

# 深圳市光明区新生儿耳聋基因筛查结果分析

湛玉佳<sup>1,2</sup>, 杨江涛<sup>3</sup>, 庄利明<sup>2</sup>, 柳国胜<sup>1</sup>, 游敏玲<sup>4</sup>, 吴本清<sup>2</sup>

(1.暨南大学第一临床医学院, 广东 广州 510632;

2.中国科学院大学深圳医院<光明>中医科, 广东 深圳 518106;

3.深圳爱湾医学检验实验室, 广东 深圳 518000

4.深圳市罗湖区中医院, 广东 深圳 518000)

**摘要:**目的 分析深圳市光明区所属 3 家医院出生的新生儿耳聋基因检测结果, 以了解深圳光明区新生儿耳聋基因的突变携带情况。方法 采集深圳市光明区 2017 年 5 月~2018 年 11 月出生的新生儿足跟血 16249 份, 用 PCR+ 导流杂交法检测中国人群中常见的 4 个耳聋易感基因(GJB2、GJB3、SLC26A4、12SrDNA), 其中 2017 年 5 月~2018 年 3 月收集的标本检测 4 个常见耳聋基因的 9 个突变位点, 2018 年 3~11 月收集的标本检测 4 个常见基因的 15 个突变位点, 分析新生儿遗传性耳聋基因突变携带率及突变位点分布情况。结果 16249 名新生儿中, 检出携带突变耳聋基因 575 例, 总阳性率 3.53%, 其中检测 4 基因 9 位点样本数为 8448 例, 突变样本为 262 例, 突变率为 3.10%; 检测 4 基因 15 位点样本数为 7801 例, 突变样本为 313 例, 突变率为 4.01%。所有突变基因中, GJB2 基因(1.96%)和 SLC26A4 基因的突变率最高(1.21%)。结论 深圳市光明区新生儿遗传性耳聋基因突变率低于全国平均水平, 基因突变主要以 GJB2 基因、SLC26A4 基因为主, 扩大基因位点数量的检测有利于降低漏筛率; 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; 基因芯片; 筛查

中图分类号: R764.43

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.13.039

文章编号: 1006-1959(2020)13-0134-04

## Analysis of Genetic Screening Results of Newborn Deafness in Guangming District, Shenzhen

CHEN Yu-jia<sup>1,2</sup>, YANG Jiang-tao<sup>3</sup>, ZHUANG Li-ming<sup>2</sup>, LIU Guo-sheng<sup>1</sup>, YOU Min-ling<sup>4</sup>, WU Ben-qing<sup>2</sup>

(1.The First Clinical School of Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China;

2.Department of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen Hospital<Guangming>, University of Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518106, Guangdong, China;

3.Shenzhen Aiwan Medical Laboratory, Shenzhen 518000, Guangdong, China;

4.Luohu District Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518000, Guangdong, China)

**Abstract:** Objective To analyze the detection results of deafness genes in neonates born in 3 hospitals in Guangming district of Shenzhen, so as to understand the mutation carrying status of deafness genes in newborns in Shenzhen Guangming district. Methods Collecting 16249 blood samples of newborns born from May 2017 to November 2018 in Guangming District, Shenzhen, and use PCR + flow-through hybridization to detect 4 common deafness susceptibility genes (GJB2, GJB3, SLC26A4, 12SrDNA), among which the specimens collected from May 2017 to March 2018 detected 9 mutation sites of 4 common deafness genes, and the specimens collected from March to November 2018 detected 15 mutation sites of 4 common genes, the mutation carrying rate and distribution of mutation sites of hereditary deafness genes in newborns were analyzed. Results Among 16249 newborns, 575 cases with mutation deafness genes were detected, with a total positive rate of 3.53%, of which 8448 samples were detected for 9 sites of 4 genes, 262 samples were mutated, and the mutation rate was 3.10%; 4 genes were detected 15 the number of loci samples was 7801, the mutation samples were 313, and the mutation rate was 4.01%. Among all the mutated genes, GJB2 gene (1.96%) and SLC26A4 gene had the highest mutation rate (1.21%). Conclusion The mutation rate of hereditary deafness genes in the Guangming District of Shenzhen City is lower than the national average. The genetic mutations are mainly GJB2 gene and SLC26A4 gene. Enlarging the detection of gene loci is helpful to reduce the screening rate; early detection and early intervention can reduce the occurrence of deafness.

**Key words:** Hereditary deafness; Neonate; Gene mutation; Gene chip; Screening

我国每年将新增约 2 万名听力障碍新生儿, 占每年出生新生儿的 1%, 其中 60% 与遗传因素有关<sup>[1]</sup>。新生儿常见耳聋基因突变筛查已在全国多地区展开<sup>[2,3]</sup>。研究显示, 虽然目前已知 90 多种基因与 NSHL 有关, 但在我国, 80% NSHL 患者主要涉及以下 4 种致聋基因: GJB2、GJB3、SLC26A4、线粒体 12SrRNA<sup>[4]</sup>。通过大规模新生儿耳聋基因筛查, 可以了解区域耳聋基因致病位点的分布和发病情况, 并给予早期有效的防治措施, 目的是早发现、早干

预、早治疗<sup>[5]</sup>。本研究对深圳市光明区出生的 16249 例新生儿的四种耳聋易感基因的检测结果进行了分析。

### 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 以 2017 年 5 月~2018 年 11 月在中国科学院大学深圳医院(东院区、西院区)、深圳市宝田医院三家医院出生的 16249 例新生儿为研究对象, 其中男性 63090 例, 女性为 46841。经同监护人知情、同意、自愿参与调查, 并由监护人认真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** 新生儿出生后 72 h 后, 充分哺乳 8 次后采集足跟末梢血 3 个血斑, 每个血斑直径大于 8 mm, 自然晾干后置于封口袋内, 密闭保存于 2℃~8℃冰箱内。

基金项目: 深圳市科技创新委员会项目(编号: JCYJ20180502163111336)

作者简介: 湛玉佳(1988.12-), 女, 江西南昌人, 博士, 主治医师, 主要从事儿科学和新生儿科科研工作

通讯作者: 吴本清(1965.10-), 男, 湖南邵阳人, 博士, 主任医师, 主要从事小儿内科临床与科研工作

1.3 方法 按照耳聋基因检测试剂盒 (PCR+导流杂交法)的操作说明书,对 2017 年 5 月~2018 年 3 月所收标本检测 4 个常见耳聋易感基因 (GJB2、SLC26A4、线粒体 DNA 和 GJB3)的 9 个突变位点,包括 235delC、176del16、35delG、299del AT、2168A>G、IVS7-2A>G、1555A>G、1494C>T、538C>T;2018 年 3~11 月所收集标本检测 4 个常见的耳聋易感基因的 15 个突变位点,除上述 9 个位点,还包括 IVS15 +5G>A、1975G>C、1174A>T、1226G>A、1229C>T、2027T>A。

1.4 统计学方法 采用 SPSS20.0 统计软件对检测结果进行统计学分析,计数资料采用 (%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 新生儿遗传性耳聋基因突变携带率 16249 例新生儿中共检出遗传性耳聋基因突变 575 例,携带率为 3.53%。其中检测 4 基因 9 位点样本数为 8448 例,突变样本为 262 例,突变率为 3.10%;检测 4 基

表 1 新生儿遗传性耳聋基因突变携带率

项目	n	4 基因 9 位点	4 基因 15 位点
检测样本总数	16249	8448	7801
突变样本总数	575	262	313
占检测样本总数比率	3.54%	3.10%	4.01%

表 3 4 基因 9 位点突变数据分析

位点	杂合突变型	异质突变型	纯合突变型	均质突变型	小计	突变率 (%)
GJB2						
299300delAT	13	0	0	0	13	0.08
35del G	1	0	0	0	1	0.0062
176191 del 16	5	0	0	0	5	0.03
235del C	132	0	0	0	132	0.81
合计					151	0.93
GJB3						
538C>T	6	0	0	0	6	0.037
SLC26A4						
IVS7-2A>G	79	0	0	0	79	0.49
2168A>G	8	0	0	0	8	0.049
合计					87	0.54
线粒体 12SrRNA						
1494C>T	0	0	0	0	0	0
1555A>G	0	6	0	16	22	0.14
合计					22	0.14

## 3 讨论

耳聋是临床常见的感觉功能障碍性疾病,严重影响人类生活质量,我国患听力障碍人数占我国残障人群 14%,而作为新生儿较常见的一种出生缺陷,听力障碍对新生儿语言发育系统产生直接的影响,对新生儿身心健康有着重要的影响,同时会增加社会和家庭负担<sup>[6]</sup>。遗传性耳聋目前没有理想的治疗措施,新生儿耳聋基因筛查,能够早期发现携带耳聋基因突变的高危新生儿,通过早期用药干预及生活指导,可预防和避免耳聋的发生,降低耳聋的发生率。

因 15 位点样本数为 7801 例,突变样本为 313 例,突变率为 4.01%,见表 1。

2.2 新生儿遗传性耳聋基因突变位点分布情况 16249 例新生儿共检测位点总数为 193047,突变位点总数为 581,其中 4 个基因 9 个位点检测出 266 个突变位点,4 个基因 15 个位点检测 315 个突变位点,见表 2。581 个突变位点中,GJB2 基因突变 319 例,突变率 1.96%(319/16249),高于 SLC26A4 的 1.21%(196/16249)、GJB3 的 0.098%(16/16249)、线粒体 12SrRNA 的 0.31%(50/575)、复合基因位点突变的 0.037%(6/16249),差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。其中基因突变位点频率最高的为 GJB2 基因的 235delC 杂合突变,突变率为 1.63%(265/16249),其次为 SLC26A4 基因的 IVS7-2A>G 杂合突变,突变率为 0.91%(148/16249) 及线粒体 12SrRNA 基因的 1555A>G 突变,突变率为 0.30%(49/16249),见表 3、表 4。共有复合基因位点突变 6 例,突变率为 0.037%,见表 5。

表 2 新生儿遗传性耳聋基因突变位点分布情况

项目	n	4 基因 9 位点	4 基因 15 位点
检测位点总数	193047	76032	117015
突变位点数	581	266	315
同一样本多位点突变数	6	2	4

本研究共有 16249 例新生儿进行耳聋基因筛选,共筛查出 575 例新生儿携带耳聋基因突变,总携带率为 3.53%(575/16249)。其中 4 基因 9 位点筛查出突变样本为 262 例,突变率为 3.10%;4 基因 15 位点筛查出突变样本为 313 例,突变率为 4.01%。相对于 9 项遗传性筛查,15 项遗传筛查增加了 6 项中国人群突变频率相对较高的位点,突变检测率增加 0.91%,但仍低于深圳市南山区 (4.31%)、福田区 (4.47%) 及龙华区 (4.92%) 新生儿耳聋基因突变位点携带率<sup>[7,8]</sup>,低于全国基因突变水平的 4.39%。考虑可能与检测基因位点数量不同有关,上述文献中采

表 4 4 基因 15 位点突变数据分析

	位点	杂合突变型	异质突变型	纯合突变型	均质突变型	小计	突变率(%)
GJB2	299300delAT	28	0	0	0	28	0.17
	35del G	1	0	0	0	1	0.0062
	176191 del 16	6	0	0	0	6	0.037
	235del C	132	0	1	0	133	0.82
合计						168	1.03
GJB3	538C>T	10	0	0	0	10	0.062
SLC26A4	IVS7-2A>G	69	0	0	0	69	0.42
	2168A>G	11	0	0	0	11	0.068
	2027T>A	1	0	0	0	1	0.0062
	1226G>A	4	0	0	0	4	0.025
	1229 C>T	17	0	0	0	17	0.105
	IVS15+5G>A	4	0	0	0	4	0.025
	1975G>C	1	0	0	0	1	0.0062
	1174A>T	2	0	0	0	2	0.012
	合计					109	0.67
线粒体 12SrRNA	1494C>T	0	0	0	1	1	0.0062
	1555A>G	0	13	0	14	27	0.166
合计						28	0.172

表 5 6 例耳聋基因复合突变

复合突变	突变位点	n
299300delAT/1229 C>T 复合杂合突变		2
235del C/2168A>G 复合杂合突变		2
235del C/ IVS7-2A>G 复合杂合突变		1
299300delAT/1975G>C 复合杂合突变		1

用飞行时间质谱检测技术检测常见的 4 个耳聋基因 20 个位点,因此,扩大基因位点数量的检测,有利于降低漏筛率,同时早发现、早干预,减少耳聋发生。

GJB2 基因是常染色体隐性遗传,主要编码跨膜蛋白 Cx26,广泛存在耳蜗的上皮和结缔组织中。Cx26 蛋白与其他蛋白形成缝隙连接通道,主要参与内耳淋巴液钾离子的循环。GJB2 基因突变,编码的 Cx26 蛋白功能异常,引起钾离子的回流障碍,影响耳蜗毛细胞的电生理活动,导致听力功能损伤<sup>[9]</sup>。GJB2 基因突变引起的听力损失主要是先天性的,表现为双耳对称、中至重度的感音神经性听力障碍。GJB2 基因中 235delC 杂合突变在中国人群中的主要突变位点<sup>[10]</sup>。本次筛查出 318 例新生儿携带 GJB2 基因杂合突变,携带率为 1.96%。由于 GJB2 为常染色体隐性基因,携带者仅携带一个致病突变,并不发病,建议定期随访和检测。本研究筛查 1 例 235delC 纯和突变,GJB2 基因纯合突变患者的听力损失较复合杂合突变患者重,一般表现为极重度听力障碍。因其病变部位在耳蜗,植入人工耳蜗具有良好的干预效果<sup>[11]</sup>。该患儿可早期通过植入人工耳蜗避免语言发育受损,从而改善生活质量。

GJB3 基因是我国夏家辉院士<sup>[12]</sup>第一个定位克

隆的耳聋相关基因,GJB3 基因突变可引起常染色体显性或隐性遗传性 NSHL。该基因编码连接蛋白 Cx31,存在于相邻细胞的细胞膜内,使相邻细胞交换离子及其代谢物,维持内耳耳蜗内稳态,其突变表现为出生时听力正常,主要引起后天高频感音神经性耳聋。该基因突变率在中国携带率较低,本研究有 16 例 GJB3 基因 538C>T 突变的新生儿,应高度重视并定期跟踪随访,及时治疗。

SLC26A4 基因为常染色体隐性遗传,主要编码 pendrin 跨膜蛋白,该基因突变导致 pendrin 蛋白合成及功能异常,影响碘/氯离子运输,引起大前庭水管综合征,颅内压增高引起耳蜗前庭内环境增大,损伤内耳毛细胞。SLC26A4 基因最常见的突变类型为 IVS7-2A>G,本研究中 IVS7-2A>G 突变率为 0.91%,仅次于 235delC 的突变率 1.63%,与文献报道一致<sup>[13]</sup>。患儿出生时多为听力正常,但在头部受到剧烈撞击、噪音或感冒后,逐渐出现听力损伤。本研究筛查出 196 例携带 SLC26A4 基因杂合突变的新生儿,携带率为 1.21%,定期跟踪随访。

线粒体 12SrRNA 为母系遗传,线粒体基因突变与耳毒性药物相关性耳聋有关。该基因 1494C>T 和 1555A>G 位点突变导致线粒体 DNA 的空间结构改变,暴露氨基糖苷类药物的结合位点暴露,药物与该基因位点结合后,可导致耳蜗毛细胞功能的损伤,导致耳聋的发生。新生儿携带 12SrRNA 基因突变,出生时大多无听力障碍,但在氨基糖苷类药物后可能出现不可逆性的听力损伤。因此,本研究中 44

(下转第 139 页)

(上接第 136 页)

例携带 12SrRNA 基因突变的新生儿应避免使用氨基糖苷类药物,降低耳聋发生率。

本次筛查出 6 例新生儿携带 GJB2 和 SLC26A4 基因复合杂合突变,研究表明<sup>[4]</sup>,GJB2 和 SLC26A4 多杂合突变引起的新生儿听力损失呈现异质性,新生儿出生可表现为单耳轻度异常,也可表现为双耳中度、重度感音神经性耳聋,或者新生儿出生时听力正常,而出现迟发性耳聋。本研究 6 例携带多基因突变新生儿应引起高度重视,进行宣教,定期监测和随访,预防耳聋发生。

目前我国新生儿耳聋基因筛查仍有局限性,对于筛查“阴性”者,并不能除外未携带耳聋相关基因突变。引起 NSHL 基因广泛,新生儿筛查仅仅包括常见四个耳聋基因,仍有几十个与遗传性耳聋有关基因尚未筛查。目前常见的遗传性耳聋检测方法包括 Sanger 法、基因芯片法、限制性酶切法、变性高效液相色谱法、飞行时间质谱法及高通量测序技术等。相信随着技术推广,针对非综合性遗传性耳聋筛查会覆盖多基因多位点在我国广泛开展,从而更有效的降低耳聋发病率。

#### 参考文献:

- [1]方炳雄,蔡勉珊,张俊贤,等.粤东地区 1430 例新生儿遗传性耳聋基因筛查结果分析[J].广东医科大学学报,2019,37(1):12-15.
- [2]罗建立,邱里,郭洪梁,等.湖南省 9957 例新生儿遗传性耳聋基因突变筛查分析[J].中国优生与遗传杂志,2018,26(8):89-90,92.
- [3]王亚男,王亚新,高明雅,等.洛阳地区 4106 例新生儿遗传性耳聋基因的筛查分析 [J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(10):

103-106.

- [4]中华人民共和国卫生部.中国出生缺陷防治报告[R].北京:中华人民共和国卫生部,2012.
- [5]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.
- [6]李天浩,梁建梅,王向东,等.听力筛查不合格新生儿的常见耳聋基因检测 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志,2017,36(6):454-456.
- [7]方霞,杨贤慧,张慧莲,等.4305 例新生儿遗传性耳聋基因突变携带率及其基因突变位点分析 [J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(1):63-65.
- [8]蒋琦,忻蓉,沈学萍,等.2029 例新生儿耳聋易感基因筛查结果分析[J].中国妇幼保健杂志,2016,24(5):509-511.
- [9]黄美琼,葛晶晶,张广清,等.1674 例新生儿耳聋基因筛查结果分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(10):1398-1399.
- [10]Xia JH,Liu CY,Tang BS,et al.Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-associated with autosomal dominant hearing impairment[J].Nat Genet,1998,20(4):370-373.
- [11]邱里,彭欣辉,刘贵清,等.4500 例新生儿耳聋基因突变分析[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(3):328-330.
- [12]夏家辉,夏昆,何云贵,等.类间隙连接蛋白  $\beta$ -3 基因结构及其编码区序列变异的研究 [J]. 云南大学学报 (自然科学版),1999(S3):257-258.
- [13]李振安,余凤慈,包永新,等.佛山市 40672 例新生儿耳聋基因筛查结果分析[J].妇产与遗传,2017,7(1):47-50.
- [14]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(2):176-180.

收稿日期:2020-04-02;修回日期:2020-04-11

编辑/成森