

• 论 著 •

重症监护病房新生儿重症联合免疫缺陷病筛查结果及致病基因突变分析\*

杨 晓<sup>1</sup>, 朱丽娜<sup>1</sup>, 马 宁<sup>1</sup>, 李 昊<sup>1</sup>, 杨茹莱<sup>2△</sup>

1. 中国人民解放军总医院儿科医学部/中国人民解放军总医院第七医学中心儿科研究所/出生缺陷  
防控关键技术国家工程实验室, 北京 100700; 2. 浙江大学医学院附属儿童医院遗传与代谢科/国家儿童  
健康与疾病临床医学研究中心/国家儿童区域医疗中心, 浙江杭州 310052

**摘 要:****目的** 探讨在新生儿重症监护病房(NICU)新生儿中开展重症联合免疫缺陷病(SCID)筛查的意义,以及新生儿性别、胎龄、出生体重和感染对干血斑 T 细胞受体切除环(TREC)拷贝数检测结果的影响。**方法** 选取 2017 年 11 月 16 日至 2020 年 6 月 9 日在解放军总医院第七医疗中心 NICU 住院的 227 例新生儿作为研究对象,分别按性别、胎龄、出生体重和感染情况进行分组,采用多重实时荧光定量 PCR 的方法检测 TREC 拷贝数。分析性别、胎龄、出生体重、感染与 TREC 拷贝数的关系,并对 SCID 筛查阳性的新生儿进行全外显子测序分析以明确诊断。**结果** 不同性别 NICU 新生儿 TREC 拷贝数差异无统计学意义( $P>0.05$ );极早产儿组、晚期早产儿组 TREC 拷贝数高于超早产儿组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );TREC 拷贝数随着出生体重的增加而稍有增加,但是各组 TREC 拷贝数差异无统计学意义( $P>0.05$ );感染组 TREC 拷贝数显著高于非感染组( $P<0.05$ )。16 例新生儿 SCID 筛查阳性,均在 SCID 致病基因 ADA 上均检测出 2 个突变,可以确认为 ADA-SCID 患者。**结论** 对 NICU 新生儿进行 SCID 早期筛查并对筛查阳性新生儿进行全外显子测序可以明确 SCID 诊断,对提高 SCID 患儿生存率有重要意义。NICU 新生儿性别、胎龄和出生体重与 TREC 拷贝数的关系需在扩大样本量后进一步探讨。感染性疾病可能导致 SCID 筛查的假阳性,应该引起重视。

**关键词:**重症联合免疫缺陷病; 新生儿; 筛查; 新生儿重症监护病房; 基因突变

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.08.002 **中图法分类号:**R725.9;R725.6

**文章编号:**1673-4130(2024)08-0902-06 **文献标志码:**A

Analysis of screening results of neonatal severe combined immunodeficiency  
disease in intensive care unit and pathogenic gene mutation\*

YANG Xiao<sup>1</sup>, ZHU Lina<sup>1</sup>, MA Ning<sup>1</sup>, LI Hao<sup>1</sup>, YANG Rulai<sup>2△</sup>

1. Faculty of Pediatrics, Chinese PLA General Hospital/Institute of Pediatrics, Seventh Medical  
Center of PLA General Hospital/National Engineering Laboratory of Key Technologies for  
Birth Defect Prevention and Control, Beijing 100700, China; 2. Department of Genetics  
and Metabolism, Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine/National  
Center for Clinical Medical Research of Child Health and Disease/National Children's  
Regional Medical Center, Hangzhou, Zhejiang 310052, China

**Abstract: Objective** To explore the significance of screening for severe combined immunodeficiency disease (SCID) in neonatal intensive care unit (NICU), and the effects of neonatal sex, gestational age, birth weight and infection on the detection results of TREC copy number. **Methods** A total of 227 newborns hospitalized in the NICU of the Seventh Medical Center of the PLA General Hospital from November 16, 2017 to June 9, 2020 were enrolled in the study, and divided into groups according to sex, gestational age, birth weight and infection status. Multiple real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the copy number of TREC. The relationship between sex, gestational age, birth weight, infection and TREC copy number was analyzed, and the whole exon sequencing analysis was performed on the newborns with positive results of SCID screening to confirm the diagnosis. **Results** There was no significant difference in the copy number of TREC between NICU neonates of different genders ( $P>0.05$ ). The copy number of TREC in the extremely preterm group and late preterm groups was higher than that in the super preterm group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The copy number of TREC slightly increased with the increase of birth weight,

\* 基金项目:国家重点研发计划课题(2018YFC1002701)。  
作者简介:杨晓,女,副主任技师,主要从事细胞和分子遗传学研究。 △ 通信作者, E-mail: chsczx@zju.edu.cn。

but there was no significant difference among all groups ( $P>0.05$ ). The copy number of TREC in infected group was significantly higher than that in non-infected group ( $P<0.05$ ). All 16 neonates screened to be positive for SCID were confirmed as ADA-SCID patients with 2 mutations detected on the disease-causing gene ADA. **Conclusion** Early screening of NICU newborns for SCID and whole exon sequencing of positive newborns can confirm the diagnosis of SCID, which is of great significance to improve the survival rate of children with SCID. The relationship between neonatal sex, gestational age, birth weight and the copy number of TREC in NICU needs to be further explore after expanding the sample size. Infectious diseases can lead to false positives in SCID screening and should be taken seriously.

**Key words:** severe combined immunodeficiency; newborn; screening; neonatal intensive care unit; gene mutation

重症联合免疫缺陷病(SCID)是由一系列基因突变导致细胞免疫和体液免疫同时受累的 X-连锁/常染色体隐性遗传罕见病,是导致儿童生长发育障碍甚至死亡的严重遗传性出生缺陷<sup>[1-2]</sup>。SCID 在活产新生儿中的发病率为 1/50 000~1/30 000<sup>[3]</sup>,大部分 SCID 患者在出生时缺乏明显特异性表现,由于自身存在严重的免疫功能障碍,常因接种卡介苗、脊髓灰质炎病毒疫苗等活疫苗而出现致死性不良结局,如不及时纠正免疫缺陷和采取干预措施,大部分患者在 1~2 岁内死亡<sup>[4]</sup>。由于 SCID 患儿多存在 T 细胞数减少或缺乏,实时荧光定量 PCR 检测干血斑 T 细胞受体切除环(TREC)拷贝数的方法可用来进行新生儿 SCID 筛查。TREC 是 T 细胞在胸腺发育过程中编码 T 细胞受体(TCR)基因重组时产生的小片段游离环状 DNA,稳定存在于细胞内,不随 T 细胞分裂而复制,可反映胸腺输出初始 T 淋巴细胞数量。TREC 拷贝数水平越低,表明体内新生成的 T 细胞数量越少,患 SCID 的可能性越大<sup>[5]</sup>,这种检测 TREC 拷贝数的方法具有较高的灵敏度和特异度。一项涉及美国 11 个州 320 万新生儿的筛查数据显示,SCID 的发病率为 1/56 000<sup>[6]</sup>,瑞典相关研究报道的 SCID 发病率为 1/42 700<sup>[7-8]</sup>。研究显示,浙江省新生儿疾病筛查中心对浙江地区 61 479 例新生儿进行了 SCID、X-连锁无丙种球蛋白血症(XLA)和脊髓性肌萎缩症(SMA)3 种遗传性疾病的联合筛查,在筛查阳性新生儿中经血生化及基因检测确诊 1 例 SCID 患儿<sup>[9]</sup>。各国报道的 SCID 发病率虽然有一定差异,但由于我国人口基数较大,每年新生儿人口多,预计每年新增 SCID 患儿可达百例。

SCID 筛查通常是在普通新生儿中开展的,目前尚鲜见研究针对 NICU 新生儿这一特殊群体开展此项筛查,本研究回顾性地检测 227 例 NICU 新生儿的干血斑 TREC 拷贝数,并通过全外显子测序对疑似阳性的新生儿进行分子遗传学诊断,探讨在 NICU 新生儿中进行 SCID 疾病早筛查、早诊断的意义,分析新生儿性别、胎龄、出生体重及感染情况对 TREC 拷贝数检测结果的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料 选取 2017 年 11 月 16 日至 2020 年

6 月 9 日在解放军总医院第七医疗中心新生儿重症监护室(NICU)住院的 227 例新生儿作为研究对象,按性别分为男性组(137 例)、女性组(90 例)。同时,按胎龄分为 7 组<sup>[10]</sup>:超早产儿组(<28 周)、极早产儿组(28~31<sup>+</sup>6 周)、中期早产儿组(32~33<sup>+</sup>6 周)、晚期早产儿组(34~36<sup>+</sup>6 周)、早期足月儿组(37~38<sup>+</sup>6 周)、完全足月儿组(39~40<sup>+</sup>6 周)、晚期足月儿组(41~41<sup>+</sup>6 周);按出生体重分为 7 组<sup>[10]</sup>:超低出生体重儿组(<1 000 g)、极低出生体重儿组(1 000~<1 500 g)、低出生体重儿组(1 500~<2 500 g)、正常出生体重儿组 1(2 500~<3 000 g)、正常出生体重儿组 2(3 000~3 500 g)、正常出生体重儿组 3(3 500~<4 000 g)、巨大儿组( $\geq 4 000$  g)。为验证 NICU 病房中患感染性疾病的足月儿是否多于早产儿,按胎龄将所有新生儿分为足月儿组( $\geq 37$  周)和早产儿组(<37 周),根据是否患感染性疾病,分为感染组和非感染组。

本研究已获得中国人民解放军总医院第七医学中心伦理委员会的批准(伦理编号:2023-11)。纳入的研究对象不再重新采集干血斑样本,仅对其在实验室留存的已用于遗传代谢筛查的剩余干血斑样本进行 TREC 拷贝数检测。

**1.2 仪器与试剂** 实时荧光定量 PCR 仪(Quant Studio-6);全自动核酸检测反应体系构建系统(Neostation);高通量测序仪(Illumina Nextseq 2000);血液基因组 DNA 提取试剂盒(Tiagen);NeoMDx™ kit 试剂盒(Wallac Oy);全外显子基因捕获探针 V4.0(GenCap®)。

### 1.3 方法

**1.3.1 SCID 筛查方法** (1)血斑 DNA 提取:将样本和质控卡片常温放置至少 30 min 后开始打孔,根据布板要求进行样本和质控品的打孔(使用直径 3.2 mm 打孔冲头),每块微孔板必须有两组质控(BL、C1、C2、C3),分别位于第一个样本之前和最后一个样本之后。按血斑 DNA 提取操作 SOP 进行 DNA 提取,提取后进行 PCR 仪器设置或封口储存。(2)多重实时荧光定量 PCR 检测:通过多重实时荧光定量 PCR 扩增技术,检测干血斑 DNA 样本中的 2 个靶标序列

TREC 和 RPP30,其中 RPP30 作为监测样本扩增过程的内部对照。此外,2 个浓度质控-低浓度 TREC 和高浓度 TREC 则作为整个检测过程的对照。完成扩增后,导出每个样本(包括质控)的 Ct 值,进行数据分析和结果解读,筛查阳性结果以每  $10^5$  个细胞 TREC 拷贝数 $\leq 326$  为 cut-off 值。

**1.3.2 全外显子测序及数据分析** 筛查阳性的新生儿,从干血滤纸片提取 DNA。使用标准文库构建试剂盒进行基因组文库构建。质检合格后采用全外显子基因捕获探针,对富集文库进行高通量测序,获得原始测序数据,通过生物信息分析,筛选可能与 SCID 相关的基因突变位点。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS26.0 软件包对研究数据进行统计学分析和处理。不符合正态分布的计量资料以  $M(P_{25},P_{75})$  表示,两组比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验,多组比较采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验;计数资料以例数或百分率表示,采用  $\chi^2$  检验。胎龄和体重与 TREC 拷贝数的相关性分析采用 Spearman 相关性分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 不同性别组 TREC 拷贝数比较** 男性组新生儿 TREC 拷贝数为 1 270(711,1 926),女性组新生儿 TREC 拷贝数为 1 478(798,2 054)。两组 TREC 拷贝数比较,差异无统计学意义( $Z = -0.805, P = 0.421$ )。

**2.2 不同胎龄组 TREC 拷贝数比较** 相关性分析结果显示,胎龄与 TREC 拷贝数无相关性( $r = -0.033, P = 0.618$ );7 组不同胎龄新生儿 TREC 拷贝数比较,差异无统计学意义( $H = 8.611, P = 0.197$ );见表 1。但绘图发现,TREC 拷贝数随着胎龄的增加有增加趋势,见图 1。

| 表 1 不同胎龄组 TREC 拷贝数比较 |          |       |                                    |
|----------------------|----------|-------|------------------------------------|
| 组别                   | <i>n</i> | 占比(%) | TREC 拷贝数<br>[ $M(P_{25},P_{75})$ ] |
| 超早产儿组                | 9        | 3.96  | 1 054(494,1 298)                   |
| 极早产儿组                | 12       | 5.29  | 1 835(1 127,2 347)                 |
| 中期早产儿组               | 17       | 7.49  | 1 619(960,2 196)                   |
| 晚期早产儿组               | 49       | 21.59 | 1 551(852,2 295)                   |
| 早期足月儿组               | 57       | 25.11 | 1 257(628,1 975)                   |
| 完全足月儿组               | 74       | 32.60 | 1 307(728,1 964)                   |
| 晚期足月儿组               | 9        | 3.96  | 1 597(565,2 108)                   |
| <i>H</i>             |          |       | 8.611                              |
| <i>P</i>             |          |       | 0.197                              |

注:与超早产组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,与超早产组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

**2.3 不同出生体重组 TREC 拷贝数比较** 相关性分析结果显示,体重与 TREC 拷贝数无相关性( $r = 0.008, P = 0.902$ )。7 组不同出生体重新生儿 TREC

拷贝数比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。但 TREC 拷贝数随着出生体重的增加有增加趋势,见图 2。

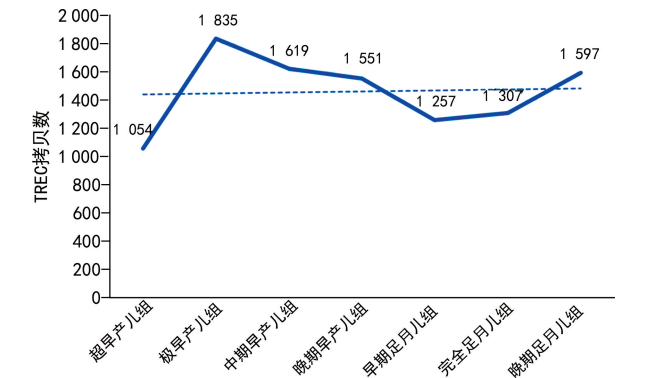


图 1 TREC 拷贝数随着胎龄增加的变化趋势

| 表 2 不同出生体重组 TREC 拷贝数比较 |          |       |                                    |
|------------------------|----------|-------|------------------------------------|
| 组别                     | <i>n</i> | 占比(%) | TREC 拷贝数<br>[ $M(P_{25},P_{75})$ ] |
| 超低体重儿组                 | 8        | 3.52  | 975(696,1 378)                     |
| 极低体重儿组                 | 17       | 7.49  | 1 619(991,2 090)                   |
| 低体重儿组                  | 51       | 22.47 | 1 467(919,2 152)                   |
| 正常体重儿组 1               | 48       | 21.15 | 1 027(593,1 898)                   |
| 正常体重儿组 2               | 63       | 27.75 | 1 388(690,2 001)                   |
| 正常体重儿组 3               | 31       | 13.66 | 1 367(968,1 970)                   |
| 巨大儿组                   | 9        | 3.96  | 1 266(691,1 871)                   |
| <i>H</i>               |          |       | 6.363                              |
| <i>P</i>               |          |       | 0.384                              |

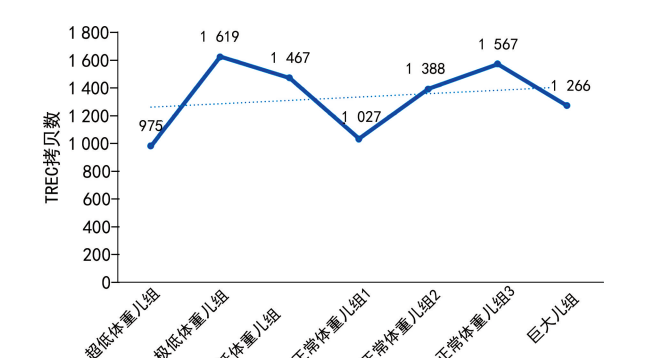


图 2 TREC 拷贝数随着出生体重增加的变化趋势

**2.4 足月儿组和早产儿组重症感染性疾病的发生情况分析** 220 例新生儿中,足月儿组 140 例,患感染性疾病的新生儿 114 例;早产儿组 87 例,患感染性疾病的新生儿 52 例。 $\chi^2$  检验结果显示,足月儿中感染性疾病患儿比例显著多于早产儿,差异有统计学意义( $\chi^2 = 12.808, P < 0.05$ )。见表 3。

**2.5 感染组和非感染组 TREC 拷贝数比较** 感染组与非感染组 TREC 拷贝数分别为  $1\,397 \pm 888$ 、 $1\,811 \pm 1\,095$ ,感染组 TREC 拷贝数显著低于非感染组,差异有统计学意义( $t = 3.996, P = 0.004$ )。

**2.6 全外显子测序结果** 全外显子测序及数据分析

发现,筛查阳性的 16 例新生儿均检测出至少 2 个常见的 ADA 突变位点,见表 4。根据 ACMG 的基因突变命名规则,ADA 基因上的突变位点可描述为:NM\_000022.4 (ADA) C. 95 + 165A > G; NM\_000022.4 (ADA) C. 36G > A (p. Val12); NM\_000022.4 (ADA) C. 363-165T > C。存在 ADA 纯合突变或复合杂合突变是 SCID 的诊断标准之一。因此,这 16 例筛查阳性新生儿均可确诊为 SCID 患儿。

表 4 16 例筛查阳性新生儿全外显子测序结果

| 病案号    | 性别 | 胎龄(周)            | 出生体重(g) | ADA 基因突变位点     |                |                |
|--------|----|------------------|---------|----------------|----------------|----------------|
|        |    |                  |         | chr20:43264703 | chr20:43264927 | chr20:43254490 |
| 933213 | 女  | 37 <sup>+2</sup> | 3 250   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 936419 | 女  | 39               | 3 200   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 875373 | 女  | 39               | 3 300   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 962831 | 男  | 33 <sup>+2</sup> | 2 100   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 937961 | 男  | 38               | 2 990   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 995072 | 女  | 39 <sup>+2</sup> | 3 380   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 945946 | 女  | 35 <sup>+3</sup> | 2 200   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 937871 | 男  | 34               | 2 285   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 933016 | 男  | 38 <sup>+6</sup> | 3 030   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 932372 | 男  | 38               | 3 400   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 943673 | 男  | 40 <sup>+4</sup> | 3 900   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 945701 | 女  | 36               | 2 650   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 998768 | 男  | 27 <sup>+3</sup> | 1 150   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 998800 | 男  | 26 <sup>+3</sup> | 740     | T-C            | C-T            | A-G            |
| 982661 | 女  | 34 <sup>+5</sup> | 1 530   | T-C            | C-T            | A-G            |
| 973614 | 男  | 40 <sup>+2</sup> | 4 120   | T-C            | C-T            | A-G            |

3 讨 论

SCID 是原发性免疫缺陷病(PID)中最严重的类型,而且 80% 以上的患者都在婴儿期发病,如未能及时免疫重建,大多数患儿会死亡。NICU 是集中治疗危重新生儿的病室,NICU 新生儿通常患有肺炎、化脓性感染、各种脑炎、败血症等较为严重的感染性疾病,同时由于新生儿本身器官及免疫功能发育不健全,加上病情危重,侵入性操作多,也更易发生院内感染,甚至是多重耐药菌感染。AMATUNI 等<sup>[7]</sup>对新生儿 SCID 的筛查结果分析发现,562 例新生儿检测结果为阳性,其中有 53%(298 例)筛查结果阳性的新生儿来自于 NICU,对初筛阳性新生儿进行外周血流式细胞术分析后,最终有 6 例确诊为 SCID,真阳性率高达 2%。所以,NICU 新生儿可能是罹患 SCID 的高危人群。同时,造血干细胞移植(HSCT)是目前治疗 SCID 最成熟和有效的方法<sup>[8,11]</sup>,而重度感染不仅是导致 SCID 患儿死亡的主要原因,也是 SCID 患儿失去 HSCT 治疗机会的主要原因。陈静<sup>[12]</sup>研究报道指

| 表 3 足月儿组和早产儿组重症感染性疾病发生情况[n(%)] |            |           |             |
|--------------------------------|------------|-----------|-------------|
| 组别                             | 感染组        | 非感染组      | 合计          |
| 足月儿组                           | 114(81.40) | 26(18.60) | 140(100.00) |
| 早产儿组                           | 52(59.80)  | 35(40.20) | 87(100.00)  |
| 合计                             | 166(73.10) | 61(26.90) | 227(100.00) |

出,由于就诊时间晚、移植时感染重,5 例 SCID 患儿经 HSCT 治疗后仅 1 例(20%)患儿存活。因此,NICU 新生儿应该作为开展 SCID 筛查的重点人群,以到达早筛查、早诊断、早治疗的目的。

本研究结果发现,不同性别的 NICU 新生儿 TREC 拷贝数无明显差异,目前尚缺乏新生儿性别是否影响 TREC 拷贝数的相关报道,然而,有多项研究通过流式细胞术对外周血淋巴细胞进行精确分型,测定总淋巴细胞和淋巴细胞各亚群[总 T 细胞(CD3<sup>+</sup>)、辅助 T 细胞(CD4<sup>+</sup>)、细胞毒 T 细胞(CD8<sup>+</sup>)、B 淋巴细胞(CD19<sup>+</sup>)等]的绝对/相对计数来探讨男性与女性新生儿之间的外周血淋巴细胞亚群是否存在差异。在性别是否影响外周血淋巴细胞亚群这一问题上,这些研究结果未达成一致。AMATUNI 等<sup>[13]</sup>研究认为,不同种族/民族背景、不同性别的新生儿(包括早产儿和足月儿)在总淋巴细胞和淋巴细胞亚群计数上无明显区别;王文第等<sup>[14]</sup>研究显示,男性和女性新生儿 CD3<sup>+</sup> 细胞百分比无明显差异,但是 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>

细胞比例及  $CD4^+/CD8^+$  比值差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；而詹文丽等<sup>[15]</sup>的研究指出,0 岁至学龄前儿童不同性别  $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^-CD19^+$  细胞比例和  $CD4^+/CD8^+$  比值差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因此,TREC 作为胸腺输出的 T 淋巴细胞的生物学标志物,性别是否会影响其拷贝数的检测结果仍有待继续探讨。

通过检测 TREC 拷贝数来进行新生儿 SCID 筛查虽然具有高度的敏感性和特异性,但是也有诸多因素可以导致假阴性和假阳性结果。Digeorge 综合征、21-三体综合征、Ataxia 综合征等多种综合征可使 TREC 拷贝数偏低,从而导致假阳性结果<sup>[16]</sup>；而由于 TCR 重排之后的相关基因(IL-2R $\gamma$ 、CD40L、ZAP70、DOCK8、MHC-II 等)突变导致的 SCID,其胸腺结构和功能正常,还有泄漏性 SCID(leaky SCID)以及由 RAG1/2 基因亚型突变(多为错义突变)导致的 Omenn 综合征,可保留部分蛋白质功能,均会使筛查出现假阴性结果<sup>[17]</sup>。此外,还有研究指出,早产儿和低出生体重儿可导致淋巴细胞减少症(TCL),从而使 TREC 拷贝数水平降低,这种 TCL 随着胎龄和体重的增加可以得到纠正<sup>[7]</sup>。

本研究结果显示,虽然 NICU 新生儿胎龄和出生体重与 TREC 拷贝数无相关性,但是随着二者的增加,TREC 拷贝数呈增加的趋势。在按胎龄分组对 TREC 拷贝数进行统计学分析时,极早产儿组、晚期早产儿组 TREC 拷贝数均高于超早产儿组,差异有统计学意义,说明早产儿的胎龄增加,TREC 拷贝数水平也增加;而不同出生体重新生儿的 TREC 拷贝数差异无统计学意义,可能原因是低出生体重儿,尤其是超低和极低出生体重儿的样本量小。

本研究还发现,早产儿 4 个组的 TREC 拷贝数均高于足月儿 3 组,低出生体重儿 4 个组的 TREC 拷贝数也均高于正常出生体重儿 3 个组,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。随后,本课题组分析了所有新生儿的病历资料,140 例足月儿(几乎也都是正常体重儿)中,有 114 例(81.40%)患感染性疾病,并且是患有新生儿败血症、新生儿重症肺炎、新生儿化脓性脑膜炎等严重的感染性疾病,而 40.20%的早产儿(几乎也都是低出生体重儿)则是由于单纯的早产、低出生体重或呼吸窘迫而入院治疗的,统计学结果也显示,患感染性疾病的足月新生儿多于早产儿,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。同时,感染组和非感染组 TREC 拷贝数比较发现,感染组 TREC 拷贝数显著低于非感染组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。严重的感染导致的中性粒细胞数量激增,淋巴细胞数量相应减少,应该是 TREC 拷贝数显著降低的原因。这也提示,当 SCID 筛查结果出现阳性时,要考虑新生儿的实际情况,避免假阳性结果的发生。这一结果,也可以解释为什么早产儿各组或低出生体重儿各组的 TREC 拷贝数要

高于足月儿各组或正常出生体重儿各组。

在 227 例 NICU 新生儿中,检测发现每  $10^5$  个细胞 TREC 拷贝数  $< 326$  的新生儿有 16 例,即 SCID 筛查疑似阳性的新生儿 16 例,对这 16 例新生儿的全外显子测序结果分析发现,每例新生儿都携带 2 个常见的腺苷脱氨酶(ADA)基因突变,可确诊为 ADA-SCID。ADA-SCID 是最常见的常染色体隐性遗传 SCID,约占 SCID 总病例数的 15%,约占常染色体隐性遗传 SCID 的 50%,属于 T-B-NK-SCID<sup>[18]</sup>,据统计,该病发病率在  $1/1\ 000\ 000 \sim 1/20$  万活产儿之间<sup>[19]</sup>。

ADA 基因位于 20q13-qter,编码一条含 363 个氨基酸残基的多肽链,目前已报道超过 65 种 ADA 基因突变,其中近 70%为错义突变,其余为无义突变及剪接突变<sup>[20]</sup>。ADA 是一种嘌呤回收酶,参与嘌呤核苷的代谢,几乎在人体所有组织细胞中都有表达,因淋巴细胞分裂迅速,其在淋巴样组织,特别是胸腺中具有非常高的活性。ADA 缺乏引起的嘌呤代谢障碍,使底物腺苷(Ado)、脱氧腺苷(dAdo)及脱氧腺苷核苷酸(dAXP)等在血浆、红细胞及淋巴组织中积聚,从而通过不同机制损害淋巴细胞的发育,导致成熟 T、B 淋巴细胞的严重不足,引发 SCID。ADA-SCID 可导致患者感音神经性听力损失、骨骼缺陷和神经发育缺陷,但其免疫学表现可能危及生命,因此,以早发性及致死性婴儿期发病最为常见。在本研究中,这 16 例 NICU 新生儿均在新生儿期死亡,也符合 ADA-SCID 的临床特点。

多重荧光定量 PCR 检测 TREC 拷贝数为 SCID 的早期筛查提供了技术支持,应用全外显子测序技术可筛选 SCID 致病基因,并明确诊断筛查疑似阳性新生儿为 SCID 患儿。在 NICU 这一特殊群体中实施 SCID 早期筛查,早期诊断,并尽早对确诊患儿开展治疗,对于改善 SCID 患儿的生存质量,提高 SCID 患儿生存率,进而降低新生儿的死亡率都有重要意义。本研究结果发现感染可能导致 SCID 筛查结果出现假阳性,在解释结果时应充分考虑新生儿的感染状况。虽然本研究仅发现新生儿的胎龄与 TREC 的拷贝数测量结果相关,但这可能是由于研究对象数量较少导致的,所以,性别、胎龄和出生体重与 TREC 拷贝数的关系仍需在扩大样本量后深入研究和验证。

## 参考文献

- [1] KUMRAH R, VIGNESH P, PATRAP, et al. Genetics of severe combined immunodeficiency[J]. Genes Dis, 2020, 7 (1): 52-61.
- [2] 吴怡隽. 重症联合免疫缺陷病的分类、早期筛查及治疗[J]. 国际儿科学杂志, 2021, 48(2): 122-126.
- [3] CHIARINI M, ZANOTTI C, SERANA F, et al. T-cell receptor and K-deleting recombination excision circles in newborn screening of T- and B-cell defects: review of the

- literature and future challenges [J]. *J Public Health Res*, 2013, 2(1): 9-16.
- [4] VAN DER BURG M, MAHLAOUI N, GASPARD H B, et al. Universal newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID) [J]. *Front Pediatr*, 2019, 18(9): 7:373.
- [5] 文旻, 王晓川. 重症联合免疫缺陷病新生儿 T 淋巴细胞受体切割环筛查概况 [J]. *临床儿科杂志*, 2017, 35(1): 73-77.
- [6] TANGYE S G, ALHERZ W, BOUSFIHA A, et al. The ever-increasing array of novel inborn errors of immunity: an interim update by the IUIS Committee [J]. *J Clin Immunol*, 2021, 41(3): 666-679.
- [7] AMATUNI G S, CURRIER R J, CHURCH J A, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia in California, 2010-2017 [J]. *Pediatrics*, 2019, 143(2): e20182300.
- [8] HEIMALL J, PUCK J, BUCKLEY R, et al. Current knowledge and priorities for future research in late effects after hematopoietic stem cell transplantation (HCT) for severe combined immunodeficiency patients: a Consensus Statement from the Second Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium International Conference on late effects after pediatric HCT [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(3): 379-387.
- [9] 杨茹莱. 原发性免疫缺陷病和脊髓性肌萎缩症临床特点及新生儿早期联合筛查实践 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2022, 30(7): 697-701.
- [10] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学 [M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 57-58.
- [11] 刘超凡, 翟晓文. 造血干细胞移植治疗原发性免疫缺陷病的进展 [J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2020, 25(1): 41-44.
- [12] 陈静. 原发性免疫缺陷病造血干细胞移植和基因治疗 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2011, 26(11): 817-820.
- [13] AMATUNI G S, SCIORTINO S, CURRIER R J, et al. Reference intervals for lymphocyte subsets in preterm and term neonates without immune defects [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(6): 1674-1683.
- [14] 王文第, 毛宝宏, 王晶晶, 等. 流式细胞术建立甘肃地区学龄前汉族儿童外周血淋巴细胞亚群相对计数的正常参考值范围 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2019, 14(3): 181-185.
- [15] 詹文丽, 杨笑涵, 郭浩, 等. 826 例 0 岁至学龄前健康儿童外周血淋巴细胞亚群分布的调查分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2019, 21(2): 180-183.
- [16] 陈迟, 张超, 周朵, 等. 重症联合免疫缺陷病 X-连锁无丙种球蛋白血症及脊髓性肌萎缩症新生儿筛查研究进展 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2023, 38(1): 58-63.
- [17] KNIGHT V, HEIMALL J R, WRIGHT N, et al. Follow-up for an abnormal newborn screen for severe combined immunodeficiencies (NBS SCID): a clinical immunology society (CIS) survey of current practices [J]. *Int J Neonatal Screen*, 2020, 6(3): 52.
- [18] 黄淑敏, 赵正言. 重症联合免疫缺陷病新生儿筛查及免疫系统重建研究进展 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2019, 48(4): 351-357.
- [19] LYSZKIEWICZ M, ZIETARA N, FREY L, et al. Human FCHO1 deficiency reveals role for clathrin-mediated endocytosis in development and function of T cells [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1031.
- [20] 关军, 胡倩倩, 王兰兰, 等. 1 种新的 ADA 基因复合杂合突变致晚发型非典型重症联合免疫缺陷病 [J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(11): 988-994.
- (收稿日期: 2023-09-25 修回日期: 2024-02-29)
- 
- (上接第 901 页)
- with bladder cancer [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 923768.
- [10] HAN Z J, LI Y B, YANG L X, et al. Roles of the CXCL8-CXCR1/2 axis in the tumor microenvironment and immunotherapy [J]. *Molecules*, 2021, 27(1): 137.
- [11] JALAA S, ZHANG T, DENG J, et al.  $\beta$ -elemene isopropanolamine derivative LXX-8250 induces apoptosis through impairing autophagic flux via PFKFB4 repression in melanoma cells [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 900973.
- [12] GAO R, LI D, XUN J, et al. CD44ICD promotes breast cancer stemness via PFKFB4-mediated glucose metabolism [J]. *Theranostics*, 2018, 8(22): 6248-6262.
- [13] WU Y, ZHANG L, BAO Y, et al. Loss of PFKFB4 induces cell cycle arrest and glucose metabolism inhibition by inactivating MEK/ERK/c-Myc pathway in cervical cancer cells [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2022, 42(6): 2399-2405.
- [14] ZHANG M, HUANG L, DING G, et al. Interferon gamma inhibits CXCL8-CXCR2 axis mediated tumor-associated macrophages tumor trafficking and enhances anti-PD1 efficacy in pancreatic cancer [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000308.
- [15] MISHRA A, SUMAN K H, NAIR N, et al. An updated review on the role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in the progression and metastasis of breast cancer [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(9): 6551-6561.
- [16] GALLAZZI M, BACI D, MORTARA L, et al. Prostate cancer peripheral blood NK cells show enhanced CD9, CD49a, CXCR4, CXCL8, MMP-9 production and secrete monocyte-recruiting and polarizing factors [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 586126.
- (收稿日期: 2023-08-18 修回日期: 2023-12-29)