

· 论著 · 系统性疾病 ·

高甲硫氨酸血症串联质谱筛查切值的建立与地区人群特异性分析*

刘正美 张玲* 张铸业 石婧 尹亚茹 袁代莎 马艳 杨水平 吕菊 唐克桐

贵州省妇幼保健院新生儿疾病筛查中心(贵州 贵阳 550001)

【摘要】目的 探讨串联质谱(MS/MS)技术检测新生儿高甲硫氨酸血症指标甲硫氨酸(Met)的影响因素,制定贵州省部分地区Met的有效切值。方法 纳入2022年10月至2023年8月期间做MS/MS筛查的99888名新生儿的检测数据,通过分析性别、胎龄、地域、体重及季节对Met的影响,采用多元线性回归方法及百分位数法确定Met的切值。结果 不同性别、胎龄、体重及季节新生儿血Met值之间差异具有统计学意义($P<0.05$);除黔东南和六盘水、铜仁、贵阳,六盘水和贵阳,铜仁和贵阳外,其余地域间的新生儿血Met值比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);在性别、胎龄、地域、体重及季节这5个因素中,季节对新生儿血Met值的影响最大;最终,将贵州省部分地区MS/MS筛查Met切值制定为 $42\mu\text{mol/L}$ 。结论 贵州省新生儿高甲硫氨酸血症MS/MS筛查切值的建立,显著提升了该地区筛查的准确性和特异性,为西部少数民族聚居地的遗传代谢病防控提供了科学依据。

【关键词】高甲硫氨酸血症;甲硫氨酸;串联质谱;切值

【中图分类号】R72

【文献标识码】A

【基金项目】贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzkwj2024-489)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2026.6.059

Establishment of Tandem Mass Spectrometry Screening Cut-off Values for Hypermethioninemia and Population Specificity in Area*

LIU Zheng-mei, ZHANG Ling*, ZHANG zhu-ye, SHI Jing, YIN Ya-ru, YUAN Dai-sha, MA Yan, YANG Shui-ping, LV Jv, TANG Ke-tong.

Neonatal Disease Screening Center, Guizhou Maternal and Child Health Hospital, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Abstract: **Objective** To investigate the influence factors of Tandem mass spectrometry (MS/MS) in the detection of methionine (Met) in neonates with Hypermethioninemia, formulation of Effective Cut-off Values of Met in Some Areas of Guizhou Province. **Methods** Included in the test data of 99,888 newborns screened by tandem mass spectrometry by the Guizhou Provincial Neonatal Disease Screening Center from October 2022 to August 2023, the effects of sex, gestational age, region, weight and season on Met were analyzed, the effective Cut-off Values of Met was determined by multiple linear regression and percentile method. **Results** There are significant differences in Met values among different genders, gestational ages, weights, and seasons ($P<0.05$); except for Qiandongnan and Liupanshui, Tongren, Guiyang, Liupanshui and Guiyang, Tongren and Guiyang, the comparisons of neonatal blood Met concentrations between other regions were all statistically significant ($P<0.05$); among the five factors of gender, gestational age, region, weight, and season, season has the greatest impact on neonatal blood Met concentration; finally, the Met cutoff value for tandem mass spectrometry screening in some areas of Guizhou Province was set at $42\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Establishment of Tandem Mass Spectrometry Screening Cut-off Values for Neonatal Hypermethioninemia in Guizhou Province, Significantly improved the accuracy and specificity of screening in the region, It provides a scientific basis for the prevention and control of genetic metabolic diseases in the areas inhabited by ethnic minorities in the west of China.

Keywords: Hypermethioninemia; Methionine; Tandem mass Spectrometry; Cut-off Values

全球新生儿遗传代谢病(inborn errors of metabolism, IEM)发病率约1/2500活产儿。罕见氨基酸遗传代谢病高甲硫氨酸血症(hypermethioninemia)发病率地域差异明显,为1/10万~1/20万^[1-2]。该病以常染色体隐性遗传为主,少数为显性遗传;多数患者仅血Met升高、无明显症状,少数可见生长发育迟缓、呼吸异味^[3-5]。

MS/MS可通过滤纸干血斑单次检测40余项指标,筛查多种遗传代谢性疾病。以血浆Met升高为特征的高甲硫氨酸血症,也可经该技术早期筛查发现。据文献报道^[6],高甲硫氨酸患儿需限制蛋白摄入,婴儿期食用无Met的配方奶并配合母乳,辅食期坚持低蛋白饮食,定期监测血Met水平。

新生儿疾病筛查以切值判断结果,如果切值设置偏低易出现假阳性,偏高则易出现假阴性。何法霖等^[7]的研究表明,在我国114家开展新生儿遗传代谢病串联质谱筛查的实验室中,70.18%的实验室切值来源于试剂厂家说明书;除苯丙酮尿症外,自行设定切值的实验室比例为15.79%,来自文献报告的实验室比例为

14.04%。既往研究表明^[8],不同体重和胎龄对新生儿遗传代谢病部分指标差异显著。昆明市王琼等^[9]的研究也发现在氨基酸、游离肉碱和酰基肉碱浓度上存在差异,因此建立不同体重和胎龄新生儿筛查的切值,对于提高新生儿代谢性疾病筛查的准确性具有重要意义。

针对新生儿遗传代谢病筛查,串联质谱技术在我国东部经济较为发达的地区得到广泛应用^[10],但西部地区仍未进行大规模的筛查。贵州省作为中国西部少数民族聚居地,其独特的遗传背景及膳食结构可能导致代谢病分布特征与东部地区不同,但目前缺乏本土化的筛查切值数据。因此,本研究基于遗传代谢病串联质谱筛查技术,制定高甲硫氨酸血症的切值,可为本地新生儿遗传代谢病的筛查诊断、降低筛查成本、提高筛查准确率提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2022年10月至2023年8月在贵州省新生儿疾病

【第一作者】刘正美,女,主管技师,主要研究方向:新生儿疾病筛查。E-mail: 656512849@qq.com

【通讯作者】张玲,女,主任医师,主要研究方向:儿童保健。E-mail: gzszy6815@163.com

筛查中心做MS/MS筛查的安顺、黔西南州、毕节、黔南州、黔东南州、铜仁、六盘水及贵阳地区且通过初筛和复查确认未患有IMD的新生儿为研究对象，共计99888例。筛查严格遵循《新生儿疾病筛查技术规范(2010版)》干血斑采集标准^[11]。

纳入标准：72h~7d且充分哺乳≥8次；排除标准：出生>7d、健康状况差、采血前接受血液制品、营养液、氨基酸、药物治疗者。监护人均签署知情同意，且本研究已通过贵州省妇幼保健院伦理审查和批准(20230703)。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 新生儿出生3~7d且充分哺乳后，于足跟内外侧采血，深度≤3mm；血样滴入直径≥8mm 滤纸片，确保双面均匀浸润，避免重复滴血、凝血或污染。血片悬空晾干后密封，2~8℃冷链转运至筛查中心。

1.2.2 样本检测 实验严格按照NeoBaseTM Non-Derivatized MS/MS Kit说明书进行。先优化串联质谱仪(美国Waters公司)参数，设备平衡10min，并确保系统压力稳定。使用全自动打孔仪Punthera-PuncherTM 9(美国Perkin Elmer公司)，从待测样品和质控品(美国Perkin Elmer公司)的干血斑中打取直径为3mm的样品(全血约3.2μL)，置于96孔V型截底透明微孔板中。内标氨基酸、酰基肉碱原液和萃取液(美国Perkin Elmer 公司)按照1：100的比例配置工作液，且均匀混合，每孔加工作液100μL。微孔板覆盖黏性塑料封套，于恒温孵育振荡器中，45℃下700r/min振荡45min完成萃取。随后转液至另一个96孔V型耐热微孔板中并铝箔封套密封。静置至少2h，上机检测。

1.3 统计学方法 使用SPSS 22.0软件进行数据统计分析。利用Kolmogorov-Smirnov (K-S)对实验数据的正态性进行检验评估。如果数据符合正态分布，则采用t检验进行组间检验；如果数据不符合正态分布，则采用Mann-Whitney(M-W)检验或Kruskal-Wallis(K-W)检验；Kruskal-Wallis法检验地域间有差异性后，则地域间两两比较用Bonferroni法调整显著性水平。综合分析性别、胎龄、地域、体重及季节对Met值的影响，采用多元线性回归方法，筛选出最具显著性影响的因素来建立切值。检验的显著性水平设定为α=0.05，P值小于0.05则认为差异具有统

计学意义。

2 结 果

2.1 筛查结果总览 在99888例筛查者中，Met可疑阳性数为185例，召回复查后确诊为高甲硫氨酸血症的有8例，其发病率为8.0/10万(1/12486)。

2.2 血Met值 本研究结果显示，所有新生儿血Met浓度的M为19.46μmol/L，P_{99.5}为40.97μmol/L，P_{99.9}为49.35μmol/L；不同分组新生儿血Met浓度值都呈偏态分布；不同性别、胎龄、体重、季节的Met值之间差异均有统计学意义(P<0.05)，女婴Met水平高于男婴；胎龄<37周者高于≥37周者；低体重儿高于正常体重儿；冷季组高于暖季组。除黔东南和六盘水、铜仁、贵阳，六盘水和贵阳，铜仁和贵阳外(P>0.05)，其余各地域组间新生儿血Met浓度值的差异均有统计学意义(P<0.05)。见表1。

2.3 血Met水平的多因素分析 回归模型的结果具有统计学意义(R²=0.444，F=2230.043，P<0.001)，且模型中各变量间未出现共线性问题，所有方差膨胀因子(variance inflation factor，VIF)<5。分析性别、胎龄、地域、体重及季节对新生儿血Met浓度值的影响，结果显示不同性别、胎龄、体重、季节的Met之间差异均有统计学意义(P<0.05)。除贵阳与黔东南、六盘水与黔东南、铜仁与黔东南外，其余地域与黔东南的新生儿血Met值比较，差异均有统计学意义(P<0.05)；在性别、胎龄、地域、体重及季节这5个因素中，季节对新生儿血Met值的影响最大。见表2。

3 讨 论

本研究对99888例新生儿行干血斑Met浓度行MS/MS检测，初筛可疑阳性185例，经复查确诊高甲硫氨酸血症患儿8例，发病率为8/10万，高于Nagao等^[12]报道的日本地区此病的发病率1/107850；高于台湾地区报道的此病的发病率1/106349^[13]；高于西班牙地区此病的发病率1/23469^[14]；低于石家庄市此病的发病率 1/11469^[6]。各地区发病率差异较大，可能与高甲硫氨酸血症存在民族、文化、地域等差异，有的初筛可疑阳性患儿由于父母或者监护人文化程度以及对遗传代谢病的认识程度不够，会出

表1 性别组、胎龄组、地域组、体重组及季节组等不同组别Met浓度水平(μmol/L)

特征	n	血Met浓度/(μmol/L)					P
		P _{0.1}	P _{0.5}	P ₅₀	P _{99.5}	P _{99.9}	
合计	99 888	6.32	7.98	19.46	40.97	49.35	
性别	男	52 438	6.2	7.81	19.2	40.94	<0.001
	女	47 450	6.5	8.17	19.76	40.98	
胎龄	<37周	5 406	6.22	7.7	19.95	46.57	<0.001
	≥37周	94 482	6.33	7.99	19.43	40.44	
地域	安顺	9 976	5.46	6.12	16.7	39.63	<0.001
	黔西南州	7 608	7.17	8.98	20.2	43.85	
	毕节	24 586	7.2	8.75	19.05	39.2	
	黔南州	13 755	6.47	7.85	17.61	38.4	
	黔东南州	12 839	8.06	9.76	20.59	41.85	
	铜仁	9 056	7.5	8.86	20.88	43.84	
	六盘水	18 879	8.21	9.95	20.44	41.25	
	贵阳	3 189	8.55	10.31	20.73	41.22	
体重	<1500g	14 785	6.10	7.66	19.04	43.08	<0.001
	≥1500g	85 103	6.38	8.05	19.53	40.40	
季节	冷季(2022.11~2023.3)	55 424	8.09	10.15	21.77	43.06	<0.001
	暖季(2023.4~2023.8)	44 464	5.94	7.09	16.79	34.81	

注：(1)与安顺比较，P<0.05；(2)与黔西南州比较，P<0.05；(3)与毕节比较，P<0.05；(4)与黔南州比较P<0.05；(5)与黔东南州比较，P<0.05；(6)与铜仁比较，P<0.05；(7)与六盘水比较，P<0.05。

表2 性别、胎龄、地域、体重及季节多因素分析(Met)

模型			非标准系数		标准系数	T	显著性	VIF
			B	标准错误	Beta			
(常量)	自变量	性别	男	18.118	0.077		234.147	<0.001
				0				
		女	≥37周	0.640	0.037	0.049	17.186	<0.001
				0				1.008
		胎龄	<37周	0.961	0.088	0.033	10.970	<0.001
				0				1.145
		体重	正常体重(≥1500g)	0				
				0.348	0.056	0.019	6.221	<0.001
		季节	暖季(2023.4~2023.8)	0				1.152
				5.180	0.038	0.394	136.895	<0.001
		地域	冷季(2022.11~2023.3)	0				1.032
				-3.807	0.078	-0.175	-48.721	<0.001
			安顺	-1.421	0.085	-0.058	-16.713	<0.001
				-2.335	0.064	-0.154	-36.487	<0.001
			黔东南州	-2.856	0.072	-0.151	-39.762	<0.001
				-0.402	0.080	-0.018	-5.001	<0.001
			毕节	-0.018	0.067	-0.001	-0.266	0.790
				-0.027	0.116	-0.001	-0.233	2.008
			黔南	0.000				0.816
				0.444				1.209
		黔东南	铜仁	0.444				
				2230.043				
		六盘水	贵阳	<0.001				
		R ²	F					
		P						

现拒绝复查等情况，也有部分家长联系方式更换频繁，给我们的召回工作也造成极大困难。

本研究结果表明，女婴的Met浓度水平显著高于男婴，这或许与男婴有相对较高的代谢率以及体内氨基酸代谢的差异存在关联。文献亦曾指出，男婴在众多代谢指标上呈现出高于女婴的特性，故而在临床上需予以特别关注^[15]。胎龄对筛查结果的影响表现得显著，早产儿通常会伴随低体重，可能这类新生儿存在肝脏发育不成熟及肝脏中酶的代谢活性低甚至合成酶不足等情况^[16]。早产儿和低体重儿对食物的消化吸收上也可能会比正常胎龄和体重的新生儿差，且新生儿还存在自身体质及营养情况的不同^[17]。地域性差异同样对筛查结果产生重要影响，黔东南州的新生儿Met水平平均高于其他地区，暗示该地区或许存在特定的环境或遗传因素对代谢指标有影响，也可能是由于生活在不同地区的孕妇在饮食结构以及生活习惯上不同导致的差异，研究表明，地理环境、生活习惯、饮食结构以及经济条件均可能致使不同地区新生儿的代谢水平呈现出显著差异，在制定筛查标准时，必须充分考量地域性因素，以提升筛查的准确性与特异性^[18]。

此外，本研究结果还发现了性别、胎龄、地域、体重及季节五个因素中，季节对Met值的影响最大，冷季新生儿的Met浓度显著高于暖季。这一现象可能与低温环境下的新生儿应激反应相关。研究表明，寒冷刺激可激活交感神经系统，促使甲硫氨酸代谢关键酶(如MAT1A)活性下降，导致血液Met蓄积^[19]。此外，冬季孕妇维生素B12摄入量减少，可能通过胎盘影响胎儿甲硫氨酸代谢^[20]，但具体机制需进一步验证。

根据新生儿遗传代谢病筛查指标切值建立方法专家共识，高甲硫氨酸血症患病率较低，可选用P_{99.9}作为切值上线。因此，本研究结合性别、胎龄、地域、体重和季节因素对Met的影响，采用百分位数法，最终将贵州省串联质谱筛查Met切值制定为42μmol/L。与四川地区^[21]Met筛查切值33.9μmol/L、与昆明地区^[9]的Met筛查切值41.43μmol/L、宁夏地区^[22]的Met筛查切值31.05μmol/L及河南地区^[23]Met筛查切值38.976μmol/L是不一致的，说明不同地区之间的切值不能沿用，必须建立本地区串联质谱技术检测新生儿Met的切值。

本研究首次建立了该地区高甲硫氨酸血症串联质谱筛查的切值(42μmol/L)。切值的应用预计将降低贵州省新生儿筛查的假阳

性率(约15%)及医疗成本，为西部少数民族地区遗传代谢病防控提供科学范本。但是本研究也存在一定的局限性，首先纳入的贵州省所辖地区不完整，数据可能存在一定偏倚和代表性不足，因此，将来应该收集贵州省全部地区新生儿例数，增加样本量的同时，完善地区组成，丰富研究数据。

参考文献

[1]陈琪,朱静潔,冯子奕,等.新疆地区新生儿遗传代谢病串联质谱筛查的结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2024,32(4):869-873.

[2]Zhang Z,Wang Y,Ma D,et al.Analysis of five cases of hypermethioninemia diagnosed by neonatal screening[J].J Pediatr Endocrinol Metab,2020,33(1):47-52.

[3]Zhao D,Ni M,Jia C,et al.Genomic analysis of 9 infants with hypermethioninemia by whole-exome sequencing among in Henan, China[J].Clinica Chimica Acta;International Journal of Clinical Chemistry,2022,533:109-113.

[4]顾学范.临床遗传代谢病[M].人民卫生出版社,2015:57-59.

[5]王倩倩.高甲硫氨酸血症的研究现状[J].国际儿科学杂志,2018,45(11):5.

[6]封纪珍,贾立云,王熙,等.新生儿高甲硫氨酸血症串联质谱筛查结果及MAT1A基因突变分析[J].河北医科大学学报,2021,42(4):5.

[7]何法霖,林博,王薇,等.我国新生儿遗传代谢病串联质谱切值调查分析[J].检验医学,2020,35(5):5.

[8]李桦.不同孕周及体重的新生儿遗传代谢病筛查相关指标的比较[J].罕少疾病杂志,2023,30(4):95-96.

[9]王琼,齐志业,姚勤,等.早产和足月新生儿串联质谱筛查切值的建立[J].中国妇幼健康研究,2022,33(3):5.

[10]魏林燕,黄秋燕,吕碧绿,等.新生儿遗传代谢病串联质谱检测筛查的临床分析[J].罕少疾病杂志,2025(3)165-167.

[11]杨茹棠,王华,赵正言.《新生儿遗传代谢病筛查组织管理及血片采集技术规范专家共识》解读[J].临床儿科学杂志,2024,42(3):253-258.

[12]Nagao M,Tanaka T,Furujo M.Spectrum of mutations associated with methionine adenosyltransferase I/III deficiency among individuals identified during newborn screening in Japan.[J].Molecular Genetics & Metabolism,2013,110(4):460-464.

[13]Chien Y H,Chiang S C,Huang A,et al.Spectrum of hypermethioninemia in neonatal screening-ScienceDirect[J].Early Human Development,2005,81(6):529-533.

[14]杨宇奇,王淮燕,江丽华,等.1例高甲硫氨酸血症基因突变分析[J].中国当代儿科学杂志,2017,19(9):2.

[15]赵娜,王金玮,李雪燕.廊坊地区41062例新生儿遗传代谢病串联质谱筛查结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2022(003):030.

[16]胡勤,何艺,韦懿.新生儿遗传代谢病串联质谱筛查影响因素和基因检测结果分析[J].中国妇幼保健,2022,37(10):5.

[17]李林洁,杨雪,张晚怡,等.贵阳地区早产儿干血斑中氨基酸、肉碱切值探讨[J].罕少疾病杂志,2024,31(5):118-121.

[18]杜佳月.孕产妇对新生儿遗传代谢病串联质谱筛查认知及支付意愿分析[J].中国妇幼保健,2020,35(8):5.

[19]邵丹,叶新华.甘肃省部分地区1203例遗传代谢病高危儿气相色谱-质谱检测结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2024,32(5):961-966.

[20]徐丹,曹鹏,周玉珍,等.串联质谱在新生儿遗传代谢病筛查中的应用研究[J].中国卫生标准管理,2021,12(24):12-15.

[21]周婧瑶,欧明才,罗晓菊,等.四川地区早产儿干血斑中氨基酸切值的探讨[J].中华实用儿科临床杂志,2022,(5):362-365.

[22]李淑红,毛新梅,沈丹,等.宁夏地域新生儿遗传代谢病串联质谱切值的建立[J].中国儿童保健杂志,2018,26(8):878-881.

[23]李铭,杨永俊,任利娟,等.河南省新生儿11种氨基酸及31种酰基肉碱正常参考区间建立[J].中国计划生育学杂志,2022,30(4):819-823.

(收稿日期：2025-05-08)

(校对编辑：李清芸)

(排版编辑：刘淮嘉)