

· 妇幼保健 ·

53例苯丙酮尿症新生儿体格、智力和基因特征

刘丽迎¹, 康文娟^{2,3}, 董勤², 张晓刚², 阎亚琼¹

1.山西医科大学公共卫生学院, 山西 太原 030001; 2.山西省儿童医院(山西省妇幼保健院), 山西 太原 030013;
3.山西省出生缺陷及罕见病临床医学研究中心, 山西 太原 030013

摘要: **目的** 分析53例苯丙酮尿症(PKU)新生儿体格、智力发育及苯丙氨酸羟化酶(PAH)基因突变特征,为PKU的防治及遗传咨询提供参考。**方法** 收集2018—2021年山西省儿童医院新生儿疾病筛查中心确诊并规范治疗至2岁的53例PKU患儿资料;根据世界卫生组织生长曲线图2006版评估体重、身高发育水平;采用WS/T 580—2017《0岁~6岁儿童发育行为评估量表》评估智力发育水平;检测患儿及其父母基因突变情况;描述性分析PKU患儿体格、智力发育及基因特征。**结果** 53例PKU患儿,男童29例,女童24例;经典PKU 36例,轻度PKU 17例;农村30例,城市23例;开始治疗年龄为30(10)d,确诊时血苯丙氨酸浓度为(1 507±685) μmol/L。身高发育正常52例,占98.11%;体重和智力发育全部正常。城市患儿功能区发育商(DQ)高于农村患儿(94.92±8.57和87.65±6.57, $t=-3.498$, $P=0.001$)。轻度PKU患儿DQ高于经典PKU患儿(95.55±8.76和88.57±7.11, $t=-3.095$, $P=0.003$)。PAH基因突变分析发现37种突变,主要分布在第3、6、7、11、12外显子和第4内含子上;高频突变位点为c.728G>A、c.611A>G和c.1197A>T,其中有3个新发现的变异c.674C>G、c.1316-2A>C和c.1069T>C。**结论** PKU患儿规范治疗后,体格和智力发育可达到正常儿童水平,这53例患儿PAH基因突变以c.728G>A、c.611A>G、c.1197A>T为主,并发现了新突变位点c.674C>G、c.1316-2A>C和c.1069T>C。

关键词: 苯丙酮尿症; 苯丙氨酸羟化酶; 基因型; 体格发育; 智力

中图分类号: R722.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087(2022)09-0955-04

Physical, intellectual and genetic characteristics of 53 neonates with phenylketonuria

LIU Liying¹, KANG Wenjuan^{2,3}, DONG Qin², ZHANG Xiaogang², YAN Yaqiong¹

1.School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 2.Shanxi Children's Hospital (Shanxi Maternal and Child Health Hospital), Taiyuan, Shanxi 030013, China; 3.Shanxi Clinical Medical Research Center for Birth Defects and Rare Diseases, Taiyuan, Shanxi 030013, China

Abstract: Objective To investigate the physical and intellectual development and mutation characteristics of the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene among 53 newborns with phenylketonuria (PKU), so as to provide insights into the management and genetic counseling of PKU. **Methods** The medical records of 54 children with definitive diagnosis of PKU and standardized therapy until 2 years at the Center for Neonatal Disease Screening of Shanxi Children's Hospital from 2018 to 2021 were collected. Newborns' body weight and height developments were evaluated using the World Health Organization growth chart (2006 version), and the intellectual development was assessed using the national criteria of Development Behavior Assessment Scale among Children at Ages of 0 to 6 Years (WS/T 580-2017). The gene mutations were detected among neonates and their children, and the physical, intellectual developments and genetic characteristics of neonates with PKU were descriptively analyzed. **Results** The 53 PKU cases included 29 male children and 24 female children, 36 cases with classic PKU and 17 cases with mild PKU, and 30 cases from rural areas and 23 cases from urban areas. The study subjects had a median age of 30 (10) d at initial therapy, and a mean blood

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.09.019

基金项目: 山西省自然科学基金面上项目(20210302124434)

作者简介: 刘丽迎, 硕士研究生在读

通信作者: 阎亚琼, E-mail: yangyq1968@163.com

phenylalanine concentration of $(1\ 507 \pm 685)$ $\mu\text{mol/L}$ at definitive diagnosis. There were 52 cases with normal height developments (98.11%), and all cases had normal weight and intellectual developments. The mean developmental functional quotient (DFQ) was significantly greater among urban children with PKU than among rural children $[(94.92 \pm 8.57)$ vs. (87.65 ± 6.57) ; $t = -3.498$, $P = 0.001$], and the mean DFQ was significantly higher among children with mild PKU than among those with classic PKU $[(95.55 \pm 8.76)$ vs. (88.57 ± 7.11) ; $t = -3.095$, $P = 0.003$]. There were 37 mutations detected in the PAH gene, which were mainly distributed in exons 3, 6, 7, 11, 12 and intron 4. Three high-frequency mutation sites were detected, including c.728G>A, c.611A>G and c.1197A>T, including three novel mutations (c.674C>G, c.1316-2A>C and c.1069T>C). **Conclusions** Following standardized treatment, the children with PKU have comparable physical and intellectual developments as compared to normal children. c.728G>A, c.611A>G and c.1197A>T were predominant mutations in the PAH gene among these 53 children with PKU, and three novel mutations were identified, including c.674C>G, c.1316-2A>C and c.1069T>C.

Keywords: phenylketonuria; phenylalanine hydroxylase; genotype; physical development; intelligence

苯丙酮尿症 (phenylketonuria, PKU) 是一种常染色体隐性遗传性疾病, 由苯丙氨酸羟化酶 (phenylalanine hydroxylase, PAH) 基因变异导致肝酶 L-苯丙氨酸 4-羟化酶活性不足而致病^[1]。PKU 在世界范围内患病率平均为 1/10 000, 在我国患病率为 1/13 500^[2]。PAH 缺乏患儿的苯丙氨酸旁路代谢增强, 可导致不可逆的体格和智力发育损害。国内研究结果表明, PKU 患儿经规范治疗后, 体格和智力发育较正常儿童无明显异常^[3-4], 但有国外文献报道, 临床上依然存在生长发育迟缓、次优的体格智力表现^[5]。此外, 随着我国疾病谱的改变和对出生缺陷基因检测体系的重视, PKU 的诊断逐步从生化诊断转变为基因诊断^[6], 明确基因型有利于指导疾病临床分型及预后。PAH 基因变异具有明显的遗传异质性, 我国不同地区基因突变情况均有差异^[7]。本研究针对 53 例规范治疗至 2 岁的 PKU 患儿的体格生长和智力发育特征及 PAH 缺乏症基因突变特点进行分析, 为 PKU 的防治及遗传咨询提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源 PKU 患儿资料来源于山西省儿童医院新生儿疾病筛查中心。本研究通过山西省儿童医院伦理委员会审查, 审批号: IRB-KYYN-2021-001。

1.2 方法

1.2.1 PKU 筛查诊断 新生儿出生 72 h 后 (哺乳 6~8 次以上) 采集足跟血, 制成干血滤纸片, 采用荧光法检测血苯丙氨酸浓度。血苯丙氨酸浓度连续 2 次 > 120 $\mu\text{mol/L}$ 确诊为高苯丙氨酸血症 (hyperphenylalaninemia, HPA); 进一步根据尿蝶呤分析、血二氢蝶啶还原酶分析和 PAH 基因检测, 排除四氢生物蝶呤缺乏症和继发性 HPA, 诊断为 PAH 缺乏症。血苯丙氨酸浓度为 $120 \sim < 360$ $\mu\text{mol/L}$ 为轻度 HPA;

$360 \sim < 1\ 200$ $\mu\text{mol/L}$ 为轻度 PKU; $\geq 1\ 200$ $\mu\text{mol/L}$ 为经典 PKU^[8]。

1.2.2 基因突变检测 抽取患儿及其父母的外周抗凝血 2 mL, 制备基因组 DNA。纯化扩增后, 对 HPA 患儿突变位点的全外显子组采用 IDT The xGen Exome Research Panel v1.0 全外显子捕获芯片, 经 Illumina NovaSeq 6000 测序仪测序, 并进行序列比对和分析^[9]。采用 Sanger 测序法验证患儿父母的基因。

1.2.3 体格和智力发育评估 根据世界卫生组织 (WHO) 生长曲线图 2006 版^[10] 评估体重、身高, 并划分为上 ($>$ 第 97 百分位数)、中上 (第 75~97 百分位数)、中 (第 25~<75 百分位数)、中下 (第 3~<25 百分位数) 和下 ($<$ 第 3 百分位数) 5 个等级, 中下等级及以上为体格发育正常^[11]。采用 WS/T 580—2017 《0 岁~6 岁儿童发育行为评估量表》^[12] 评估智力发育水平, 包括大运动、精细运动、适应能力、语言和社交行为 5 个能区。以功能区发育商 (development quotient, DQ) 为评估指标, $DQ > 130$ 为优秀; $110 \sim 129$ 为良好; $80 \sim 109$ 为中等; $70 \sim 79$ 为临界偏低; < 70 为智力发育障碍; ≥ 75 为智力发育正常。

1.2.4 描述性分析 纳入出生日期为 2018—2021 年, 坚持规范治疗至 2 岁并进行基因测序的 53 例 PKU 患儿, 收集性别、居住地、家庭人均月收入、父母文化程度、确诊时血苯丙氨酸浓度、开始治疗年龄、2 岁时的体格和智力发育信息。采用描述性流行病学方法分析 53 例患儿的体格、智力发育水平及 PAH 基因突变特征。

1.3 统计分析 采用 SPSS 26.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 组间比较采用 t 检验; 不服从正态分布的采用中位数和四分位数间距 [$M (Q_r)$] 描述。以 $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 53例PKU患儿中,经典PKU 36例,占67.92%;轻度PKU 17例,占32.08%。男童29例,女童24例,男女性别比为1.21:1。开始治疗年龄 $M(Q_R)$ 为30(10)d,确诊时血苯丙氨酸浓度为 $(1\ 507\pm 685)\ \mu\text{mol/L}$ 。患儿母亲初中及以下学历21例,占39.62%,高中/中专18例,占33.96%,大专及以上14例,占26.42%。父亲初中及以下学历17例,占32.08%,高中/中专14例,占26.42%,大专及以上22例,占41.51%。居住在农村30例,占56.60%;城市23例,占43.40%。家庭人均月收入<1 500元11例,占20.75%;1 500~<3 000元19例,占35.85%; $\geq 3\ 000$ 元23例,占43.40%。

2.2 PKU患儿体格发育水平分析 身高发育正常52例,占98.11%;1例身高发育评级为下;中等身高比例最高,为58.49%。体重发育全部正常,其中,中等体重比例最高,为64.15%。见表1。

表1 53例PKU患儿体格发育水平

Table 1 Physical development of 53 neonates with PKU

项目 Item	发育等级 Development level [n (%)]				
	上 Top	中上 Above average	中 Average	中下 Below average	下 Low
身高 Height	3 (5.66)	12 (22.64)	31 (58.49)	6 (11.32)	1 (1.89)
体重 Weight	2 (3.77)	15 (28.30)	34 (64.15)	2 (3.77)	0 (0)

2.3 PKU患儿智力发育水平分析 智力发育全部在正常范围,其中评级为中等51例,占96.23%;良好1例,临界偏低1例。城市患儿DQ值高于农村患儿 ($P<0.05$);轻度PKU患儿DQ值高于经典PKU患儿 ($P<0.05$)。见表2。

2.4 PAH基因突变特征 检出37种PAH基因突变,98个突变位点。其中1例发现3个突变位点,占1.89%;43例发现2个突变位点,占81.13%,均为复合杂合突变;9例发现1个突变位点,占16.98%。高频突变位点为c.728G>A、c.611A>G和c.1197A>T,新发现c.674C>G、c.1316-2A>C和c.1069T>C。36例经典PKU患儿中,c.728G>A突变率最高,为12.68%(9/71);其次为c.1197A>T,为8.45%(6/71)。17例轻度PKU患儿中,c.728G>A突变率最高,为22.22%(6/27);其次为c.721C>T,

表2 53例PKU患儿智力发育水平比较

Table 2 Comparison of intellectual development among 53 neonates with PKU

项目 Item	例数 Cases	DQ ($\bar{x}\pm s$)	t值	P值
PKU分型 Classification of phenylketonuria			-3.095	0.003
经典 Classic	36	88.57 \pm 7.11		
轻度 Mild	17	95.55 \pm 8.76		
开始治疗年龄 Age of starting treatment			1.282	0.206
1月龄前 Under 1 month old	27	92.22 \pm 8.46		
1月龄后 Over 1 month old	26	89.33 \pm 7.97		
居住地 Place of residence			-3.498	0.001
农村 Rural area	30	87.65 \pm 6.57		
城市 Urban area	23	94.92 \pm 8.57		

为14.81%(4/27)。PAH基因突变分布在第3、6、7、11、12外显子以及第4内含子上,其中第7外显子最多,为34个;其次为第11外显子,为12个。

3 讨论

本次纳入研究的53例PKU患儿2岁时体重和智力发育全部正常,52例(98.11%)身高发育正常,提示坚持低苯丙氨酸饮食等规范治疗,可维持患儿正常生长发育^[2]。53例患儿中,轻度PKU患儿智力发育优于经典PKU患儿,提示了控制血苯丙氨酸浓度的必要性。相关研究报道,PKU患儿开始治疗时间每延迟4周会导致智商下降4分,国外学者建议新生儿出生10d内接受治疗^[13],但本研究尚未发现1月龄前后智力发育的差异,可能由于53例患儿开始治疗年龄均在30d左右,治疗时间较早,对智商的影响较小。另外,患儿的智力发育与居住地相关,与相关研究结果^[14]一致。

PAH基因发生的致病性突变可能是PKU发生的主要原因,此突变在人群中发生率较高,因此,识别此突变可作为PKU筛查的有效措施之一^[15]。本研究证实了PAH基因存在遗传异质性,53例患儿中c.728G>A、c.611A>G、c.1197A>T为相对高频突变。c.728G>A突变频率最高,与青岛^[9]、四川^[16]、内蒙古^[17]等地HPA患儿的PAH基因突变特征一致。c.728G>A、c.611A>G高频突变特征与WANG等^[18]分析的我国人群HPA筛查情况相似。提示山西省在开展PAH产前基因诊断或进行相关基因突变研究

时,需要重点关注上述突变位点。此外,本研究发现3个新发现的变异位点,分别为c.674C>G、c.1316-2A>C和c.1069T>C,尚未在HGMD、ClinVar、PAH基因数据库(<http://biopku.org/home/pah.asp>)及国内外文献中查到。

经规范治疗后,PKU患儿2岁时体格和智力发育可维持在正常范围内,在城市居住及确诊时血苯丙氨酸浓度较低的情况下,智力发育表现往往更好。53例患儿的基因检测结果有助于完善山西省PAH基因图谱,提高患儿的诊断准确率。早发现,早诊断,早治疗,明确疾病分型,合理饮食管理,将促进PKU患儿体格和智力发育接近正常儿童。今后研究可在扩大样本量的基础上重点分析不同年龄PKU患儿的特征,以提供更多的临床诊治依据。

参考文献

- [1] COUCE M L, SÁNCHEZ-PINTOS P, VITORIA I, et al. Carbohydrate status in patients with phenylketonuria [J/OL]. *Orphanet J Rare Dis*, 2018, 13 (1) [2022-07-27]. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0847-x>.
- [2] VAN SPRONSEN F J, BLAU N, HARDING C, et al. Phenylketonuria [J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7 (1) [2022-07-27]. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00267-0>.
- [3] 裴晶晶, 王冉, 郭冰冰, 等. 41例苯丙酮尿症患儿饮食治疗效果评估 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2020, 28 (7): 780-783.
PEI J J, WANG R, GUO B B, et al. Evaluation of dietary therapy in 41 children with phenylketonuria [J]. *Chin J Child Health Care*, 2020, 28 (7): 780-783.
- [4] 朱玲, 杨建平, 董勤, 等. 97例苯丙酮尿症患儿的治疗效果 [J]. *中华围产医学杂志*, 2015, 18 (3): 200-203.
ZHU L, YANG J P, DONG Q, et al. Outcomes of 97 cases of phenylketonuria [J]. *Chin J Perinatal Med*, 2015, 18 (3): 200-203.
- [5] THIELE A G, GAUSCHE R, LINDENBERG C, et al. Growth and final height among children with phenylketonuria [J/OL]. *Pediatrics*, 2017, 40 (5) [2022-07-27]. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-0015>.
- [6] 杨茹莱, 沈亚平, 陈迟, 等. 2009—2021年浙江省新生儿遗传代谢病基因型分析 [J]. *预防医学*, 2022, 34 (8): 760-764.
YANG R L, SHEN Y P, CHEN C, et al. Genotypes and prognosis of inherited metabolic diseases in Zhejiang Province from 2009 to 2021 [J]. *Prev Med*, 2022, 34 (8): 760-764.
- [7] 王冬娟, 张娟, 刘浩, 等. 重庆部分地区苯丙氨酸羟化酶缺乏症患儿基因突变分析 [J]. *第三军医大学学报*, 2021, 43 (9): 876-882.
WANG D J, ZHANG J, LIU H, et al. Gene mutations in children with phenylalanine hydroxylase deficiency: an analysis of 45 cases in some regions of Chongqing [J]. *Acta Acad Med Mil Ter*, 2021, 43 (9): 876-882.
- [8] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查学组, 中华医学会儿科学分会临床营养学组, 中国医师协会医学遗传医师分会临床生化遗传专业委员会, 等. 苯丙氨酸羟化酶缺乏症饮食治疗与营养管理共识 [J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57 (6): 405-409.
- [9] 吕金峰, 候方, 王伟青, 等. 2013—2019年青岛市新生儿高苯丙氨酸血症筛查情况及基因突变分析 [J]. *山东医药*, 2020, 60 (23): 76-78.
LÜ J F, HOU F, WANG W Q, et al. Hyperphenylalaninemia screening and gene mutation analysis among newborns in Qingdao City from 2013 to 2019 [J]. *Shandong Med J*, 2020, 60 (23): 76-78.
- [10] WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age [J]. *Acta Paediatr*, 2006, 95 (Suppl.450): 76-85.
- [11] 霍亭竹, 毛萌. 儿童体格生长评价相关问题 [J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57 (2): 158-160.
HUO T Z, MAO M. Common problems in child growth assessment [J]. *Chin J Pediatr*, 2019, 57 (2): 158-160.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 0岁~6岁儿童发育行为评估量表: WS/T 580—2017 [S]. 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. Developmental scale for children aged 0-6 years: WS/T 580-2017 [S]. 2017.
- [13] VAN WEGBERG A M J, MACDONALD A, AHRING K, et al. The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment [J/OL]. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12 (1) [2022-07-27]. <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0685-2>.
- [14] 朱玲, 杨建平, 董勤, 等. 山西省新生儿疾病筛查中心十年苯丙酮尿症患儿治疗效果评估 [J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17 (3): 197-201.
ZHU L, YANG J P, DONG Q, et al. Outcomes of children with phenylketonuria detected by newborn screening program [J]. *Chin J Gen Pract*, 2018, 17 (3): 197-201.
- [15] ALIBAKHSHI R, MOHAMMADI A, SALARI N, et al. Spectrum of PAH gene mutations in 1 547 phenylketonuria patients from Iran: a comprehensive systematic review [J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36 (5): 767-780.
- [16] 张亚果, 叶飘, 欧明才, 等. 四川省部分地区43例高苯丙氨酸血症患儿相关基因突变分析 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2020, 28 (11): 1255-1258, 1262.
ZHANG Y G, YE P, OU M C, et al. Genetic analysis of 43 children with hyperphenylalaninemia in some regions of Sichuan [J]. *Chin J Child Health Care*, 2020, 28 (11): 1255-1258, 1262.
- [17] 侯丽青, 冀云鹏, 朱博, 等. 内蒙古地区汉族PKU患儿苯丙氨酸羟化酶基因突变分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31 (4): 464-469.
HOU L Q, JI Y P, ZHU B, et al. Analysis of mutation in phenylalanine hydroxylase gene in the Han ethnic group in Inner Mongolia [J]. *Chin J Woman Child Health Res*, 2020, 31 (4): 464-469.
- [18] WANG X, WANG Y, MA D, et al. Neonatal screening and genotype-phenotype correlation of hyperphenylalaninemia in the Chinese population [J/OL]. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16 (1) [2022-07-27]. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01846-w>.

收稿日期: 2022-04-24 修回日期: 2022-07-27 本文编辑: 徐文璐