

· 论 著 ·

内蒙古自治区 3 500 例新生儿遗传性耳聋基因位点筛查分析*

周雪原¹, 马玉珍², 李 灵¹, 秦 磊¹, 庞晓燕¹, 侯东霞¹, 冀小平^{1△}, 王晓华^{1▲}

(1. 内蒙古自治区妇幼保健院遗传优生科, 内蒙古呼和浩特 010020; 2. 内蒙古自治区人民医院生殖中心, 内蒙古呼和浩特 010017)

摘要:目的 分析内蒙古自治区新生儿耳聋基因热点突变位点突变情况, 为遗传性耳聋患者临床治疗提供有力数据。方法 利用联合探针锚定聚合测序法检测遗传性耳聋基因 4 个基因 20 个位点, 对 2018 年 1 月 1 日至 6 月 30 日在内蒙古自治区妇幼保健院正常分娩的 3 500 例新生儿行遗传性耳聋基因筛查, 探讨内蒙古自治区遗传性耳聋基因突变位点分布情况。结果 3 500 例新生儿, 耳聋基因筛查结果提示突变总数 193 例, 突变率为 5.51%; 杂合突变 178 例, 杂合突变率为 5.09%; 纯合突变 15 例为线粒体均质突变, 突变率为 0.43%。其中 GJB2 基因突变 82 例, 突变率为 2.34%; SLC26A4 基因突变 78 例, 突变率为 2.23%; GJB3 基因突变 17 例, 突变率为 0.49%; 线粒体 12SrRNA 基因突变 16 例, 突变率为 0.46%。结论 内蒙古自治区遗传性耳聋基因突变位点携带率较高, 提示全面开展内蒙古自治区新生儿耳聋基因筛查的重要性, 可尽早明确耳聋婴幼儿病因, 提前干预, 以增强耳聋患儿的生存能力, 提高耳聋患儿家庭生活质量。

关键词: 内蒙古自治区; 耳聋基因; 突变率

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.22.007

中图法分类号: R446.9; R764.04

文章编号: 1673-4130(2020)22-2713-04

文献标识码: A

Analysis of genetic deafness loci in 3 500 newborns in Inner Mongolia autonomous region*

ZHOU Xueyuan¹, MA Yuzhen², LI Ling¹, QIN Lei¹, PANG Xiaoyan¹,
HOU Dongxia¹, JI Xiaoping^{1△}, WANG Xiaohua^{1▲}

(1. Department of Genetic and Orthogenics, Inner Mongolia Maternal and Child Care Hospital, Huhhot, Inner Mongolia 010020, China; 2. Department of Reproductive Center, Inner Mongolian People's Hospital, Huhhot, Inner Mongolia 010017, China)

Abstract: **Objective** To analyze the hot spot mutation site of deafness gene in newborns in Inner Mongolia autonomous region, and to provide powerful data for clinical treatment of hereditary deafness. **Methods** In a total of 3 500 newborns accepted deafness gene screening were detected 4 genes and 20 loci of genotypic deafness by combination probe anchored polymeric sequencing from January 1 to June 30 in 2018 in Inner Mongolia Maternal and Child Care Hospital, and the distribution of genetic mutations in deafness in Inner Mongolia autonomous region was investigated. **Results** The results of deafness gene screening indicated that there were a total of 193 mutations in 3 500 newborns, the mutation rate was 5.51%, heterozygous mutation in 178 cases, the mutation rate was 5.09%. There were 15 cases of pure mutation, the mutation rate was 0.43%. There were 82 genetic mutations on GJB2, the mutation rate was 2.34%. There were 78 genetic mutations on SLC26A4, the mutation rate was 2.23%. There were 17 genetic mutations on GJB3, the mutation rate was 0.49%. There were 16 genetic mutations on mitochondria 12SrRNA, the mutation rate was 0.46%. **Conclusion** Inner Mongolia autonomous region has a higher carrying rate of genetic mutation sites for deafness, which indicates that Inner Mongolia autonomous region newborn deafness gene screening is comprehensive development of importance for identifying the cause of deafness as early as possible, so as to enhance the survival ability of deaf children, and improve the quality of family life of deaf children.

Key words: Inner Mongolia autonomous region; deafness gene; mutation frequency

* 基金项目: 内蒙古自治区卫生和计划生育委员会科研计划项目(201702036); 内蒙古自治区科技计划项目(201802158)。

作者简介: 周雪原, 女, 主管技师, 主要从事临床基因检验研究。△ 通信作者, E-mail: xp-0902@sina.com。▲ 共同通信作者, E-mail: wangxiaohua2222@163.com。

本文引用格式: 周雪原, 马玉珍, 李灵, 等. 内蒙古自治区 3 500 例新生儿遗传性耳聋基因位点筛查分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(22): 2713-2715.

耳聋是最常见的致残疾病,据全国第二次残疾人抽样调查显示,我国约有 2 780 万听力障碍人士,约占总残疾人数的 33.5%^[1]。耳聋与外界环境和遗传等多种因素有关,60%的耳聋与遗传有关^[2]。有研究表明,80%的遗传性耳聋是由 GJB2、SLC26A4、线粒体 12SrRNA、GJB3 功能基因突变引起^[3-5]。本研究采用联合探针锚定聚合测序法检测遗传性耳聋常见的 4 个致病基因 20 个位点,了解内蒙古自治区新生儿遗传性耳聋基因突变情况,为本地区新生儿遗传病防治、预防出生缺陷提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月 1 日至 6 月 30 日在内蒙古自治区妇幼保健院正常分娩的 3 500 例新生儿为研究对象,所有研究对象家属均自愿让新生儿接受遗传性耳聋基因检测,并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 华大生物科技有限公司核酸纯化试剂、测序反应通用试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)、遗传性耳聋基因检测试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)、基因测序仪(BGISEQ-500)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 3 500 例新生儿均采集足跟血,并制成干血斑,4℃保存备用。

1.3.2 基因组 DNA 提取 使用干血斑核酸提取试剂盒提取基因组 DNA。DNA 水平经测定,在 20~50 ng/μL 为宜,-20℃暂存备用。

1.3.3 文库制备 将提取基因组 DNA 标本经过打断修复,接头连接,PCR 扩增进行文库制备。配制打断修复混合液,将基因组 DNA 打断修复。每个标本分别加入 15 VL 标签接头,接头与模板 DNA 结合,使每个模板都有特定标签并纯化。对模板进行 PCR 扩增,PCR 扩增程序:94℃ 120 s,1 个循环;94℃ 20 s,56℃ 30 s,60℃ 20 s,35 个循环;72℃ 300 s,1 个循环;12℃ 暂存。扩增产物纯化并测定其水平,≥2 ng/μL 为合格。

1.3.4 测序 针对新生儿进行的遗传性耳聋基因筛查仅针对常见的基因及其相关位点,如有突变,原则上召回并行相关基因突变位点测序,进一步给予临床指导。采用测序反应通用试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)进行测序。

1.4 统计学处理 数据分析应用遗传性耳聋基因分析软件,按照测序后数据分析标准流程操作,至少两人对测序数据进行分析整理,并核对。

2 结 果

2.1 耳聋基因突变率统计 3 500 例新生儿血液标本中,行遗传性耳聋 4 个基因 20 个位点筛查,总突变 193 例,总突变率为 5.51%;杂合突变 178 例(含线粒体异质突变 1 例),杂合突变率为 5.09%;纯合突变 15 例,纯合突变率为 0.43%。其中 GJB2、GJB3、

SLC26A4 均为杂合突变,线粒体 12SrRNA 异质突变 1 例,均质突变 15 例。见表 1。

表 1 耳聋基因筛查各位点突变率

检测基因	筛查位点	突变例数 (n)	突变率 (%)
GJB2	35delG	0	0.00
	176_191del16	3	0.09
	235delC	57	1.63
	299_300delAT	22	0.63
GJB3	538C>T	17	0.49
	547G>A	0	0.00
SLC26A4	281C>T	0	0.00
	589G>A	1	0.03
	1174A>T	4	0.11
	1226G>A	3	0.09
	1229C>T	0	0.00
	1975G>C	3	0.09
	2027T>A	2	0.06
	2162C>T	0	0.00
	2168A>G	12	0.34
线粒体 12SrRNA	IVS7-2A>G	50	1.43
	IVS15+5G>A	3	0.09
	1095T>C	7	0.20
	1494C>T	1	0.03
	1555A>G	8	0.23

2.2 基因突变患儿随访情况 3 500 例新生儿中有 193 例异常结果,其中常染色体显性遗传非综合征型耳聋相关 GJB3 基因杂合突变 17 例,均为 538C>T 位点突变;线粒体 12SrRNA 基因均质突变 15 例,异质突变 1 例。GJB3 基因杂合突变与高频听力下降有关,可导致进行性或迟发型中度至极重度耳聋。对本次检测出的 17 例新生儿于 2019 年 5 月进行电话回访,家长表示 1 岁左右的受检者暂时未发现症状,建议患儿来耳鼻喉科例行体检,计划 2020 年 5 月再回访一次,持续监测受检者听力损伤情况。线粒体 12SrRNA 基因突变 15 例,均电话告知若受检者就医需提醒医生,该受检者对氨基糖苷类药物敏感,可出现“一针致聋”情况。2018 年 11 月 15 例线粒体 12SrRNA 基因均质突变受检者母亲、同胞、母亲同胞姐妹、祖母等家族女性都做相应突变基因验证,发现除 1 例均质突变受检者无联系方式未回访,14 例受检者中,有 5 例存在家族遗传史,其中 2 个家族为均质突变遗传,另 3 个家族有均质突变和异质突变病例;其余 9 例为新生儿突变,母亲和同胞等家族女性检测结果均正常,受精卵发育过程中出现相关基因突变。本研究对线粒体 12SrRNA 基因突变的家族分析,会

在相应的家族统计文章中详细体现。

3 讨 论

据国内耳聋基因流行病学调查显示,我国遗传性耳聋基因大部分由 4 个基因突变引起:GJB3、GJB2、SLC26A4、线粒体 12SrRNA,较常见的遗传性耳聋突变基因为 GJB2,其次为 SLC26A4、线粒体 12SrRNA、GJB3^[6-9]。携带有遗传性耳聋基因突变位点的女性在孕期可通过羊水穿刺对胎儿进行耳聋基因检测。对胎儿进行耳聋基因突变情况及出生后干预评估,可避免下一代致聋或携带致病基因,有效降低生育耳聋新生儿的危险。携带有线粒体 12SrRNA 相关突变位点的准妈妈,可有效防止“一针致聋”,并对其子女做好药物防护。有地方性研究发现新生儿耳聋基因阳性率高达 4.98%^[10-13]。本研究共检测随机时间段出生的 3 500 例新生儿,有 193 例新生儿存在单杂合耳聋基因突变,总突变率为 5.51%,排除易感基因突变位点增多的因素,内蒙古自治区新生儿遗传性耳聋基因异常携带率明显高于其他文献报道^[10-13],本研究有一定临床参考价值。

GJB2 基因突变导致的耳聋为语前、双侧、对称性耳聋,听力损失程度变异较大,可由轻度到极重度,但多数为重度或极重度耳聋,GJB2 基因和先天性耳聋有着密切关系。GJB2 基因主要以常染色体隐性遗传方式向后代传递,此类遗传方式可通过分别获取来自父母的致聋基因引起耳聋。GJB2 基因突变是常见的耳聋基因,GJB2 基因同一位点纯合突变或两个不同位点杂合突变均可致聋^[14]。本研究检测 GJB2 基因携带者有 82 例,杂合突变率为 2.34%,携带者不会发病,但要密切关注,如果有听力损失方面的临床症状,建议做进一步耳聋基因检测,排除其他罕见耳聋基因位点突变。同时携带 GJB2 基因不同位点突变的夫妻,其子女发病风险为 1/4,携带风险为 1/2,正常概率为 1/4。由于 GJB2 基因突变致聋符合人工耳蜗移植条件,可在出生 18 个月后进行人工耳蜗移植,避免由聋致哑。

GJB3 基因的相关突变临床多表现为高频听力受损的进行性语后聋。GJB3 基因是在我国本土克隆的第一个疾病相关基因。本研究中 GJB3 基因突变 17 例,单杂合突变率 0.49%,与全国基因突变率基本一致^[15-16]。GJB3 基因突变可导致常染色体显性或隐性遗传非综合征型耳聋,GJB3 基因编码连接蛋白,547G>A 为错义突变,使连接蛋白 31(Cx31)183 号谷氨酸变为赖氨酸;538C>T 为无义突变,使 180 号碱基位置突然编码终止。GJB2 基因编码的连接蛋白 26 与 GJB3 基因编码的 Cx31 相互作用也可能引发耳聋。如果患者 GJB3 基因有突变,发现听力下降需及时到耳鼻喉科就诊,避免延误病情。

SLC26A4 是俗称的“一巴掌致聋”基因,这个基

因异常会导致后天迟发型耳聋,以及临床上常见的大前庭水管综合征。本研究中 SLC26A4 单杂合突变率为 2.23%,与国内地方统计数值基本一致^[17]。SLC26A4 基因异常者主要表现为听力渐进性下降,如剧烈运动、头部磕碰等颅内压剧烈变化的情况下听力会出现明显下降^[18]。该基因遵循隐性遗传的方式,大部分患儿的父母听力正常,患儿出生时听力正常,偶然一次玩耍、生病、打架之后致聋,如果提前预知其危险性,可避免或延缓耳聋的发生,将耳聋推迟至语言系统发育完善后。因此,尽早检测 SLC26A4 基因对儿童发育至关重要。

12SrRNA 基因是线粒体基因,是俗称的“一针致聋”基因,携带该基因突变者使用一次性剂量的氨基糖苷类抗菌药物,如链霉素、庆大霉素等,便可致耳聋。本研究中有线粒体 12SrRNA 基因突变 16 例,突变率 0.46%,与国内其他地方统计值基本一致^[19]。该基因为线粒体基因,遵循母系遗传的方式。母亲为耳聋型药物的敏感人群,子女及其后代均为药物性耳聋人群。药物性耳聋基因的筛查能达到查出 1 人,预警 10 人的效果。

4 结 论

新生儿行遗传性耳聋基因检测具有重要而深远的意义,本研究发现,内蒙古自治区 4 种常见耳聋基因 20 个位点突变率(总突变率为 5.51%)略高于全国(总突变率为 4.98%)和我国其他地区突变率,下一步考虑在本地区将新生儿筛查数扩大,再统计遗传性耳聋基因突变率,观察是否有下降趋势。新生儿遗传性耳聋基因检测在内蒙古自治区持续推广非常必要。

参考文献

- [1] 凌寒. 卫生部发布《中国出生缺陷防治报告(2012)》[J]. 中国当代医药,2012,19(28):1.
- [2] DONG Y P, HE X B, WU W J, et al. Congenital middle ear malformation with common deafness gene mutation analysis: a review of 813 profound sensorineural hearing loss child patients[J]. Anat Rec (Hoboken), 2020, 303(3):594-599.
- [3] ZHOU Y G, LI C, LI M, et al. Mutation analysis of common deafness genes among 1 200 patients with non-syndromic hearing loss in Shanxi Province[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(3):e537.
- [4] 王世媛, 孙晓勉, 陆洋, 等. 新生儿听力与聋病易感基因联合筛查模式探讨[J]. 中国妇幼保健研究, 2017, 28(2): 156-159.
- [5] 孟培, 郝冬梅, 张金艳, 等. 正常人群中遗传性耳聋基因携带者筛查及结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(7):7.
- [6] 戴朴, 朱秀辉, 袁永一, 等. Pendred 综合征基因热点突变筛查赤峰市聋哑学校大前庭水管综合征患者[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006, 41(7):497-500.
- [7] CHEN G M, WANG X Y, FU S Q. Pre-(下转第 2720 页)

- cruitment and activation in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 6691-6702.
- [4] QI L, ZHANG W, CHENG Z, et al. Study on molecular mechanism of ANOS1 promoting development of colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182964.
 - [5] YOON J H, KANG Y H, CHOI Y J, et al. Gastrokeine 1 functions as a tumor suppressor by inhibition of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancers[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(11): 1697-1704.
 - [6] 罗云, 王崇树, 谢梦忆, 等. GKN1 在胃 GIST 的表达及其与生物行为的相关性研究[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2017, 30(1): 28-32.
 - [7] 谭海燕, 马书进. 胃癌患者术前血清肿瘤标志物监测[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(10): 1766-1767.
 - [8] 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状[J]. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1): 52-58.
 - [9] 张玉娇, 瞿文, 刘惠, 等. 原发免疫性血小板减少症患者 NK 细胞相关免疫负调控的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(5): 399-403.
 - [10] OSBORNE D G, DOMENICO J, LUO Y, et al. Interleukin-37 is highly expressed in regulatory T cells of melanoma patients and enhanced by melanoma cell secretome[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(9): 1670-1679.
 - [11] YAN X, ZHAO J, ZHANG R. Interleukin-37 mediates the antitumor activity in colon cancer through beta-catenin suppression[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 49064-49075.
 - [12] HUO J, HU J, LIU G, et al. Elevated serum interleukin-37 level is a predictive biomarker of poor prognosis in epithelial ovarian cancer patients[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 295(2): 459-465.
 - [13] DE CASTRO F, SEAL R, MAGGI R. ANOS1: a unified nomenclature for Kallmann syndrome 1 gene (KAL1) and anosmin-1[J]. *Brief Funct Genomics*, 2017, 16(4): 205-210.
 - [14] KANDA M, SHIMIZU D, FUJII T, et al. Function and diagnostic value of Anosmin-1 in gastric cancer progression[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(3): 721-730.
 - [15] 孙鹏娟, 李志锋, 刘芳, 等. 胃癌中抑癌基因 GKN1 和 p16 的表达及意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32(4): 437-439.
 - [16] STADIO C S, FARAONIO R, FEDERICO A, et al. GKN1 expression in gastric cancer cells is negatively regulated by miR-544a[J]. *Biochimie*, 2019, 167(1): 42-48.
 - [17] YOON J H, HAM I H, KIM O, et al. Gastrokeine 1 protein is a potential theragnostic target for gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2018, 21(6): 956-967.
 - [18] KANDA M, SUH Y S, PARK D J, et al. Serum levels of ANOS1 serve as a diagnostic biomarker of gastric cancer: a prospective multicenter observational study[J]. *Gastric Cancer*, 2020, 23(2): 203-211.
 - [19] ZHANG Y, TANG M, WANG X G, et al. Elevated serum levels of interleukin-37 correlate with poor prognosis in gastric cancer[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2019, 111(12): 941-945.

(收稿日期: 2019-12-17 修回日期: 2020-05-27)

(上接第 2715 页)

- valence of A1555G mitochondrial mutation in Chinese newborns and the correlation with neonatal hearing screening[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2011, 75(4): 532-534.
- [8] 刘学忠, 欧阳小梅, YAN D, 等. 中国人群遗传性耳聋研究进展[J]. *中华耳科学杂志*, 2006, 4(2): 81-89.
 - [9] SUN S Y, NIU L Y, TIAN J J, et al. Analysis of GJB2, SLC26A4, GJB3 and 12S rRNA gene mutations among patients with nonsyndromic hearing loss from eastern Shandong[J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2019, 36(5): 433-438.
 - [10] 阮宇, 文斌, 赵雪雷, 等. 75 649 例新生儿耳聋基因筛查及确诊者随访结果分析[J]. *中华耳科学杂志*, 2019, 17(5): 661-669.
 - [11] 蒋琦, 忻蓉, 沈学萍, 等. 2 029 例新生儿耳聋易感基因筛查结果分析[J]. *中国儿童保健杂志*, 2016, 24(5): 509-511.
 - [12] 施健. 南通地区 630 例外周血 15 个遗传性耳聋基因突变位点筛查分析[J]. *交通医学*, 2019, 33(3): 228-231.
 - [13] 马宁, 王艳, 彭薇, 等. 2 545 例新生儿遗传性耳聋基因突变筛查[J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(4): 444-447.
 - [14] SONIA T, CRYSTEL B, FARID B, et al. The spectrum of GJB2 gene mutations in Algerian families with non-syndromic hearing loss from Sahara and Kabylie regions[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2019, 124: 157-160.
 - [15] 韩军宁, 宋娜, 王晶, 等. 鲁中地区新生儿听力与耳聋基因联合筛查结果分析[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2019, 26(12): 685-688.
 - [16] 李庆忠, 王秋菊, 赵立东, 等. 国人非综合征型遗传性聋患者 GJB3 基因突变分析[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2005, 13(3): 145-148.
 - [17] 刘会华, 沈佳, 杜琴, 等. 江西儿童耳聋患者的耳聋基因分析[J]. *江西医药*, 2019, 54(3): 225-227.
 - [18] 赵雪雷, 黄丽辉, 王雪瑶, 等. SLC26A4 基因致聋突变患儿的基因型和听力学特点分析[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(11): 836-840.
 - [19] 徐红霞, 盛国强, 李彦华. 新疆维吾尔族耳聋患者 mtDNA12SrRNA 基因 A1555G 及 A827G 突变的研究[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2019, 27(5): 469-471.

(收稿日期: 2020-03-10 修回日期: 2020-07-08)