



遗传代谢病串联质谱筛查 和诊治分享

浙江大学医学院附属儿童医院

遗传代谢科 黄新文



筛查方法的转变

- **衍生化**: 2008–2013. 10
- **非衍生化**: 2013. 11开始
- **优点**: 前处理简化 (时间2.5h-1h)、试剂污染减少、增加脯氨酸和琥珀酰丙酮
- **缺点**: DC (二酰基) 和OH (羟酰基) 很难分离
(C3DC+C4OH), (C4DC+C5OH), (C5DC+C6OH), 一定程度干扰了指标的判读



Cut-off值设定

- Cutoff值制定：0.5%和99.5%，不断验证
- 判读考虑因素：高温高湿（夏天），以免假阳性及假阴性

Met及Arg降解明显

酰基肉碱降解快，CO低限偏高

Clinical Biochemistry 44 (2011) 1445–1450



Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](#)

Clinical Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinbiochem



The stability of markers in dried-blood spots for recommended newborn screening disorders in the United States

B.W. Adam ^{a,*}, E.M. Hall ^{a,1}, M. Sternberg ^a, T.H. Lim ^{a,1}, S.R. Flores ^{a,1}, S. O'Brien ^{a,1}, D. Simms ^a, L.X. Li ^{a,1}, V.R. De Jesus ^{a,1}, W.H. Hannon ^b

^a Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 4770 Buford Highway NE, Atlanta, GA 30341, USA

^b CDC Retired, 4929 Duncan Lake Point, Buford, GA 30519, USA



判读优化

---不同初生儿体重/胎龄

- FPR=0.72%, PPV=2.89%
- 早产儿/低体重优化后: **FPR=0.53 %**, **PPV=4.31%**
- 变化明显的几个指标:
 - (1) phe, tyr, met, arg, C3, C0, C3DC, C5增高
 - (2) C16, C18降低



判读优化

--R4S www.clir-r4s.org

Post-Analytical Tool
VLCAD 015 2012-10-14 [Single]

Printed On: 2/17/2013 9:26 AM Participant: Minnesota
Tool Last Modified: 10/14/2012 10:33 AM Printed By: Pero Kwiatko

- 最初区域性串联质谱新筛实验室质量改进项目(美国七个州)
- 至2014年1月已发展成全球合作项目 (64个国家155个项目组及美国48个州)

- 提供Post-analytical tool等工具辅助诊断

- One condition tool

根据样本数值与正常及疾病范围重合程度积分判断疾病

NOT informative: <1%, Possibly informative: 1% -

10%, Likely: 10% - 25%, Very likely: >25%

无需截断值

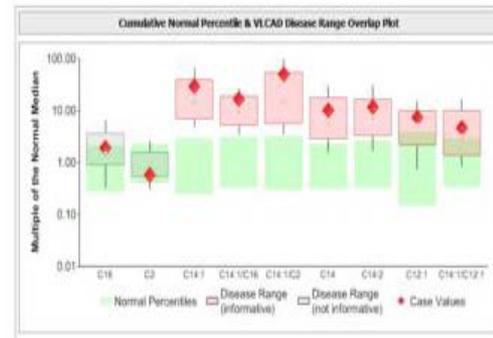
- Tool runner 多种One condition tool联合使用, 一次性最多可处理20块96孔板

- 优化后FPR=0.2 %, PPV=8.4%

Cumulative Normal Percentile & VLCAD Disease Range Overlap Values

Analyte	Normal	Overlap	Disease Range					Case Values
			1%ile	5%ile	10%ile	50%ile	99%ile	
C18	5.99	73.8 %	0.96	2.12	2.34	4.43	5.44	
C2	51.39	97.8 %	7.23	10.27	12.40	21.58	13.44	
C14:1	6.35	6.6 %	0.38	0.71	0.84	1.74	3.39	
C14:1/C18	0.12	0.0 %	0.14	0.18	0.21	0.40	0.68	
C14:1/C2	0.02	0.4 %	0.02	0.03	0.03	0.06	0.27	
C14	6.90	4.8 %	0.34	0.55	0.64	1.22	2.27	
C14:2	0.08	4.0 %	0.05	0.07	0.10	0.23	0.35	
C12:1	0.26	31.4 %	0.05	0.13	0.15	0.36	0.50	
C14:1/C12:1	4.53	42.5 %	1.32	1.75	2.16	5.12	7.20	

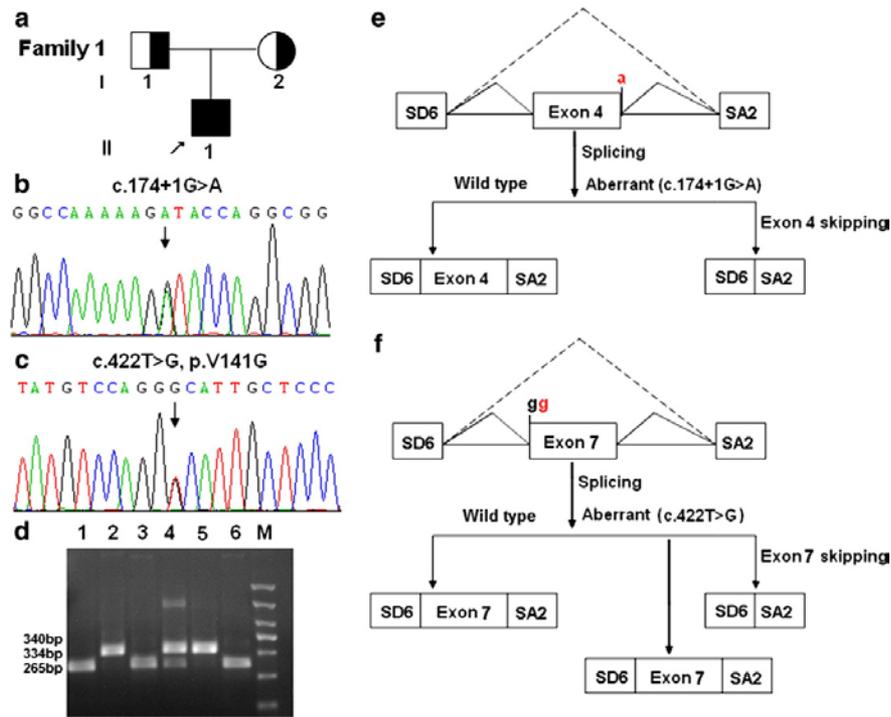
MF - DR Overlap





剪切位点突变的功能研究

- 对于一些意义不明的剪切位点突变进行外显子体外转录实验，推测突变的致病性
- MCCC1, ASS1 and ARG1 skipping and retention
- produced truncated product; in-frame mutation



Clinica Chimica Acta 438 (2015) 323–329

Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinchim



CLINICAL GENETICS An International Journal of Genetics, Molecular and Personalized Medicine

Clin Genet 2015; 88: 484–488 Printed in Singapore. All rights reserved

© 2014 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd CLINICAL GENETICS doi: 10.1111/cgge.12535

Short Report

Identification of eight novel mutations and transcript analysis of two splicing mutations in Chinese newborns with MCC deficiency

Yang L., Yang J., Zhang T., Weng C., Hong F., Tong F., Yang R., Yin X., Yu P., Huang X., Qi M. Identification of eight novel mutations and transcript analysis of two splicing mutations in Chinese newborns with MCC deficiency. Clin Genet 2015; 88: 484–488. © John Wiley & Sons A/S. Published by

L. Yang^{a,b}, J. Yang^{a,b}, T. Zhang^a, C. Weng^a, F. Hong^a, F. Tong^a, R. Yang^a, X. Yin^a, P. Yu^b, X. Huang^a and M. Qi^b

Functional analysis of novel splicing and missense mutations identified in the ASS1 gene in classical citrullinemia patients

Joseph Kagunda Kimani^{a,b}, Tianying Wei^b, Kim Chol^c, Ying Li^d, Ping Yu^b, Sheng Ye^d, Xinwen Huang^{a,*}, Ming Qi^{b,e,*}



浙江省MSMS新筛（约143万）---28种疾病

总体发病率：1:6,000

No.	病名
氨基酸代谢异常（12）	
1	苯丙酮尿症 (PKU)
2	BH4缺乏症 (BH4D)
3	高蛋氨酸尿症
4	枫糖尿症 (MSUD)
5	希特林蛋白缺乏致新生儿肝内胆汁淤积症 (NICCD)
6	瓜氨酸血症
7	精氨酸代琥珀酸血症
8	精氨酸血症
9	鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏症 (OTCD)
10	氨甲酰磷酸合成酶缺乏症 (CPS)
11	脯氨酸血症 I 型
12	酪氨酸血症 I 型



No.	病名
有机酸代谢异常 (9)	
1	甲基丙二酸血症 (MMA)
2	丙酸血症 (PA)
3	异戊酸血症 (IVA)
4	b-酮硫解酶缺乏症
5	戊二酸血症 I 型 (GAI)
6	3-甲基巴豆酰辅酶A羧化酶缺乏症 (MCCD)
7	异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症
8	3-羟基3-甲基戊二酸尿症 (HMG)
9	多种羧化酶缺乏症 (MCD)



No.	病名
脂肪酸代谢异常 (7)	
1	原发性肉碱缺乏症 (PCD)
2	短链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症 (SCAD)
3	中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症 (MCAD)
4	极长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症 (VLCAD)
5	多种酰基辅酶A脱氢酶缺乏症 (MACD)
6	肉碱棕榈转移酶I (CPT I)
7	肉碱棕榈转移酶II (CPT II)



氨基酸代谢异常

--HPA

- 串联质谱筛查中**发病率最高**，占23%
- 氨基酸代谢中最常见，56%
- 分型：PAH 58例，占89%，PTPS 5例 8%，DHPR 2例 3%
- 临床高危筛查确诊病例主要为语言落后、智力发育落后，多为PAH缺乏



氨基酸代谢异常

--脯氨酸血症I型

- 氨基酸代谢中发病率**排第二**
- 非衍生化开始至今共筛查64万例，确诊6例，发病率1/10万（*PRODH*基因）
- 均无症状，避免高蛋白饮食
- 临床没有确诊病例



氨基酸代谢异常

--NICCD

- 氨基酸代谢中发病率**排第三**
- 携带者频率： 1/60(日本)； 1/65(推测中国)
- 发病率： 1/17,000-80,000(日本)； 1/14,400 (推测中国)
- 确诊12例， **发病率1/11万**, 上海:筛查100万， 确诊6例， **1/16万**
- 特异性氨基酸 (cit) **新生儿期有时不增高** (新筛正常3例， 1月左右发病)
- 四病筛查 (不做MSMS) 发现2例HPA, 通过MSMS发现为NICCD
- 临床确诊68例， **是临床确诊代谢病最多的疾病**



氨基酸代谢异常

--NICCD

与瓜氨酸血症I型及精氨酸代琥珀酸血症及半乳糖血症的鉴别

- **NICCD常常cit增高不明显，伴多个氨基酸增高**：1例初筛69, 3周复查迅速上升为1110，降至693时合并蛋氨酸增高，胆汁淤积、AFP、凝血功能异常
- 瓜氨酸血症I型多数接近或者**超过1000**，例外：初筛190，复查134
- 需要和半乳糖血症鉴别
- 若果血氨增高，加服精氨酸，待基因检测或结合临床及其他生化检测明确诊断后制定长期治疗方案



氨基酸代谢异常

--OTCD

- 新筛仅仅确诊1例，指标特异性不好，可能漏筛，**但临床确诊遗传代谢病数量第三(12例)**
- 多数在新生儿期发病，抽搐昏迷，多数死亡或放弃治疗，婴儿期及幼儿发病预后基本良好
- Case: 女2y3m，因“烦躁不安伴不睡10天”入院，GPT 1330U/L，**血氨**400 $\mu\text{mol/L}$ ，MSMS正常，**尿嘧啶和乳清酸**均增高
- 反复发作的高氨血症，饮食和药物控制不好的，及早肝脏移植



氨基酸代谢异常

--其他氨基酸代谢障碍疾病

- Met筛查均为MAT1基因突变，临床没有确诊病例
- MSUD 10例，其中新筛8例，除2例确诊时无症状其他**均为**生后4-5天发病
- 基因测定8例：*BCKDHB* (7), *DBT* (1)
- 2例确诊时虽然Leu很高，但没有临床症状，预后较好，随访1岁多均发育良好
- 其余均在确诊时明显神经系统症状，结局：死亡/放弃治疗/严重发育落后



有机酸代谢异常

--甲基丙二酸血症 (MMA)

- 确诊27例，1/52000；有机酸发病率首位
- 单纯型（30%）--VB12无效：**Mut型**，多数发育落后，饮食治疗
- 合并型（70%）--VB12有效：**cb1C (MMACHC)**，多数发育落后
- 合并型虽然C3及其比值多数可以正常，同型半胱氨酸多数降到50以下，但很难达到正常，常常有发育落后
- 高危筛查位居第二，多在新生儿发病，也由于发育落后，脑瘫、癫痫诊断



有机酸代谢异常

--甲基丙二酸血症（MMA）

- C3增高的处理步骤（经验分享）
- 蛋氨酸降低提示合并型
- 尿GCMS、血同型半胱氨酸送检后立刻每日肌注1mg VB12，连续3-5天
- 同型半胱氨酸值是否正常，如果正常，无效型或丙酸血症，特殊奶粉治疗，等待尿GCMS和基因结果；如果增高，有效型，继续B12隔日肌注，等待尿GCMS和基因结果，确定最终治疗方案



Case-甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症（严重）

- 女，7岁，严重呕吐入院继而深度昏迷，多器官衰竭（呼衰、心衰、肺水肿，肾衰，肝脾肿大，上消化道出血），初诊脑干脑炎
- 10天后意识恢复，记忆力正常，排除脑炎，其他脏器陆续恢复，但肾脏功能未好转，且持续高血压
- MSMS提示C3高2倍左右，尿GCMS正常，血同型半胱氨酸100—MMA
- cb1C突变
- 结合病情综合分析、诊断



有机酸代谢异常

--C5OH增高疾病鉴别

- MCC: C5OH; 确诊25例, 1/57000; *MCC1: MCC2=19:6*, 均无临床症状, 临床没有确诊病例
- HMG +C6DC
- 多种羧化酶缺乏症 (MCD): 包括生物素酶缺乏 (BTD) 和全羧化酶合成酶缺乏 (HCSH): **部分伴C3及其比值增高**
- 3-甲基戊烯二酸尿症: C5OH
- B-酮硫解酶+C5:1



Case--HMG

- 男，G4P4，出生正常，前3个（2女1男婴儿期不明原因猝死（3d、8d、11m）
- 因新生儿筛查指标异常召回，发育正常，无症状
- 头颅MRI：两侧顶枕和中央半卵圆中心白质T2信号偏高，脑白质髓鞘化不良
- 基因突变：c. 122G>A纯合突变
- 随访2岁多发育正常

疾病时期	血串联质谱				尿气相色谱质谱			
	C5-OH <0.6	C6-DC <0.14	C5-OH /C3 <0.6	C5-OH /C8<32	3-羟3-甲 基戊二 酸 <25	3-甲基戊 烯二酸 <4.2	3-羟基异 戊酸 <2.3	3-甲基戊 二酸 <4.5
初诊	4.65	1.24	1.85	92.8	287.5	191.8	149.4	184.5
肺炎	3.52	0.9	1.58	39.1	313.6	216.8	119.3	127.0
稳定	0.8~2.44	0.6~0.7	0.6~2.5	22~40	21.2~48	181~142	0.0~19.7	68~74



有机酸代谢障碍性疾病

-戊二酸血症I型

- GA-1 新筛4例，无症状，临床多以**抽搐、发育落后、头围增大**发病，治疗效果**好**
- 女，连续三年发作性“乏力，肌力下降”入院（2.6，3.5，4.5）
- 发作程度逐次加重，病发前有感冒病史，同时伴有酱油色蛋白尿，Hb正常范围（每次发病前都吃过较多量羊肉）
- 发作时肌酸激酶，心肌酶谱明显增高，血尿，蛋白尿，血肌红蛋白明显增高

3次肌酶高值及CKMB

108640U/L, CKMB1985U/L

43440U/L, CKMB430U/L

175640U/L, CKMB1150U/L



有机酸代谢障碍性疾病

—其他有机酸代谢障碍

- 异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症 8例，有机酸血症发病率排第三位，均没有临床症状，临床没有确诊病例
- IVA 新筛5例，均无症状，临床常常以不明原因酸中毒及出血发病（代谢+全血下降，特别血小板降低），治疗效果好



脂肪酸代谢障碍

--原发性肉碱吸收障碍

- 串联质谱：Co降低伴其他酰基肉碱降低
- 亚裔常见，日本（1/4万）
- 确诊57例，发病率1/22384，脂肪酸代谢异常最常见疾病，在筛查的27种疾病中发病率仅次于MMA，除一例停药死亡，其余均无症状、发育正常，潜在突发致死性疾病
- 临床以脑病、心肌病及瑞氏综合征（抽搐，肝脏肿大，血氨增高，GPT增高，肝活检脂肪变性）
- 终身补充左旋肉碱及多吃牛羊肉，维持Co在一定范围



母亲PCD筛查的必要性

- 确诊32例
- 儿童CO指标在3.9–13.98
- 母亲指标在1.39–5.87
- 母亲坚持治疗指标可以达到8–9
- 猝死的可能
- 终身治疗、监测



脂肪酸代谢障碍

-短链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症（SCAD）

- SCAD: 12例，发病率1/11万，脂肪酸代谢中发病率排第二位，均无症状
- 临床没有病例
- 鉴别异丁酰辅酶A脱氢酶缺乏症及乙基丙二酸血症，均为C4增高，尿GCMS改变不典型（尿乙基丙二酸及异丁酰甘氨酸），常常需要基因测定明确诊断



脂肪酸代谢障碍

-其他脂肪酸代谢障碍性疾病

- MCAD 4例，发育正常
- CPT I 及 VLCAD各3例，发育正常
- CPT II 2例均死亡，及时早期干预预后不良
- 以上四种疾病均未发现临床确诊病例
- GA-II 2例，治疗后无症状，临床发现肌无力改变的2例病例



小结

- 串联质谱群体筛查实验室数据需要不断优化，减少假阳性率及假阴性率
- 鉴别诊断非常重要
- 疑似时可以暂时性治疗，等确诊后长期终身随访及治疗
- 遗传咨询，指导产前诊断



谢谢!



E-mail: xinwenhuang@126.com