

· 论著 ·

深圳市光明区24564例新生儿耳聋基因筛查结果分析*

曾 君¹ 姜盼盼² 薛 明³ 吴莉萍⁴ 林珊珊⁴ 黄嘉雯⁴ 杨江涛^{2,4} 吴本清^{1,*}

- 1.中国科学院大学深圳医院(光明)医学实验中心 (广东 深圳 518107)
- 2.深圳罕见病代谢组学精准医学工程研究中心 (广东 深圳 518107)
- 3.泰安市妇幼保健院 (山东 泰安 271000)
- 4.深圳爱湾医学检验实验室 (广东 深圳 518107)

【摘要】目的 对深圳市光明区所属3家医院新生儿耳聋基因检测结果进行分析,了解深圳光明区新生儿耳聋基因的致病突变分布情况,为不同致病原因的耳聋早期干预提供指导。**方法** 针对深圳市光明区2019年4月至2021年12月的24564例新生儿,运用飞行时间质谱技术检测主要耳聋致病基因GJB2、GJB3、SLC26A4、12S rDNA的20个致病突变位点,分析本地区新生儿遗传性耳聋基因突变位点分布情况。**结果** 24564例新生儿中,筛查出携带致病耳聋基因947例,总体携带率3.86%。其中GJB2基因482例,未检出167delT突变,携带率1.965%;GJB3基因62例,携带率0.252%;SLC26A4 基因340例,携带率1.386%;线粒体12S rRNA基因63例,携带率0.256%。**结论** 深圳市光明区新生儿遗传性耳聋基因突变率较全国平均水平低,GJB2基因和SLC26A4基因是最常见的基因突变类型,与2017~2018年筛查数据相比,主要突变位点携带率有所下降,提示早发现、早干预可减少耳聋的发生。

【关键词】 遗传性耳聋; 新生儿; 基因突变; 飞行时间质谱法

【中图分类号】 R589

【文献标识码】 A

【基金项目】 深圳市科技创新委员会基础研究学科布局项目(JCYJ20180507183428877: 20180253); 深圳市工程研究中心(工程实验室)组建项目(F-2020-Z99-502615); 光明区经济发展专项资金(2021R01055)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.02.040

Screening Analysis of Deafness Gene Mutations in 24564 Newborns in Guangming District, Shenzhen*

ZENG Jun¹, JIANG Pan-pan², XUE Ming³, WU Li-ping⁴, LIN Shan-shan⁴, HUANG Jia-wen⁴, YANG Jiang-tao^{2,4}, WU Ben-qing^{1,*}

1. Medical laboratory, Shenzhen Hospital (Guangming) Medical Experimental Center, University of Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518107, Guangdong Province, China
2. Shenzhen Rare Disease Engineering Research Center of Metabolomics in Precision Medicine, Shenzhen 518107, Guangdong Province, China
3. Tai'an Maternal and Child Health Care Hospital, Taian 271000, Shandong Province, China
4. Shenzhen Aone Medical Laboratory, Shenzhen 518107, Guangdong Province, China

Abstract: Objective To determine the distribution of pathogenic mutations of neonatal deafness genes in Guangming District, Shenzhen, and provide guidance for the early intervention of different causes of deafness, through analysis of the screening data of common mutations of deafness genes in newborns collected from three hospitals in the region. **Methods** A total of 24,564 newborns from April 2019 to December 2021 were selected in Guangming District, Shenzhen, for testing of 20 mutation sites in major deafness genes GJB2, GJB3, SLC26A4, 12S rRNA by using MALDI-TOF-MS, to find out the distribution of pathogenic mutations of neonatal deafness genes in the region. Results: Among 24,564 newborns, 947 cases (3.86%) were diagnosed with mutations. GJB2 mutations were pertinent to 482 cases (1.965%), without 167delT mutation detected. GJB3 mutations were pertinent to 62 cases (0.252%). SLC26A4 mutations were pertinent to 340 cases (1.386%). 12S rRNA mutations were pertinent to 63 cases (0.256%). **Conclusion** The mutation rate of newborn genetic deafness genes is lower than the national average level and the main gene mutations are GJB2 and SLC26A4 in Guangming District, Shenzhen. Early detection and intervention suggest to reduce the occurrence of deafness.

Keywords: Hereditary Deafness; Productive Population; Gene Mutation; MALDI-TOF-MS

遗传性耳聋是指由基因缺陷引起的听力损害,父母一方或双方可能存在相似的听力损害,也可能是听力正常的携带者。我国新生儿耳聋的发病率为1‰~3.47‰,其中遗传性耳聋占50%~60%,每年约有30000名婴儿患有先天性听力损失^[1-3]。2019年,国家卫生健康委员会临床检验中心产前筛查与诊断实验室间质评专家委员会和新生儿遗传代谢病筛查实验室室间质评专家委员会发表《遗传性耳聋基因变异筛查技术专家共识》对耳聋基因筛查实验室规范及管理给出明确指导^[4]。2021年,中国耳聋基因筛查与诊断临床多中心研究协作组及全国防聋治聋技术指导组发表《遗传性耳聋基因筛查规范》,对耳聋基因筛查临床实施、结果解读、遗传咨询等方面给出临床工作指南,以引导耳聋基因筛查工作规范化和有序进行^[5]。耳聋基因筛查区别于基因诊断,其基于中国人群遗传性耳聋相关基因突变携带率高的客观情况,通过对特定人群进行耳聋基因筛查,有利于更早地发现遗传性耳聋患者、相关环境因素致聋易感者及潜在的耳聋生育高危群体,从而达到遗传性耳聋早发现、早诊断、早干预及早预警的目的^[6-10]。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2019年4月至2021年12月在中国科学院大学深圳医院(东院区、西院区)、深圳市宝田医院,中山大学附属第七医院出生的24564例新生儿,其中2019年7259例,2020年8940例,2021年8365例。在监护人知情同意下、自愿参与调查,仔细阅读并签署新生儿耳聋基因筛查知情同意书。

1.2 标本采集 新生儿出生48~72小时后,经8次母乳喂养,取足跟末梢血3个血斑,每个血斑直径在8mm以上,自然晾干后置于密封袋内,于2℃~8℃冰箱中密闭保存。

1.3 方法 采用飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS),由深圳爱湾医学检验实验室完成样本检测。检测基因及位点信息见表1所示。

1.4 统计 采用R包对检测结果进行统计学分析。

2 结果

2.1 新生儿遗传性耳聋基因突变携带率 24564例新生儿检测4个致病基因共发现异常样本947例(男性517例,女性430例),携

【第一作者】曾 君,男,副主任技师,主要研究方向:遗传学。E-mail:cengjun2002@163.com

姜盼盼,男,助理研究员,主要研究方向:组学数据分析。E-mail:jiangpanpan@anoebio.com.cn

带率为3.86%。4个基因的携带率分别为GJB2 基因482例，检出率1.965%，GJB3基因62例，检出率0.252%，SLC26A4 基因340例，检出率1.386%，线粒体12Sr RNA 63例，检出率0.256%。其中GJB2 与 SLC26A4突变频率明显高于其他2个基因。不同年份4个基因检测出的异常样本分布情况如图1所示。

2.2 新生儿遗传性耳聋基因突变位点分布情况 24564例新生儿在19个位点上检出异常样本947例，167delT位点暂未发现

携带者。携带率从高到低GJB2 基因上分别为235delC为42%，299_300delAT为6%，176_191del16为2%；SLC26A4基因中IVS7-2A>G 为21%，2168A>G为4.5%，1229C>T为3.9%；线粒体12SrRNA上1555A>G为5.8%；GJB3基因中547G>A 为3.9%，538C>T为2.5%。19个位点突变类型中杂合突变，占比为94.1%，线粒体均质突变占比5.8%，见表2。复合基因位点突变7例，占比0.73%。其中1例样本在3个基因上出现致病突变，见表3。

表1 检测位点信息

基因信息	突变所在位点	dbSNP	位点描述	氨基酸变化	中国人群频率
GJB2NM_004004.6(13q11-12)	35	rs80338939	35delG	p.Gly12Valfs*2	0.0001
	167	rs80338942	167delT	p.Leu56fs	0
	176	rs750188782	176_191del16	p.Gly59Alafs*18	0.0012
	235	rs80338943	235delC	p.Leu79Cysfs*3	0.0180
	299	rs111033204	299_300delAT	p.His100Argfs*14	0.0050
12S rRNAChromosome: MT	1494	rs267606619	1494C>T	--	0.0002
	1555	rs267606617	1555A>G	--	0.0021
GJB3NM_024009.3(1p34.3)	538	rs74315319	538C>T	p.Arg180Ter	
	547	rs74315318	547G>A	p.Glu183Lys	
SLC26A4NM_000441.2(7q22.3)	281	rs1057516953	281C>T	p.Thr94Ile	0.0003
	589	rs111033380	589G>A	p.Gly197Arg	0.0003
	IVS7-2	rs111033313	IVS7-2A>G	splice acceptor	
	1174	rs201562855	1174A>T	p.Asn392Tyr	0.0008
	1226	rs111033305	1226G>A	p.Arg409His	0.0010
	1229	rs111033220	1229C>T	p.Thr410Met	0.0008
	IVS15+5	rs192366176	IVS15+5G>A	sequence_variant_affecting_splicing	
	1975	rs200455203	1975G>C	p.Val659Leu	0.0013
	2027	rs111033318	2027T>A	p.Leu676Gln	0.0007
	2162	rs121908363	2162C>T	p.Thr721Met	0.0001
	2168	rs121908362	2168A>G	p.His723Arg	0.0027

注：频率数据参考《2021遗传性耳聋基因筛查规范》

表2 4基因20位点突变数据

位点描述	杂合突变型	复合杂合	均质突变型	小计	突变率(%)
GJB2 35delG	6	0	0	6	0.024463834
	167delT	0	0	0	0
	176_191del16	19	0	19	0.077468809
	235delC	395	3	398	1.610535758
	299_300delAT	58	1	59	0.236483732
12S rRNA 1494C>T	1	1	5	7	0.024463834
	1555A>G	5	1	50	0.224251814
GJB3 538C>T	24	0	0	24	0.097855337
	547G>A	37	0	37	0.150860312
SLC26A4 281C>T	4	0	0	4	0.016309223
	589G>A	7	0	7	0.02854114
	IVS7-2A>G	203	1	0	0.82769306
	1174A>T	8	0	0	0.032618446
	1226G>A	5	0	0	0.020386529
	1229C>T	37	0	0	0.150860312
	IVS15+5G>A	7	0	0	0.02854114
	1975G>C	15	0	0	0.061159586
	2027T>A	5	0	0	0.020386529
	2162C>T	4	0	0	0.016309223
	2168A>G	43	0	0	0.175324146
	IVS7-3A>G	1	0	0	0.004077306
	IVS7-4A>G	1	0	0	0.004077306
合计	885	7	55	947	3.8612085

表3 复合突变

复合突变检测结果	数量
线粒体12S rRNA的1494C>T位点均质突变；基因GJB2的235delC位点杂合突变	1
线粒体12S rRNA的1555A>G位点均质突变；基因GJB3的538C>T杂合突变；基因SLC26A4的 IVS7-2A>G杂合突变	1
基因GJB2的235delC位点杂合突变；基因SLC26A4的IVS7-2A>G位点杂合突变	2
基因GJB2的235delC位点杂合突变；基因GJB3的547G>A位点杂合突变	1
基因GJB2的299_300delAT位点；基因GJB2的235delC位点杂合突变	1
基因SLC26A4的IVS7-2A>G位点杂合突变；基因GJB2的235delC位点杂合突变	1

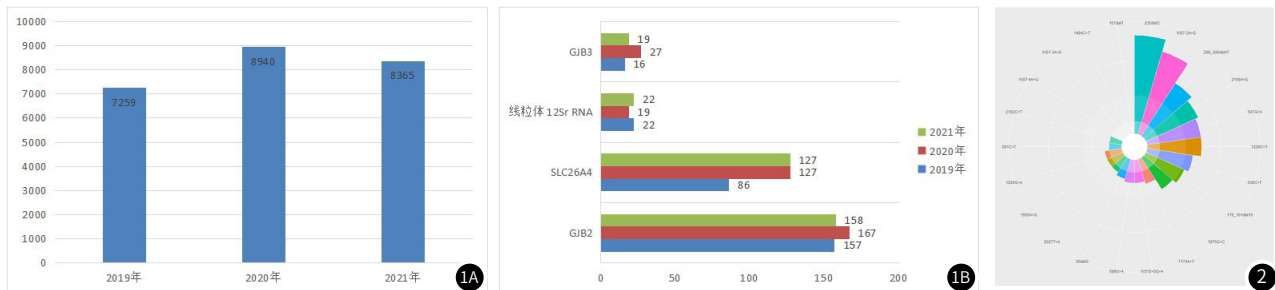


图1 筛查群体分布及携带者基因分布。图2 20个位点频率排序。

3 讨论

本研究对2019~2021深圳光明区24564例新生儿耳聋基因筛查数据进行回顾性分析，统计总体突变携带率为3.86%，高于光明区2017年5月~2018年11月筛查的总阳性率3.53%。在单个基因水平，2017年~2018年GJB2基因和SLC26A4基因的突变率最高，分别为1.96%和1.21%。近3年的数据则显示GJB2基因为1.965%，SLC26A4为1.386%，这种差别主要源自早期筛查位点数量较少(4个基因9个位点或15个位点)，存在位点未检出情况^[11-13]。截至2022年6月8日，已知耳聋基因至少124个(<https://hereditaryhearingloss.org>)，因此受检者“通过”筛查，并不代表受检者没有携带耳聋相关基因致病变异，因为筛查的范围仅限于部分基因的热点致病变异，随着基因科学的进步及人们对遗传性耳聋认识的加深，基因筛查位点将会进一步增加，从而进一步提升筛查效率，而遗传咨询也将日臻完善。

GJB2基因突变在双耳先天性重度、极重度感音神经性耳聋中较为常见，听力损害的程度与基因突变的类型及位点相关。本次筛查群体中235delC突变频率为1.61%，与2017年~2018年筛查数据(1.63%)相比有所降低。SLC26A4基因突变引起的表型较广泛，常见于大前庭水管综合征(EVAS)患者中，以双耳先天性重度、极重度感音神经性耳聋为主要表现，也可表现为迟发性NSHL，听力正常的婴儿出生时往往因头部受到碰撞或感冒，出现显著的听力下降及Pendred综合征(前庭水管扩大或伴内耳畸形，感音神经性耳聋和甲状腺肿)。SLC26A4基因突变最常见的类型为IVS7-2A>G，本次筛查中IVS7-2A>G突变频率为0.82%，相比2017年~2018年筛查数据(0.91%)有所下降。原因可能是基因突变确定病因后会行早期干预、积极康复，受检者父母再生育前行胚胎植入前诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)或产前诊断。受检者配偶及直系亲属婚育前应进行相关基因的筛查，此类筛查结果提示受检者的人工听觉植入干预预后良好。需要注意的是，GJB2基因c.109G>A是当前公认的致病性突变，但其临床表型的变异程度较高、外显率也不明确^[14-15]，因此，临床上不建议对该位点进行产前诊断。对于GJB2或SLC26A4基因的单等位基因致病变异，应结合听力筛查结果综合判断，若为携带者或相关遗传性耳聋患者，应进一步行耳聋基因诊断，必要时行颞骨影像学检查及遗传咨询；对于听力筛查通过者，仍建议在3个月龄后完成诊断性听力检查，并进行密切随访；受检者配偶及直系亲属婚育前应进行相应基因的筛查^[4]。从2017年筛查至今，光明区累计阳性比例合计1522例，其中12例存在两个突变，1例存在三个突变，总计1个聋孩子及早植入人工耳蜗，113个家庭药物性耳聋易感家庭预防，535个迟发型(巴掌或重击)耳聋

易感孩子预防，796个较高遗传耳聋风险的孩子开展遗传咨询。

造成听力障碍的因素较为复杂，有遗传因素、环境因素或者两者共同作用，主要为遗传因素，约占50%~60%，并且遗传性耳聋可以表现为迟发性听力障碍，因此听力筛查作为传统的新生儿听力检测方法具有一定的缺陷，而基因检测可以在基因水平上辅助新生儿耳聋的诊断。新生儿耳聋基因筛查有助于早期发现耳聋疾病，并且可以在孕前、孕期、新生儿等不同时期对迟发性耳聋进行干预，最终达到早治疗的目的，从而有效降低聋哑发病率，并且后期耳聋基因报告可以对耳聋儿的婚育有一定的指导作用^[16-17]，起到前瞻性预防耳聋的作用，减少新生儿出生缺陷。因此，耳聋基因检测是发现听力漏检聋儿、先天性聋儿和药物性聋儿的重要手段。

参考文献

- [1] Van Camp G, Willems P J, Smith R J. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity[J]. Am J Hum Genet, 1997, 60(4): 758-764.
- [2] Yuan Y, Li Q, Su Y, et al. Comprehensive genetic testing of Chinese SNHL patients and variants interpretation using ACMG guidelines and ethnically matched normal controls[J]. Eur J Hum Genet, 2020, 28(2): 231-243.
- [3] 湛玉佳, 杨江涛, 庄利明, 等. 深圳市光明区新生儿耳聋基因筛查结果分析[J]. 医学信息, 2020, 33(13): 134-136, 139, 1006-1959.
- [4] 《遗传性耳聋基因变异筛查技术专家共识》专家组, 国家卫生健康委员会临床检验中心产前筛查与诊断实验室间质评专家委员会, 国家卫生健康委员会临床检验中心新生儿遗传代谢病筛查实验室间质评专家委员会. 遗传性耳聋基因变异筛查技术专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(3): 195-198.
- [5] 中国耳聋基因筛查与诊断临床多中心研究协作组, 全国耳聋诊治技术指导组. 遗传性耳聋基因筛查规范[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(2): 97-102.
- [6] Dai P, Yu F, Han B, et al. GJB2 mutation spectrum in 2,063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment[J]. J Transl Med, 2009, 7: 26.
- [7] Dai P, Yu F, Han B, et al. The prevalence of the 235delC GJB2 mutation in a Chinese deaf population[J]. Genet Med, 2007, 9(5): 283-289.
- [8] Dai P, Li Q, Huang D, et al. SLC26A4 c.919-2A>G varies among Chinese ethnic groups as a cause of hearing loss[J]. Genet Med, 2008, 10(8): 586-592.
- [9] Chai Y, Chen D, Sun L, et al. The homozygous p.V37I variant of GJB2 is associated with diverse hearing phenotypes[J]. Clin Genet, 2015, 87(4): 350-355.
- [10] Dai P, Huang L H, Wang G J, et al. Concurrent hearing and genetic screening of 180,469 neonates with follow-up in Beijing, China[J]. Am J Hum Genet, 2019, 105(4): 803-812.
- [11] 孙晓旭, 陆洋, 黄旭丽. 深圳市福田区新生儿听力及耳聋基因联合筛查分析[J]. 中国妇幼保健研究, 2015, 6: 1119-1121.
- [12] 刘丽益, 李维, 韩璐好, 等. 深圳市南山区25987例新生儿耳聋基因筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(3): 75-77+53.
- [13] 林彩娟, 罗超, 李旺, 等. 5545例新生儿耳聋基因检测结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(34): 6007-6009.
- [14] Chai Y, Chen D, Sun L, et al. The homozygous p.V37I variant of GJB2 is associated with diverse hearing phenotypes[J]. Clin Genet, 2015, 87(4): 350-355.
- [15] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. 遗传性非综合征型耳聋的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3): 269-276.
- [16] 巫静帆, 李小霞, 谭淑娟, 等. 东莞户籍33810例新生儿听力筛查联合耳聋基因检测与分析[J]. 中华耳科学杂志, 2018, 16(02): 176-180.
- [17] Mahboubi H, Dwabe S, Fradkin M, et al. Genetics of Hearing Loss: Where are We Standing now[J]. European Archives of Otorhinolaryngology, 2012, 269(7): 1733-1745.

(收稿日期: 2022-10-24)

(校对编辑: 何镇喜)