

· 临床研究 ·

安庆市 10 105 例新生儿遗传性耳聋基因突变 筛查结果分析

龚莉 赖俊仁 陈瑾芬 刘文其 张宇晴 朱庆丰 胡淑宝*

【摘要】目的 评估安庆市新生儿遗传性耳聋基因的携带率和突变谱, 以提供该地区遗传性耳聋防治的基础数据。**方法** 选取 2017 年 7 月 10 日至 2018 年 6 月 19 日安庆市立医院、安庆第一人民医院、安庆第二人民医院、安庆海军 116 医院、安庆石化医院共 5 家助产机构出生的 10 105 例新生儿为筛查对象(男 5334 例, 女 4771 例)。收集所有新生儿足底血斑, 提取基因组 DNA, 使用微阵列芯片杂交法检测 4 个耳聋易感基因(*GJB2*、*SLC26A4*、*mtDNA 12SrRNA* 及 *GJB3*) 的 9 个位点。**结果** 共检测出 427 例耳聋基因突变携带者, 携带率为 4.23% (427/10105)。其中, *GJB2*、*SLC26A4*、*mtDNA 12SrRNA* 及 *GJB3* 基因突变携带率分别为 2.35%、1.42%、0.32% 和 0.15%。*GJB2*、*SLC26A4* 和 *GJB3* 突变类型均为杂合突变, *mtDNA 12SrRNA* 基因突变为均质突变 23 例和异质突变 9 例。未发现多位点耳聋基因突变携带者。**结论** 安庆市新生儿遗传性耳聋基因突变携带率为 4.23%, 以 *GJB2* 突变为主。随访未发现携带者 5~6 年内听力异常, 提示干预措施可能降低了耳聋发病率。

【关键词】 安庆市; 遗传性耳聋; 新生儿; 基因芯片

Genetic Screening for Hereditary Hearing Loss in Newborns in Anqing City

GONG Li, LAI Junren, CHEN Jinfen, LIU Wenqi, ZHANG Yuqing, ZHU Qingfeng, HU Shubao*

(College of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, China)

【Abstract】Objective To report the carrier rate and mutation spectrum of hereditary deafness genes in newborns in Anqing City, to provide foundational data for the prevention and control of hereditary deafness in this region. **Methods** A total of 10,105 newborns (5,334 males and 4,771 females) born between July 10, 2017 and June 19, 2018, at five maternity institutions in Anqing City, including Anqing Municipal Hospital, Anqing First People's Hospital, Anqing Second People's Hospital, PLA Navy Anqing Hospital (No. 116 Hospital), and Anqing Petrochemical Hospital, were screened. Heel blood spots were collected and genomic DNA extracted. Microarray chip hybridization was used to detect 9 loci in 4 deafness susceptibility genes (*GJB2*, *SLC26A4*, *mtDNA 12SrRNA* and *GJB3*). **Results** A total of 427 carriers of deafness gene mutations were identified (4.23%, 427/10105). The carrier rates for *GJB2*, *SLC26A4*, *mtDNA 12S rRNA* and *GJB3* gene mutations were 2.35%, 1.42%, 0.32% and 0.15%, respectively. *GJB2*, *SLC26A4* and *GJB3* mutations were all heterozygous, while *mtDNA 12S rRNA* mutations were homoplasmic in 23 cases and heteroplasmic in 9 cases. No carriers with multi-loci mutations were found. Follow-up observations found no hearing abnormalities in these carriers within 5~6 years, suggesting that intervention measures may have reduced the incidence of deafness. **Conclusion** The carrier rate of hereditary deafness gene mutations among newborns in Anqing City is 4.23%, with *GJB2* mutations being predominant.

【Key words】 anqing city; hereditary deafness; neonates; gene chip; screening

耳聋是常见疾病, 每年新增 6 万~8 万例耳聋患儿, 严重影响生活质量并造成社会负担。超过 60% 的耳聋与遗传有关, 主要由于基因和染色体缺陷。近年研究表明, 我国大部分遗传性耳聋由少数几种

基因突变引起, 如 *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* 以及 *mtDNA 12S rRNA*, 这为耳聋基因芯片筛查提供了理论基础^[1]。*GJB2* 基因位于 13 号染色体长臂 (13q12.11), 编码连接蛋白 26 (Cx26), 其突变是常见的耳聋原因,

DOI: 10.3969/j.issn.1672-2922.2025.05.004

基金项目: 安徽省教育厅重点项目 (2022AH051048); 皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室开发基金项目 (Wsz202203, Wsz202205)

作者单位: 安庆师范大学生命科学院 (安庆 246133)

作者简介: 龚莉, 女, 副教授, 研究方向: 医学遗传与分子生物学研究

*通信作者: 胡淑宝, Email: shubao_hu@aqnu.edu.cn

尤其在常染色体隐性遗传的非综合征性听力损失(DFNB1)中^[2]。*SLC26A4*基因位于7号染色体长臂(7q31),编码pendrin蛋白,其突变与非综合征性遗传性耳聋(DFNB4)有关,表现为大前庭水管综合征^[2-4]。*mtDNA12S rRNA*基因突变与非综合征性听力损失有关,尤其在使用氨基糖苷类抗菌药物后更易引发药物性耳聋^[2,5]。*GJB3*基因位于1号染色体短臂(1p34.3),编码连接蛋白31(Cx31),其突变可导致显性或隐性遗传的非综合征性听力损失,表现为后天高频性耳聋^[2,6]。

基因筛查有助于提高人口素质,通过耳聋基因检测可早期发现、干预和治疗耳聋患儿,并明确听力障碍的遗传学病因。耳聋基因突变谱存在地域和种族差异性,如宁夏回族自治区回族人群的耳聋基因携带率高于汉族人群^[7]。为了掌握安庆市新生儿的耳聋基因突变情况,本研究采用微阵列芯片法检测安庆市10 105例新生儿的4个常见遗传性耳聋基因的9个突变位点,全面分析耳聋基因突变情况,为先天性、迟发性和药物性耳聋提供治疗依据和预防指导。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2017年7月10日至2018年6月19日安庆市立医院、安庆第一人民医院、安庆第二人民医院、安庆海军116医院、安庆石化医院共5家助产机构出生的10 105例新生儿为筛查对象(男5334例,女4771例)。在安庆市卫健委的统一组织和管理下,按照卫生行政部门相关文件的要求,负责采集所有检测对象的足跟血片。所有参与筛查的家属和产妇均签署“听力检测知情同意书”。本研究经安庆师范大学伦理委员会审核批准(AQNU2022016H)。

1.2 样本采集与质量控制

根据《遗传性耳聋基因变异筛查技术专家共识》和《新生儿疾病筛查技术规范》,采集出生3~7 d充分哺乳的新生儿足跟血样本,制成 ≥ 8 mm的干血斑,保存于2~8 °C^[8-9]。采集的血样送至安庆师范大学芯片工程中心完成质量控制,基因组DNA提取和芯片检测。

1.3 基因位点

采用北京博奥生物的遗传性耳聋基因芯片杂交检测技术,检测我国常见的4个耳聋基因(*GJB2*、*SLC26A4*、*mtDNA 12S rRNA*和*GJB3*)的9个突变位点。其中*GJB2*基因4个位点(35delG、176-191del16、235delC和299-300delAT),*SLC26A4*基因2个位点(2168A>G、IVS7-2A>G),*mtDNA 12S rRNA*基因2个位点(1494C>T、1555A>G),*GJB3*基因1个位点(538C>T)。

1.4 试剂与仪器设备

干血斑基因组DNA提取试剂盒(DP334,天根生化科技有限公司);NanQ分光光度计、微阵列芯片法9项遗传性耳聋基因检测试剂盒、SlideWasherTM24芯片洗干仪、Lux-scan 10K/B微阵列扫描仪(北京博奥晶典生物技术有限公司);聚合酶链反应仪(美国THERMO-FISHER公司)。

1.5 聚合酶链反应扩增

9个检测位点分别分布在A、B、C 3个扩增体系中。各取20 μ L扩增体系,加5 μ L DNA,扩增程序为:37 °C 10 min,94 °C 4 min,94 °C 45 s,55 °C 25 s,72 °C 40 s,循环34次,72 °C 5 min,25 °C ∞ 。

1.6 随访

对于耳聋基因筛查阳性的新生儿,应建立从出生的跟踪计划,并实施长期预防措施。专科医师应根据筛查结果建议:(1)对于耳聋基因纯合突变的儿童,建议定期进行医学检查和必要干预,并为其父母提供生育咨询,预防再次生育有相同基因突变的孩子。(2)对于携带*mtDNA 12S rRNA*基因突变的个体,应避免使用氨基糖苷类药物,并建议筛查母系成员。(3)对于所有耳聋基因携带者,应定期进行听力检查,并在生活和婚育方面提供指导。在适婚年龄,建议合理婚配和进行耳聋基因检测。

1.7 统计学分析

采用Excel进行数据统计分析,计数资料以[例(%)]表示。

2 结果

2.1 新生儿遗传性耳聋基因检测基本情况

10 105份新生儿血片耳聋基因检测结果显示,共有427例携带耳聋基因突变,携带率为4.23%。其中,*GJB2*基因突变237例(男131例,女106例),携带率为2.35%,比例为55.50%;*SLC26A4*基因突变143例(男74例,女69例),携带率为1.42%,比例为33.49%;*mtDNA 12S rRNA*基因突变32例(男16例,女16例),携带率为0.32%,比例为7.49%;*GJB3*基因突变15例(男8例,女7例),突变率为0.15%,比例为3.51%(表1)。

表1 新生儿耳聋基因突变统计结果分析

Table 1 Analysis of genetic mutation statistics in newborns with hearing loss

基因	男(例)	女(例)	总例数	比例(%)	携带率(%)
<i>GJB2</i>	131	106	237	55.50	2.35
<i>SLC26A4</i>	74	69	143	33.49	1.42
<i>12S rRNA</i>	16	16	32	7.49	0.32
<i>GJB3</i>	8	7	15	3.51	0.15

2.2 先天感音神经性耳聋基因 *GJB2* 常见突变位点 (235delC、299-300delAT、176-191del16 和 35delG) 携带情况

在本次筛查中,所有 *GJB2* 基因突变均为杂合型。其中, *GJB2* c.235delC 杂合型突变携带率最高,有 186 例(男 105 例,女 81 例),携带率 1.84%, 比例为 43.56%; 299-300delAT 突变 36 例(男 18 例,女 18 例),携带率为 0.36%, 比例为 8.43%; 176-191del16 突变 15 例(男 8 例,女 7 例),携带率为 0.15%, 比例为 3.51%; 35delG 突变为 0 例(表 2)。

2.3 “一巴掌耳聋基因” *SLC26A4* 常见突变位点 (IVS7-2A>G、2168A>G) 携带情况

SLC26A4 基因突变也均为杂合型。其中, IVS7-2A>G 突变携带率仅次于 *GJB2* c.235delC 突变,有 128 例(男 66 例,女 62 例),携带率为 1.27%, 比例为 29.98%; 2168A>G 突变 15 例(男 8 例,女 7 例),携带率为 0.15%, 比例为 3.51%(表 2)。

2.4 “药物性耳聋”基因 *mtDNA 12S rRNA* 常见突变位点 (1555A>G、1494C>T) 携带情况

1555A>G 均质突变 22 例(男 13 例,女 9 例),携带率 0.22%, 比例为 5.15%; 1555A>G 异质突变 9 例(男 2 例,女 7 例),携带率 0.09%, 比例为 2.11%; 1494C>T 均质突变 1 例(男 1 例,女 0 例),携带率 0.01%, 比例为 0.23%(表 2)。

2.5 后天高频感音神经性耳聋基因 *GJB3* 常见突变位点 (538C>T) 携带情况

GJB3 538C>T 杂合突变 15 例(男 8 例,女 7 例),携带率 0.15%, 比例为 3.51%(表 2)。

2.6 追踪随访结果

在出生后 5~6 年,通过电话对 427 例突变基因携带者父母进行了随访。根据家长反馈,这些儿童未出现听力障碍。对于 23 例携带 *mtDNA 12S rRNA* 突变基因的儿童(包括均质突变和异质突变),叮嘱家长禁止使用氨基糖苷类药物,并在就医前告知医护人员。

表 2 遗传性耳聋基因各突变位点统计结果分析

Table 2 Analysis of statistical results for mutation sites of hereditary deafness genes

基因	突变位点	类型	男	女	总例数	比例 (%)	携带率 (%)
<i>GJB2</i>	235delC	杂合	105	81	186	43.56	1.84
	299-300delAT	杂合	18	18	36	8.43	0.36
	176-191del16	杂合	8	7	15	3.51	0.15
	35delG	-	0	0	0	0	0
<i>SLC26A4</i>	IVS7-2A>G	杂合	66	62	128	29.98	1.27
	2168A>G	杂合	8	7	15	3.51	0.15
<i>12S rRNA</i>	1555A>G	均质突变	13	9	22	5.15	0.22
	1555A>G	异质突变	2	7	9	2.11	0.09
	1494C>T	均质突变	1	0	1	0.23	0.01
<i>GJB3</i>	538C>T	杂合	8	7	15	3.51	0.15
总计			229	198	427	100.00	4.23

3 讨论

50%~60% 的先天性耳聋由遗传因素导致,其中约 70% 为非综合征性耳聋^[10]。遗传性耳聋主要由 *GJB2*、*SLC26A4*、*mtDNA 12S rRNA* 和 *GJB3* 基因变异引起^[10-11]。本研究使用微阵列芯片杂交法检测了安庆市 10 105 例新生儿的 4 个常见耳聋基因,共发现 427 例携带耳聋基因突变(携带率为 4.23%)。4 种耳聋基因突变的分布依次为: *GJB2* 比例为 55.50% (237 例), *SLC26A4* 比例为 33.49% (143 例), *mtDNA 12S rRNA* 比例为 7.49% (32 例), *GJB3* 比例为 3.51% (15 例)。全国 106 513 例新生儿基因筛查显示,耳聋基因突变携带率为 3.94%^[12]。在合肥地区 2363 例新生儿中的耳聋基因突变携带率为 6.43%, 主要以 *GJB2* 和 *SLC26A4*

突变为主^[16]。不同地区耳聋基因突变携带率差异较大。虽然都检测 4 个常见耳聋基因,但突变位点数与检测方法不尽相同。本研究采用遗传性耳聋基因芯片杂交检测技术,检测 4 个耳聋基因的 9 个突变位点。与全国 106 513 例新生儿基因筛查方法与位点数一致,耳聋基因突变携带率也相近。合肥地区耳聋基因检测采用基质辅助激光解吸/离子化飞行时间质谱技术,针对上述 4 个耳聋基因的 20 个突变位点,总检测率高于全国范围与安庆市^[16]。

GJB2 基因突变与先天性重度耳聋有关,表现为先天性感音神经性耳聋^[10]。本研究结果显示,共检测到 237 例 *GJB2* 突变基因携带者,携带率为 2.35%, 均为单基因杂合突变。其中, *GJB2* c.235delC 杂合

突变携带率最高,为1.84%;35delG突变携带率为0。全国新生儿耳聋基因筛查中,*GJB2* c.235delC携带率最高,为1.55%^[12]。在合肥地区,*GJB2*基因突变携带率最高,为3.00%,且均为杂合突变,其中*GJB2* c.235delC携带率最高,为2.24%^[16]。在天津地区,*GJB2* c.235delC、299-300delAT、176-191del16和35delG位点携带率分别为1.96%、0.526%、0.12%、0.015%^[12]。在广西壮族自治区,*GJB2* c.235delC在壮族和汉族新生儿中的携带率分别为0.58%和1.18%,35delG位点在两个民族中均未检出^[13]。在日本人群中,*GJB2* c.235delC携带率最高,而35delG最低^[14];在希腊人群中,35delG携带率最高,达3.5%^[15]。由于该基因突变为常染色体隐性遗传病,此次筛查未发现*GJB2*基因的纯合突变。虽然杂合突变不会导致携带者双耳听力障碍,但携带者婚育时其配偶需进行耳聋基因检测。

*SLC26A4*基因突变通常为常染色体隐性遗传,是导致遗传性耳聋的第二大原因^[10]。本研究结果显示,143例*SLC26A4*基因突变携带者(携带率1.42%),均为单基因杂合突变。*SLC26A4*突变基因携带率仅次于*GJB2*。IVS7-2A>G突变携带者有128例,携带率1.27%,占该基因突变携带者的89.51%。全国新生儿基因筛查中,IVS7-2A>G突变携带率为1.16%^[12]。在合肥地区,IVS7-2A>G突变携带率为1.69%^[16]。在天津地区,IVS7-2A>G和2168A>G位点携带率分别为1.56%和0.29%^[12]。与*GJB2*基因相似,该基因变异为常染色体隐性遗传病,但本次筛查未发现*SLC26A4*基因的纯合突变。耳聋基因携带者在婚育时其配偶需进行耳聋基因检测。

*mtDNA 12S rRNA*基因突变可能导致线粒体功能受损,从而使听觉系统容易受损^[1]。本研究结果显示,32例*mtDNA 12S rRNA*突变携带者(携带率0.32%)。在广西地区,汉、壮、瑶族新生儿该基因携带率分别为0.15%、0.10%和0.26%^[13]。全国新生儿基因筛查中,*mtDNA 12S rRNA 1555A>G*突变携带率为0.15%,1494C>T突变携带率为0.01%^[12]。在合肥地区,1555A>G突变携带率为0.21%,1494C>T突变携带率为0^[16]。在天津地区,*mtDNA 12S rRNA 1555A>G*和1494C>T位点携带率分别为0.173%和0.014%^[12]。由于*mtDNA 12S rRNA*基因相关的遗传性疾病呈母系遗传模式,*mtDNA 12S rRNA*突变携带者(包括9位异质突变和23位均质突变者)、其母系成员和女携带者的子女需避免使用氨基糖苷类抗菌药物。

本研究结果显示,15例*GJB3*突变基因携带者

(携带率为0.15%),均为单基因杂合突变。*GJB3*基因常见突变位点为538C>T。由于该基因变异为常染色体显性遗传,杂合突变可能影响携带者的听力。在合肥地区新生儿基因筛查中,*GJB3 538C>T*突变携带率为0.02%^[16]。在天津地区,*GJB3 538C>T*位点携带率为0.37%^[12],其中壮族携带率为0.094%,苗族未检测到携带者^[13]。该基因突变常与常染色体显性遗传相关,通常在青少年或成年期发病,表现为进行性高频听力受损,少数患者会出现中重度耳聋^[13]。

综上所述,通过微阵列芯片杂交技术筛查新生儿耳聋基因突变,检测范围广,检出率高,有助于早期干预和预防。建议耳聋基因突变携带者注意保护听力,避免耳毒性药物,并在婚育时让配偶进行基因检测。大规模基因筛查能够建立本地区耳聋基因突变分布和发病预测模型,对耳聋防控具有实际意义。这些研究数据也将为其他地区的耳聋基因筛查提供借鉴。

所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 袁永一,戴朴.遗传性耳聋规范化筛查与诊断的探讨[J].中华耳科学杂志,2019,17(5):611-615.
Yuan YY,Dai P.Standardized screening and diagnosis of hereditary hearing loss [J].Chinese Journal of Otology,2019,17(5):611-615.
- [2] 马聪,孙艳美,张萍萍,等.遗传性耳聋相关基因的最新研究进展[J].山东医药,2018,58(45):103-106.
Ma C,Sun YM,Zhang PP,et al.Recent progress in research on genes related to hereditary deafness[J].Shandong Medical Journal,2018, 58(45):103-106.
- [3] 高雪,辛凤,袁慧军,等.遗传性耳聋相关基因*SLC26A4*新突变致病性分析[J].中华耳科学杂志,2014(1):26-29.
Gao X,Xin F,Yuan HJ,et al.Pathogenicity analysis of a new mutation in the hereditary deafness-related gene *SLC26A4*[J].Chinese Journal of Otology,2014,12(1):26-29.
- [4] Khan MR,Bashir R,Naz S.*SLC26A4* mutations in patients with moderate to severe hearing loss[J].Biochem Genet,2013,51(7-8): 514-523.
- [5] Torroni A,Cruciani F,Rengo C,et al.The A1555G mutation in the 12S rRNA gene of human mtdna:recurrent origins and founder events in families affected by sensorineural deafness[J].Am J Hum Genet,1999,65(5):1349-1358.
- [6] Richard,Gabriele,Smith,et al.Mutations in the human connexin gene *GJB3* cause erythrokeratoderma variabilis[J].Nat Genet,1998,20(4):366.
- [7] 孙春涛,邓会玲,盛优静,等.接受听力诊断儿童838例遗传性耳聋基因突变点分析[J].山西医科大学学报,2023,54(3):399-403.
Sun CT,Deng HL,Sheng YJ,et al.Analysis of genetic mutations in 838 children with hearing loss diagnosed by hearing tests[J].

- Journal of Shanxi Medical University,2023,54(3):399-403.
- [8] <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.
Expert Group on Consensus of Screening Technology for Genetic Variations of Hereditary Deafness,National Health Commission Clinical Laboratory Center Prenatal Screening and Diagnosis Laboratory External Quality Assessment Expert Committee,National Health Commission Clinical Laboratory Center Newborn Genetic Metabolic Disease Screening Laboratory External Quality Assessment Expert Committee.Expert consensus on genetic variation screening technology for hereditary deafness[J].Chinese Journal of Medical Genetics,2019,36(3):195-198.
- [9] 卫生厅局.<新生儿疾病筛查技术规范(2010版)>修订完成[J].上海预防医学,2011(6):6-7.
Department of Health.Completion of the revised version of newborn disease screening technical specification (2010 Edition)[J].Shanghai Journal of Preventive Medicine,2011,(6):6-7.
- [10] 毛中萍,何志洲.新生儿遗传性耳聋及听力筛查[J].中华耳科学杂志,2011,9(4)458-460.
Mao ZP,He ZZ.Newborn genetic deafness and hearing screening[J].Chinese Journal of Otolaryngology,2011,9(4):458-460.
- [11] 中国耳聋基因筛查与诊断临床多中心研究协作组,全国防聋治聋技术指导组.遗传性耳聋基因筛查规范[J].中华医学杂志,2021,2(101):97-102.
China Deafness Gene Screening and Diagnosis Clinical Multi-center Research Collaboration Group,National Technical Guidance Group for Prevention and Treatment of Deafness.Guidelines for genetic screening for hereditary deafness[J].Chinese Medical Journal,2021,2(101):97-102.
- [12] 韩冰.新生儿听力及基因联合筛查 106,513 例结果分析与技术研发及临床意义研究[D].北京:解放军医学院,2013.
Han B.Analysis of results and research on technology development and clinical significance of combined hearing and genetic screening in 106,513 newborns [D].Beijing:Academy of Military Medical Sciences PLA,2013.
- [13] 黄小桃,林彩娟,林飞,等.南宁地区新生儿遗传性耳聋基因突变结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2021,29(6):867-869.
Huang XT,Lin CJ,Lin F,et al.Analysis of genetic mutation results in newborns with hereditary deafness in nanning area[J].Chinese Journal of Birth Health & Heredity,2021,29(6):867-869.
- [14] Abe,S.Prevalent connexin 26 gene (GJB2)mutations in Japanese[J].J Med Genet,2000,37(1):41-43.
- [15] Kokotas H,Laer LV,Grigoriadou M,et al.Strong linkage disequilibrium for the frequent GJB2 35delG mutation in the Greek population[J].Am J Med Genet A,2010,146A(22):2879-2884.
- [16] 唐俊湘,孙玉秀,王朝红,等.2363 例新生儿 4 个常见遗传性耳聋基因突变筛查结果分析[J].山东医药,2015,55(32):76-77.
Tang JX,Sun YX,Wang CH,et al.Analysis of screening results for four common genetic mutations in hereditary deafness in 2363 newborns[J].Shandong Medical Journal,2015,55(32):76-77.

收稿日期:2024-09-03

