病例采集第 2 张血片并送回新生儿疾病筛查中心进行复查,复查干滤纸血苯丙氨酸浓度仍高于 2.0 mg/dL 可判断为持续性高苯丙氨酸血症阳性。

1.5.2 PKU 诊断 对持续性高苯丙氨酸血症患儿行尿蝶呤谱、PAH 基因突变分析进行确诊,排除四氢生物蝶呤缺乏症。血苯丙氨酸浓度大于 6 mg/dL(>360 μmol/L),诊断为 PKU;血苯丙氨酸浓度为 2~6 mg/dL(120~360 μmol/L)诊断为高苯丙氨酸血症。

1.5.3 PKU 分型 根据确诊的 PKU 患儿在正常蛋白质饮食情况下,血苯丙氨酸浓度增高的程度将其分为以下 3 型:血苯丙氨酸浓度大于 20 mg/dL(>1 200 μmol/L)为经典型 PKU,血苯丙氨酸浓度为 10~20 mg /dL(600~1 200 μmol/L)为中等型 PKU,血苯丙氨酸浓度为 6~<10 mg/dL(360~<600 μmol/L)为轻型 PKU。

1.6 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件,对各年度间的发病率和各地区间的发病率进行比较,采用 χ² 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 甘肃地区 PKU 筛查的总体情况 甘肃省新生儿疾病筛查中心实验室共筛查 567 691 例新生儿样品,确诊 PKU 患儿 166 例,总体检出率为 1/3 420;其中经典 PKU 119 例占 71.7%(119/166),中等型 PKU 33 例占 19.9%(33/166),轻型 PKU 14 例占 8.4%(14/166)。

2.2 各年度的 PKU 检出情况 各年度间的 PKU 发病率比较差异无统计学意义(χ²=1.698, P>0.05),见表 1。

表 1 甘肃省 2009~2014 年新生儿 PKU 筛查情况

年度(年)	新生儿筛查数(n)	PKU 确诊数(n)	PKU 发病情况
2009	25 482	9	1/2 831
2010	74 440	20	1/3 722
2011	94 789	24	1/3 950
2012	121 395	36	1/3 372
2013	126 681	42	1/3 016
2014	124 904	35	1/3 569
合计	567 691	166	1/3 420

2.2 不同地区 PKU 检出情况 不同地区之间 PKU 发病率比较,差异无统计学意义(χ²=5.918, P>0.05),见表 2。

表 2 甘肃省 2009~2013 年各地州市新生儿 PKU 筛查情况

地区	新生儿筛查数(n)	PKU 确诊数(n)	PKU 发病情况
兰州市	152 157	47	1/3 237
白银市	49 906	22	1/2 268
武威市	94 075	28	1/3 359
酒泉市	14 535	4	1/3 634

续表 2 甘肃省 2009~2013 年各地州市新生儿 PKU 筛查情况

地区	新生儿筛查数(n)	PKU 确诊数(n)	PKU 发病情况
定西市	114 789	26	1/4 415
临夏州	116 241	31	1/3 750
甘南州	25 988	8	1/3 249
合计	567 691	166	1/3 420

3 讨 论

PKU 是遗传代谢病中较为常见的一种,1934 年挪威科学家 Folling 首次对该病进行描述。随着人们对 PKU 的认识不断加强,1953 年德国学者使用低苯丙氨酸奶粉治疗 PKU 获得成功,并提出尽早治疗对 PKU 治疗效果至关重要,1961 年美国科学家发明细菌抑制法对新生儿群体进行 PKU 筛查,实现了在 PKU 患儿出现临床症状前的早诊断早治疗目标^[2]。实践证明,通过新生儿疾病筛查能有效降低 PKU 的危害,世界各国也纷纷将新生儿 PKU 检测纳入常规筛查项目。上世纪 90 年代我国颁布的《中华人民共和国母婴保健法》将新生儿 PKU 筛查列入国家法规,旨在推进新生儿中该疾病的筛查工作。

甘肃省地处我国西北地区,新生儿筛查工作起步较晚,从 1999 年开始推广新生儿筛查,2006 年成立甘肃省新生儿疾病筛查中心,2009 年在省内实现全面开展新生儿 PKU 筛查项目。在甘肃省各级政府及医疗卫生单位的共同努力下,新筛普及率逐年上升,本实验室年筛查量也由 2009 年的 25 482 例上升至 2014 年的 124 904 例。2009~2014 年,6 年间送往甘肃省新生儿疾病筛查中心实验室的甘肃主要 7 个市(州)的 567 691 例筛查中,共确诊 PKU 患儿 166 例,总体发病率为 1/3 420,高于全国 1/11 614 的平均发病率^[3],明显高于广州^[4]、福建^[5]、湖南^[6]等南方省市地区的发病率,与同属西北地区的宁夏^[7]、新疆^[8]发病率相近,符合我国 PKU 发病率北方人群高于南方人群的特点^[9]。同时,由于本院 PKU 患儿主要依靠 PAH 基因突变分析进行确诊,部分样品外送北京、上海进行四氢生物蝶呤缺乏症鉴别,因此四氢生物蝶呤缺乏症无法获得准确数据,但根据 PKU 血清学分型显示甘肃地区 PKU 发病以经典型为主,占 71.7%,符合我国 PKU 发病以经典型为主的特点。各年间 PKU 发病率经统计分析无明显差异,说明甘肃省 PKU 发病率一直处于高发病率水平,是我国 PKU 高发地区;7 个市(州)的发病率为 1/2 268~1/4 415 之间,但统计学分析显示各地区间 PKU 发病率无明显差异。这与本实验室之前报道的甘肃地区 PKU 发病率为 1/2 320^[10]和甘肃张掖地区报道的 PKU 发病率为 1/4 013^[11]的统计数据相吻合。7 个地区总体发病率为 1/3 420,略高于与之前报道的 1/4 830^[12];低于兰州大学第一附属医院中心实验室报道的 1/1 053~1/1 666 的发病情况^[13-14],这可能与不同新生儿疾病筛查实验室所接受的样品来自不同地区有关,而这种差异是否与甘肃省地域狭长、民族众多,各地区存在特有的遗传背景有关,还有待进一步的分子流行病学研究。

新生儿筛查工作涉及多部门、多单位间的相互合作,从样品采集、实验室筛查到疑似阳性患儿的召回和治疗环节较多,每一个环节都会影响到新筛工作的质量。目前筛查样品主要依靠干血片法收集送检,样品采集时存在的反复滴渗及新生儿采血前给予高蛋白高氨基酸补液都会增加假阳性率,给家属带

来不必要的心理负担。同时新生儿哺乳不足、采血时间提前及血片存放送检条件不合格都会增加漏筛的风险。所以,完善的样品采集、保存和送检制度是确保实验结果准确的前提。而对疑似阳性患儿的召回确诊和治疗是进行 PKU 筛查工作的根本目的。本省新生儿筛查工作还存在初筛疑似阳性患儿召回率和确诊患儿的治疗率较低的问题,尤其是苯丙氨酸值为 2~6 mg/dL 的疑似阳性患儿召回率较低^[11],这可能是由于此浓度范围内的新生儿需要定期随访而无需特殊治疗,易被家长忽略。本实验室对部分轻度高苯丙氨酸血症患儿的基因检测显示,均有不同程度的基因突变,为 PKU 突变基因携带者。进一步的确诊不仅能提高患儿的康复和生存质量,同时能为夫妻双方的再生育及患儿将来的发育提供更好的遗传咨询;而确诊患儿治疗率较低与甘肃地区整体经济发展水平较低,许多 PKU 患儿家庭无法负担长期的医疗费用有关。虽然近年来甘肃省各级政府和医疗单位为新生儿疾病筛查事业付出了极大努力,也取得了不少的成果,但甘肃省是我国 PKU 高发地区,在减少出生缺陷、提高人口素质的方面还需要社会各界的大力支持和帮助。

参考文献

[1] 顾学范. 新生儿代谢性疾病筛查[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004:92-106.
 [2] Robin A Williams, Cyril DS Mamotte, John R Burnett. Phenylketonuria; An Inborn Error of Phenylalanine Metabolism[J]. Clin Biochem Rev, 2008, 29(2): 31-41.
 [3] Xiao-Tong Shi, Juan Cai, Peng-Wei Jing, et al. Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism in Mainland China: 30 Years of

Experience[J]. JIMD Reports, 2012; 31(1): 79-83.
 [4] 李蓓, 江剑辉, 曹伟锋, 等. 广州市 1071203 例新生儿苯丙酮尿症筛查结果回顾性分析[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(6): 852-854.
 [5] 朱文斌, 王振南, 陈涵强, 等. 福建省新生儿苯丙酮尿症筛查状况分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2002, 8(4): 15-16.
 [6] 鄢慧明, 胡浩, 王华, 等. 2001~2011 年湖南省新生儿苯丙酮尿症(PKU) 筛查结果分析及体会[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(4): 96-98.
 [7] 杨银凤, 冯锋, 汤旭钢, 等. 宁夏 2007~2009 年新生儿苯丙酮尿症、先天性甲状腺功能减低症筛查及治疗情况分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(9): 1011-1013.
 [8] 李之光, 薛淑媛, 马光娟, 等. 新疆地区 40216 例新生儿苯丙酮尿症筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(5): 84-85.
 [9] 顾学范, 王治国. 中国 580 万新生儿苯丙酮尿症和先天性甲状腺功能减低症的筛查[J]. 中华预防医学杂志, 2004, 38(2): 99-102.
 [10] 胡秀琴, 郝胜菊, 闫有圣, 等. 甘肃地区 13 920 例新生儿高苯丙氨酸血症筛查和诊断分析[J]. 中国优生优育, 2008, 14(4): 195-197.
 [11] 强燕. 张掖市 32103 例新生儿代谢性疾病筛查结果分析[J]. 卫生职业教育, 2014, 32(4): 87-88.
 [12] 陈丕亮, 陈亚. 2010~2012 年甘肃省新生儿疾病筛查状况及分析[J]. 中国优生优育, 2013, 19(6): 470-472.
 [13] 赵丽, 檀乃民, 周兰霞, 等. 甘肃省新生儿苯丙酮尿症筛查结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2003, 18(4): 221-222.
 [14] 周兰霞, 赵丽, 杜晓云, 等. 甘肃省 6 万例新生儿苯丙酮尿症筛查和治疗分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2008, 16(1): 76-78.

(收稿日期: 2015-06-22)

(上接第 3587 页)

syndrome study[J]. Acta Med Scan, 1972, 32(4): 1220-1222.
 [2] Fuster V, Badimon L, Badimon J, et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 1992, 32(6): 310-318.
 [3] Fareed J, Hoppensteadt DA, Leya F, et al. Useful laboratory tests for studying thrombogenesis in acute cardiac syndromes[J]. Clin Chem, 1998, 44(8): 1845-1853.
 [4] Hoffmeister HM, Jur M, Wendel HP, et al. D-dimer is an early diagnostic marker of coronary ischemia in patients with chest pain[J]. Am Heart J, 2000, 13(2): 379-384.
 [5] Vaziri ND, Kennedy SC, Kennedy D, et al. Coagulation, fibrinolytic, and inhibitory proteins in acute myocardial infarction and angina pectoris[J]. Am J Med, 1992, 93(1): 651-657.
 [6] Newby LK. Cardiac marker testing: where should we focus[J]. Am Heart J, 2001, 14(1): 351-353.
 [7] Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events[J]. Circulation, 1999, 99(1): 2517-2522.
 [8] David S, Ariella BG. Determinants of ELISA D-Dimer sensitivity for unstable angina pectoris as defined by coronary catheterization[J]. Am J Hemat, 2004, 7(6): 121-125.
 [9] Kelly J, Hunt BJ. Role of D-Dimer in diagnosis of venous Thromboembolism[J]. The Lancet, 2002, 35(9): 456-457.
 [10] Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 1996, 33(5): 1342-

1349.
 [11] Mathew TP, Menown IBA, Adgey AAJ. Optimising classification of acute myocardial infarction; from diagnosis to prognosis[J]. Eur Heart J, 2000, 2(1): 1502-1513.
 [12] Lindsell CJ, Pollack CV, Anantharaman V. The Internet Tracking Registry of Acute Coronary Syndromes (i * trACS): a multi-center registry of patients with suspicion of ACS reported using the standardized reporting guidelines for emergency department chest pain studies[J]. Ann Emerg Med, 2006, 48: 666-677.
 [13] Heit JA, Minor TA, Andrews JC, et al. Determinant of plasma fibrin D-dimer sensitivity for acute pulmonary embolism as defined by pulmonary angiography[J]. Arch Pathol Lab Med, 1999, 12(3): 235-240.
 [14] Lee LV, Ewald GA, McKenzie CR, et al. The relationship of soluble fibrin and cross-linked fibrin degradation products to the clinical course of myocardial infarction[J]. Arterioscl Thromb Vasc Biol, 1997, 17(1): 628-633.
 [15] Bayes-Genis A, Mateo J, Santalo M, et al. D-dimer is an early diagnostic marker of coronary ischemia in patients with chest pain[J]. Am Heart J, 2000, 11(2): 379-384.

(收稿日期: 2015-07-11)

