

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.03.009

云浮地区 1 983 例新生儿耳聋基因筛查结果分析

祝惠钦

云浮市人民医院, 广东云浮 527300

摘要:目的 分析云浮地区新生儿耳聋基因突变特点,为云浮地区的遗传性耳聋防治提供依据。**方法** 收集该院 2019 年 1 月至 2021 年 3 月共 1 983 例新生儿足跟血斑点标本,采用 PCR+导流杂交法对 4 个常见耳聋基因[GJB2、SLC26A4、GJB3、线粒体 DNA(mtDNA)]13 个突变位点(GJB2: 235delc、299delAT、176del16、35delG、155delTCTG; SLC26A4: IVS7-2A>G、1229C>T、2168A>G; GJB3: 538C>T; mtDNA: 12SrRNA1555A>G、12SrRNA1494C>T、tRNA7445A>G、tRNA12201T>C)进行检测,分析耳聋基因筛查结果。**结果** 1 983 例新生儿 4 个常见耳聋基因突变携带率为 2.72%(54/1 983)。不同性别新生儿基因突变携带率(男婴 2.45%,女婴 3.06%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。GJB2、SLC26A4、GJB3、mtDNA 基因携带率分别为 1.51%(30/1 983)、0.96%(19/1 983)、0.10%(2/1 983)和 0.15%(3/1 983),4 个耳聋基因之间比较差异有统计学意义($\chi^2=40.320, P<0.001$)。13 个基因位点突变频率以 GJB2 235delC(33.33%)最高,SLC26A4 IVS7-2A>G(25.93%)次之,mtDNA 12SrRNA1494C>T 和 mtDNA tRNA12201T>C 未检出。54 例耳聋基因突变新生儿中有 34 例完成听力筛查,其中 32 例为双耳均通过听力筛查。**结论** 云浮地区新生儿遗传性耳聋基因以 GJB2 基因携带为主,基因位点突变频率以 GJB2 235delC 最高,SLC26A4 IVS7-2A>G 次之。同一地区不同基因突变携带率有所不同,不同地区相同基因突变位点的携带各有特点,需要根据当地突变特点采取合适的防治措施。

关键词:耳聋基因筛查; 遗传性耳聋; 新生儿; GJB2 基因; SLC26A4 基因; GJB3 基因; 线粒体 DNA 基因

中图法分类号:R764.43

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)03-0321-04

Analysis of deafness gene screening results of 1 983 newborns in Yunfu area

ZHU Huiqin

Yunfu People's Hospital, Yunfu, Guangdong 527300, China

Abstract: **Objective** To investigate the mutation characteristics of deafness genes in newborns in Yunfu area, and to provide basis for prevention and treatment of hereditary deafness in Yunfu area. **Methods** Heel blood spot samples were collected from 1 983 newborns in the hospital from January 2019 to March 2021, 13 mutation sites (GJB2: 235delc, 299delAT, 176del16, 35delG, 155delTCTG; SLC26A4: IVS7-2A>G, 1229C>T, 2168A>G; GJB3: 538C>T; mtDNA: 12SrRNA1555A>G, 12SrRNA1494C>T, tRNA7445A>G, tRNA12201T>C) of four common deafness genes (GJB2, SLC26A4, GJB3 and mtDNA) were detected by PCR diversion hybridization, and the screening results of deafness genes were analyzed. **Results** The mutation rate of four common deafness genes in 1 983 newborns was 2.72% (54/1 983). There was no significant difference in the mutation rate of deafness genes (2.45% for boys and 3.06% for girls) between the two sexes ($P>0.05$). The mutation rates of GJB2, SLC26A4, GJB3 and mtDNA were 1.51% (30/1 983), 0.96% (19/1 983), 0.10% (2/1 983) and 0.15% (3/1 983) respectively, and there was significant difference in the carrying rate among the four deafness genes ($\chi^2=40.320, P<0.001$). The mutation frequency of 13 gene locus was highest in GJB2 235delC (33.33%), followed by SLC26A4 IVS7-2A>G (25.93%), mtDNA 12SrRNA1494C>T and mtDNA tRNA12201T>C were not detected. Hearing screening was completed in 34 of the 54 newborns with deafness genes mutation, 32 cases passed the hearing screening in both ears. **Conclusion** In Yunfu area, GJB2 gene was the main carrier, SLC26A4 gene was the second. However, GJB3 gene and mtDNA gene were relatively rare. Mutation frequency of gene locus was highest in GJB2 235delC, followed by

作者简介:祝惠钦,男,主管技师,主要从事临床生化与分子诊断检验研究。

本文引用格式:祝惠钦. 云浮地区 1 983 例新生儿耳聋基因筛查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(3): 321-323.

SLC26A4 IVS7-2A>G. The mutation rate was diversity in different deafness genes in the same region, and the carrying situation of the same deafness gene mutation sites in different regions have their own characteristics, so it is necessary to take appropriate control measures according to the local characteristics.

Key words: deafness gene screening; hereditary deafness; newborns; GJB2 gene; SLC26A4 gene; GJB3 gene; mtDNA gene

耳聋是人类残疾中的常见类型,随着分子生物学和遗传学的深入研究,遗传因素导致的耳聋逐步被人们重视。我国每年约有 2 000 万新生儿出生,新生儿先天性耳聋的发生率在 0.93%~7.70%^[1],新生儿耳聋基因携带率可达 5.00%^[2]。我国常见耳聋基因主要有 GJB2、SLC26A4、GJB3 和线粒体 DNA(mtDNA)基因,且不同地区、民族突变热点和频率各有不同^[3],故积极开展耳聋基因筛查有重要的临床意义。本研究通过分析云浮地区 1 983 例新生儿遗传性耳聋基因筛查结果,初步了解云浮地区新生儿遗传性耳聋基因突变特点,为云浮地区的遗传性耳聋防治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2021 年 3 月在云浮市人民医院出生并接受遗传性耳聋基因筛查的新生儿 1 983 例作为研究对象,其中男婴 1 100 例,女婴 883 例。所有监护人同意新生儿接受遗传性耳聋基因筛查和听力筛查并由监护人签署知情同意书。

1.2 方法 采集所有新生儿足跟血斑点标本,采用 PCR+导流杂交法对 4 个常见遗传性耳聋易感基因(GJB2、SLC26A4、GJB3 和 mtDNA)13 个突变位点进行检测。13 个突变位点分别是:GJB2 基因的 235delC、299delAT、176del16、35delG、155delTCTG, SLC26A4 基因的 IVS7-2A>G、1229C>T、2168A>G, GJB3 基因的 538C>T,以及 mtDNA 基因的 12SrRNA1555A>G、12SrRNA1494C>T、tRNA7445A>G、tRNA12201T>C。耳聋易感基因检测试剂盒购自广州凯普医药科技有限公司。使用耳声发射器进行听力筛查,仪器购自德国麦科(Maico)听力仪器设备公司。

1.3 统计学处理 利用 Excel 2007 建立数据库,应用 SPSS23.0 统计软件进行数据分析。计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验,当期望频数小于 5 时采用 Fisher 精确检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别常见遗传性耳聋基因携带率分析

1 983 例新生儿 4 个常见遗传性耳聋基因突变携带率为 2.72%(54/1 983),其中男婴遗传性耳聋基因突变携带率为 2.45%(27/1 100),女婴遗传性耳聋基因突变携带率为 3.06%(27/883),男女遗传性耳聋基因突

变携带率差异无统计学意义($\chi^2=0.673, P>0.05$)。

2.2 4 个常见遗传性耳聋基因突变携带率分析

GJB2 基因携带率为 1.51%(30/1 983),占比为 55.56%(30/54)。SLC26A4 基因携带率为 0.96%(19/1 983),占比为 35.19%(19/54)。GJB3 基因携带率为 0.10%(2/1 983),mtDNA 基因携带率为 0.15%(3/1 983)。以 GJB2 基因携带为主,SLC26A4 基因次之。4 个常见遗传性耳聋基因突变携带率比较,差异有统计学意义($\chi^2=40.320, P<0.001$)。

2.3 4 个常见遗传性耳聋基因 13 个突变位点情况分析

4 个常见遗传性耳聋基因 13 个基因位点突变频率以 GJB2 235delC(33.33%)最高,SLC26A4 IVS7-2A>G(25.93%)次之,mtDNA 12SrRNA1494C>T 和 mtDNA tRNA12201T>C 未检出。GJB2 基因以杂合突变为主,占比为 96.67%(29/30),仅有 1 例是 GJB2 基因纯合突变,为 GJB2 155delTCTG,未检出 GJB2 基因复合杂合突变。SLC26A4 和 GJB3 538C>T 均为杂合突变,而 mtDNA 异质突变和均质突变均有检出。见表 1。

表 1 1 983 例新生儿 4 个遗传性耳聋基因 13 个突变位点情况分析

基因	突变位点	突变类型	n	携带率 (%)	突变频率 (%)
GJB2	235delC	杂合突变	18	0.91	33.33
	299delAT	杂合突变	5	0.25	9.26
	176del16	杂合突变	4	0.20	7.41
	35delG	杂合突变	2	0.10	3.70
	155delTCTG	纯合突变	1	0.05	1.85
SLC26A4	IVS7-2A>G	杂合突变	14	0.71	25.93
	1229C>T	杂合突变	3	0.15	5.56
	2168A>G	杂合突变	2	0.10	3.70
GJB3	538C>T	杂合突变	2	0.10	3.70
mtDNA	12SrRNA1555A>G	异质突变	2	0.10	3.70
	12SrRNA1494C>T	—	0	0.00	0.00
	tRNA7445A>G	均质突变	1	0.05	1.85
	tRNA12201T>C	—	0	0.00	0.00

注:—表示未检测。

2.4 54 例耳聋基因突变新生儿听力筛查情况分析

54 例耳聋基因突变新生儿循医嘱在本院完成听力筛查的有 34 例。其中有 32 例为双耳均通过听力筛查,

有 1 例新生儿听力筛查结果为双耳均不通过,是 GJB2 235delC 基因杂合突变,有 1 例新生儿听力筛查结果为左耳不通过、右耳通过,是 GJB2 299delAT 基因杂合突变。

3 讨 论

耳聋是人类主要的残疾之一,主要由遗传因素引起,占 60%~70%^[4]。在已开展耳聋基因筛查的机构中,4 个基因 9 个位点及 4 个基因 20 个位点的筛查方案应用较广,其中以 GJB2 基因及 SLC26A4 基因变异最为常见^[2]。本研究对 4 个常见遗传性耳聋基因 13 个基因位点的检测结果进行分析,并对耳聋基因突变的新生儿进行听力筛查追踪分析。

本研究分析本地区 1 983 例新生儿遗传性耳聋基因筛查结果发现,遗传性耳聋基因突变携带率为 2.72%(54/1 983),低于其他地区报告的携带率(3.56%~3.85%)^[5-8]。考虑本研究检测的是 4 个常见遗传性耳聋基因 13 个基因位点,通过增加检测相关基因及突变位点个数,新生儿的常见遗传性耳聋基因携带检出率是否会升高,有待进一步的研究。分析本地区不同性别新生儿常见遗传性耳聋基因携带率发现,男婴和女婴之间的遗传性耳聋基因突变携带率差异无统计学意义($\chi^2=0.673, P>0.05$),与韩佳佳等^[9]报道的结果一致。4 个常见遗传性耳聋基因之间突变携带率差异有统计学意义($\chi^2=40.320, P<0.001$),提示云浮地区不同基因突变位点的携带率有所不同,以 GJB2 基因携带为主,SLC26A4 基因次之。

GJB2 基因突变与迟发性耳聋存在一定的相关性,存在种族、地区差异性^[10],而 GJB2 235 delC 突变在东亚较常见^[11]。本研究中,GJB2 基因携带率为 1.51%,以 GJB2 235delC(33.33%)突变频率最高,提示云浮地区新生儿 235delC 是 GJB2 基因上的热点突变,与梁少明等^[12]报道的粤西部分地区耳聋患者一致,而梁少明等^[12]同时发现 GJB2 109G>A 也是粤西地区 GJB2 基因的突变热点。云浮地区是否需要将 GJB2 109G>A 突变位点作为耳聋基因筛查的常规项目,有待进一步的临床研究。本研究检出 1 例为 GJB2 155delTCTG 纯合突变,该病例听力初筛通过,虽然为非先天性聋儿,但也应及早进行干预,避免由聋致哑。SLC26A4 基因与耳聋-甲状腺肿综合征、大前庭导水管综合征的关系非常密切。本研究 SLC26A4 基因携带率为 0.96%,以 IVS7-2A>G(25.93%)位点突变为主,低于余红等^[13]报道的新生儿 SCL26A4 检出率(1.17%),但与其 IVS7-2A>G 位点突变构成比(25.47%)一致。本研究检出 3 例为 SLC26A4 1229C>T 杂合突变,均能通过听力初筛。GJB3 基因位属常染色体显性或隐性遗传,该基因突变往往会导致高频听力损失或后天性耳聋^[14]。本研

究检出 2 例新生儿 GJB3 538C>T 杂合突变(0.10%),这 2 例新生儿均能通过听力初筛。mtDNA 12SrRNA1555A>G 和 12SrRNA1494C>T 与药物性耳聋关系密切,部分患者对氨基糖甙类抗菌药物高度敏感,可致携带者不可逆转的听力损失^[15]。本研究中云浮地区虽然暂未检出 12SrRNA1494C>T,但有检出 2 例患者是 12SrRNA1555A>G 异质突变(0.10%),提示临床对这 2 例患者应禁止使用氨基糖甙类抗菌药物进行治疗。本研究检出 1 例为 tRNA7445A>G 均质突变,能通过听力初筛,未检出 tRNA12201T>C。通过分析云浮地区与其他地区^[5-9]的 4 个耳聋基因(GJB2、SLC26A4、GJB3 和 mtDNA)的携带情况,发现不同地区相同耳聋基因的携带率各有特点,所以各地区应积极开展遗传性耳聋基因筛查工作,了解区域内的耳聋基因突变特点,采取合适的防治措施。

综上所述,云浮地区新生儿遗传性耳聋基因以 GJB2 基因携带为主、SLC26A4 基因次之,而 GJB3 基因与 mtDNA 基因携带相对少见。基因位点突变频率以 GJB2 235delC(33.33%)最高,SLC26A4 IVS7-2A>G(25.93%)次之。同一地区不同耳聋基因突变位点的携带率不同,不同地区相同耳聋基因的携带各有特点,需要根据当地遗传性耳聋基因突变特点采取合适的防治措施。

参考文献

- [1] 王秋菊. 新生儿聋病基因筛查: 悄然的革命[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2008, 16(2): 83-88.
- [2] 文斌, 黄丽辉, 解舒婷, 等. 中国部分地区新生儿耳聋基因筛查现状调查[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(11): 972-977.
- [3] 林彩娟, 阳奇, 蒙林涛, 等. 广西地区民族间新生儿遗传性耳聋基因筛查相关性研究[J]. 中华耳科学杂志, 2021, 19(3): 423-427.
- [4] 冀飞, 王秋菊. 新生儿听力与基因联合筛查的程序与结果解读[J]. 中华耳科学杂志, 2012, 10(1): 134-135.
- [5] 李玛, 叶燕绸, 何国炜, 等. 广州市地区 7 234 例新生儿耳聋基因突变分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 11-15.
- [6] 张艳芳, 谢丰华, 李闪闪, 等. 中山市 4 370 例新生儿耳聋基因筛查联合听力筛查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(17): 2538-2542.
- [7] 张秋韵, 刘云亮, 毛竹, 等. 11 684 例新生儿听力及耳聋基因联合筛查结果分析[J]. 中华耳科学杂志, 2021, 19(3): 457-461.
- [8] 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.
- [9] 韩佳佳, 胡林, 刘轶, 等. 淄博市 23 689 例(下转第 329 页)

行验证。本研究运用了国家临检中心 2020 年第 1 次 SARS-CoV-2 核酸检测的室间质评标本,在室间质评结果回馈后已知其中一些阴性标本的真实成分,这些病原体刚好可用于交叉反应验证,且都经过灭活处理,对操作人员无致病性。本研究分别吸取 200 μ L 已知病原体标本加入 200 μ L 标本保存液或经确认为阴性的标本中充分混匀,与常规样品一起处理和检测,重复检测 3 次的检测结果均为阴性,检测结果可接受,交叉反应验证通过。

抗干扰能力验证应验证说明书中涉及干扰物质对测定的影响,常见干扰物质主要包括血红蛋白、三酰甘油、胆红素、免疫球蛋白、类风湿因子、黏蛋白、抗核抗体和药物等。SARS-CoV-2 核酸检测一般采集的标本为鼻咽或口咽拭子,可能存在血红蛋白或黏蛋白的干扰,因此在本研究中验证了血液和黏蛋白 2 种内源性干扰物质的影响,在弱阳性标本中加入干扰物质溶液,使干扰物质的终浓度与厂家声明的浓度相同,将含有干扰物质的弱阳性标本重复测定 2 次,检测结果仍为弱阳性,说明在混有血液 $\leq 50\%$ 、黏蛋白 ≤ 0.9 mg/mL 等内源性干扰物质时,不影响检测结果的判读,对测定无显著影响,满足试剂说明书中的要求。

综上所述,核酸检测是 SARS-CoV-2 诊断的重要方法。本研究结果显示该检测系统的结果准确可靠,精密度好,灵敏度高,抗干扰能力强,与试剂说明书提供的检测性能一致,可以满足目前 SARS-CoV-2 初筛检测的要求。本研究提供了一套 SARS-CoV-2 核酸检测的性能验证方案,在阳性标本不易获取的条件下可以适当使用室间质评的标本进行检测系统的性能验证。检测系统的性能验证或评价不仅是实验室认可的需求,更是保证检测结果准确可靠的需求,实验室应建立文件化的性能验证程序,注意性能验证的时机,制订相应的验证方案,在开展新项目时做好性

能评价。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版修订版)的通知[EB/OL]. (2021-04-15)[2020-04-19]. <http://www.nhc.gov.cn/zyyji/s7653p/202104/7de0b3837c8b4606a0594aeb0105232b.shtml>.
- [2] 潘柏申,尚红.检验医学在抗击新型冠状病毒肺炎中的发展[J].中华检验医学杂志,2021,44(1):1-2.
- [3] 上海市医学会检验医学分会.新型冠状病毒核酸和抗体检测临床应用专家共识[J].国际检验医学杂志,2020,41(14):1665-1669.
- [4] 国家市场监督管理总局,中国国家标准化管理委员会.医学实验室 质量和能力的要求第 1 部分通用要求:GB/T22756.1-2018[S].北京:中国标准出版社,2019.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02-A009:2018 医学实验室质量和能力认可准则在临床分子诊断领域的应用说明[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2018.
- [6] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL039:2019 分子诊断检验程序性能验证指南[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2019.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.定性测定性能评价指南:WS/T505-2017[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [8] 祝丽晶,侯盼飞,潘艳,等.一种新型冠状病毒核酸检测试剂的性能验证[J].中国国境卫生检疫杂志,2020,43(6):389-392.
- [9] 张瑞,李金明.如何减少新型冠状病毒核酸检测的假阴性[J].中华医学杂志,2020,100(11):801-804.
- [10] 中国医院协会临床微生物实验室专业委员会.新型冠状病毒实验室检测专家共识[J].协和医学杂志,2021,12(1):18-26.

(收稿日期:2021-04-09 修回日期:2021-11-11)

(上接第 323 页)

- 新生儿耳聋基因筛查结果分析[J].听力学及言语疾病杂志,2021,29(5):531-534.
- [10] 秦梦瑶,冯永,吴学文. GJB2 突变相关的迟发性遗传性聋研究进展[J].中华耳科学杂志,2021,19(2):316-321.
 - [11] YAO J, LU Y, WEI Q, et al. A systematic review and meta-analysis of 235delC mutation of GJB2 gene[J]. J Transl Med, 2012, 10:136.
 - [12] 梁少明,李卫红,郑恒,等.粤西部分地区耳聋患者耳聋基因检测结果分析[J].中华耳科学杂志,2020,18(1):126-

132.

- [13] 余红,杨晶群,樊洁敏. 2 653 例新生儿常见耳聋基因筛查结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2018,26(8):91-92.
- [14] 李湘珺.大港新生儿听力和耳聋基因联合筛查结果分析[J].医学理论与实践,2017,30(9):1273-1275.
- [15] LIU Q, LIU P, DONG X J, et al. A novel method for detection the deafness-associated mitochondrial A1555G and C1494T mutations[J]. Clin Lab, 2016, 62(3):477-481.

(收稿日期:2021-06-18 修回日期:2021-10-29)