

# 发育迟缓患儿的多重连接探针扩增技术研究

孔琦

(大连市妇女儿童医疗中心 辽宁大连 116000)

**摘要:** 目的: 研究发育迟缓患儿应用多重连接探针扩增技术的效果。方法: 选取本院 2017 年 6 月至 2019 年 6 月收治的 93 例不明原因发育迟缓患儿为临床研究对象, 在患儿家属同意下应用多重连接探针扩增技术对患儿的血样进行检测, 分析其检测结果。结果: 93 例发育迟缓患儿中有 16 例检出异常, 检出率为 17.2%, 其中确诊病例 13 例: Angelman 综合征患儿 4 例; Willams-Beuren 综合征患儿有 2 例; MECP2 重复综合征 2 例; Phelan-Mcdermid 综合征患儿 1 例; 3 号染色体短臂综合征 1 例; Smith-Magenis 综合征 1 例; DiGeorge 综合征 2 例; Wolf-Hirschhorn 综合征 1 例; 1p36 缺失综合征 1 例; 2q23.1 微缺失综合征 1 例。结论: 发育迟缓患儿应用多重连接探针扩增技术检测, 可有效诊断智力发育迟缓患儿的遗传病因学, 可为遗传咨询、康复治疗提供重要参考依据。

**关键词:** 发育迟缓; 多重连接探针扩增技术; Willams-Beuren 综合征; Angelman 综合征; Williams 综合征

小儿发育迟缓 (global developmental delay, GDD) 是指 5 岁以下儿童在日常生活、运动、认知、语言、个人/社会能力等发育维度中, 存在两个或两个以上发育维度的显著落后 (低于年龄匹配者  $\geq 2$  个标准差)。小儿发育迟缓病因复杂, 临床表现多样化。本院选取 2017 年 6 月至 2019 年 6 月收治的 93 例不明原因智力发育迟缓患儿为临床研究对象, 探究分析了多重连接探针扩增技术的应用价值。现研究报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取本院 2017 年 6 月至 2019 年 6 月收治的 93 例 0-5 岁不明原因发育迟缓患儿为临床研究对象, 其中男性患儿 49 例, 女性患儿 44 例; 年龄分布如下, 出生 1--6 岁的患儿共有 72 例, 6 岁及以上患儿有 21 例; 患儿最小年龄为 3 月, 最大年龄为 5 岁, 平均年龄是 (5.21  $\pm$  1.04) 岁。所有患儿均在家属知情状态下, 自愿参与本研究, 家属签订相应的知情同意书。

### 1.2 入选标准

(1) 年龄在 0-5 岁

(2) 采用 0-6 岁儿童心理发育量表对患儿进行评估, 有 2 个及以上能区分值低于人群均值 2 个标准差, 发育商低于 70 分。

### 1.2 方法

1.2.1 样本获取: 经患儿家长同意后, 获取 2ml 外周静脉血样, 给予 EDTA (乙二胺四乙酸) 抗凝, 使用 FlexiGene DNA Kit (德国 Qiagen 公司) 提取患儿的 DNA。

1.2.2 多重连接探针扩增技术: 使用 MRC-Holland 公司出产的 P245、P070、P036 检测试剂盒, 运用 MLPA 检测染色体亚端粒缺失/重复。

采用 MLPA0-P03/P070 人类亚端粒检测试剂盒 (MRC-Holland), 探针混合物包括 46 个特异性探针, 可以检测每一个染色体亚端粒的基因重组、缺失?

实验步骤: 首先将 150ng 的基因组 DNA 95℃ 变性 5min, 然后将基因组 DNA 和探针混合物 MLPA-P036 杂交过夜, 用连接酶 (Ligase65) 54℃ 15 分钟链接反应, 98℃ 5 分钟终止反应, 用 6-FAM 标记的通用引物进行 PCR 扩增。最后用 ABI PRISM 3130 基因分析仪对扩增产物进行分析。通过软件得出 MLPA 分析结果图, MRC-Holland 将正常范围限定在 0.7-1.3, 小儿 0.7 表明患者存在基因缺失突变, 大于 1.3 为重复突变。

### 1.3 观察指标

智力发育迟缓患儿的多重连接探针扩增技术检测结果。

### 1.4 统计学方法

应用 EpiData 3.0 数据录入软件审核、整理所收集的各项资料, 由本科数据管理员独立录入, 并建立相应的调查数据库。再应用 SPSS17.0 统计学软件进行统计分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 发育迟缓患儿的临床表现

93 例发育迟缓患儿中, 其中 93 例患儿有智力、发育、运动落后表现, 其中 31 例患儿伴有先天畸形, 其中 32 例患儿伴有精神行为异常, 其中 23 例患儿有遗传性变异。其中 20 例患儿肌张力低, 18 例患儿喂养困难, 26 例患儿身材矮小, 30 例患儿肥胖, 38 例患儿相对大头, 21 例患儿前额突出, 8 例患儿肢体不对称。

### 2.2 发育迟缓患儿的异常检出结果

93 例发育迟缓患儿中有 16 例检出异常, 检出率为 17.2%, 其中确诊病例 13 例: Angelman 综合征患儿 4 例; Willams-Beuren 综合征患儿有 2 例; MECP2 重复综合征 2 例; Phelan-Mcdermid 综合征患儿 1 例; 3 号染色体短臂综合征 1 例; Smith-Magenis 综合征 1 例; DiGeorge 综合征 2 例; Wolf-Hirschhorn 综合征 1 例; 1p36 缺失综合征 1 例; 2q23.1 微缺失综合征 1 例。详情见表一。

表 1 智力发育迟缓患儿的异常检出结果 (n/%)

检测结果	例数 (n=93)	百分比
Angelman 综合征患儿	4	4.30%
Willams-Beuren 综合征	2	2.15%
MECP2 重复综合征	2	2.15%
Phelan-Mcdermid 综合征	1	1.08%
3 号染色体短臂综合征	1	1.08%
Smith-Magenis 综合征	1	1.08%
DiGeorge 综合征	2	2.15%
Wolf-Hirschhorn 综合征	1	1.08%
1p36 缺失综合征	1	1.08%
2q23.1 微缺失综合征	1	1.08%
检出异常结果合计	16	17.2%

## 3 讨论

儿童智力发育迟缓是一种严重危害儿童身心健康的疾病, 也是一种出生缺陷综合征。该类患儿在发育过程中, 其智力明显低于同龄人, 并伴有不同程度的适应性行为缺陷。流行病学<sup>[1]</sup>显示, 儿童智力发育迟缓的全球发病率为 1%--3%。我国流行病学<sup>[2]</sup>显示, 我国 0-14 岁儿童的智力发育迟缓患病率是 1.2%。导致儿童智力发育迟缓的原因较多, 如宫内发育不良、先天遗传因素、病理性原因等等。因此, 对儿童智力发育迟缓进行有效的病因诊断, 制定相应的预防对策是非常有必要的。

phelan-Mcdermid 综合征是一种由于 22 号染色体长臂末端不完全缺失或完全缺失导致的微小染色体缺失综合征,自 1985 年国外学者首次报道后,现今临床有大量关于 phelan-Mcdermid 综合征的报道,但因为缺乏对 phelan-Mcdermid 综合征临床表现的认识与实验室有效检测手段,临床尚未形成统一诊断标准。

Digeroge 综合征是一种先天性发育不全或无胸腺,属于原发性细胞免疫缺陷病,因胚胎期的第三因素、第四因素发育障碍,导致患者的甲状旁腺或胸腺缺如或发育不全导致先天性异常,这一类患儿多合并其他先天性畸形。患儿的临床表现为低血钙、特殊面孔等。因患儿细胞免疫功能缺失,所以在新生儿期的死亡率较高,若在新生儿期未死亡,可在出生 3 月至 4 月发生各种严重病毒、细菌感染,导致严重症状,甚至导致死亡。

Angelman 综合征是一种因 15q11 母源印记基因下调或缺失,导致异常智力低下表现型先天发育迟缓,优于母本遗传印记缺陷,导致患儿产生异常表现。除此之外,还有其他先天发育迟缓类型,但部分患儿的先天迟缓通过治疗可改善,因此及时、有效、准确的检测、诊断显得至关重要。

多重连接探针扩增技术是一种新型技术,通过高通量与针对测核酸中靶序列可进行定量、定性分析。这一技术只需要 20 ng/ $\mu$ l DNA,就可以通过简单杂合、连接反应、PCR 反应、电泳步骤,检测、定量分析同意反应管中的四十多个不同靶基因<sup>[5]</sup>。

探针是多重连接探针扩增技术反应的核心,每一个需要检测的基因均要对应两条探针(一长一短),其中长探针需要磷酸化,总长

60--450nt,短探针由两部分组成。两根探针连接后,长度为 130--480nt。从本研究可以发现,想要检测智力发育迟缓患儿的 DNA,探针是必不可少的。

现阶段,多重连接探针扩增技术已经成为了儿童遗传学病因检测的有效工具,可弥补以往染色体核型分析中分辨率低,难以发现染色体微小重排、FISH 检测有限的缺陷,可为临床有效诊治提供强有力的依据。再者,多重连接探针扩增技术的检测成本低、使用设备简单、检测流程短,可在短时间内获取检测记录,节省患者的诊断时间。

由此可见,儿童智力发育迟缓应用多重连接探针扩增技术检测,效果显著。

#### 参考文献:

[1]姜楠,俞冬熠.多重连接探针扩增技术在病因不明生长发育迟缓/智力低下患儿诊断中的应用[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(12):10-12,16.

[2]张莉,李燕.多重连接探针扩增技术诊断 Silver-Russell 综合征 1 例[J].中国儿童保健杂志,2017,25(4):430-432.

[3]张丹妍,冯雪菲,戴礼猛,等.应用多重连接依赖探针扩增和微阵列比较基因组杂交技术检测不明原因智力障碍患儿[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(2):11-12,封 3.

[4]焦保权,李薇,刘芳.多重连接探针扩增技术诊断 Prader-Willi 综合征 3 例[J].中华实用儿科临床杂志,2016,31(20):1580-1581.

[5]李旗,解淑钰,司彩云,等.多重连接依赖探针扩增技术筛查 Turner 综合征的可行性[J].临床与病理杂志,2018,38(12):2643-2648.