

# 针对孕期耳聋基因突变携带者配偶行相应基因测序在降低出生缺陷中的意义研究

曾玉坤 刘玲 丁红珂 杜丽 张彦

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511400)

**【摘要】 目的** 探讨针对孕期耳聋基因突变携带者配偶行相应基因测序在降低出生缺陷中的意义。**方法** 采用遗传性耳聋基因芯片检测试剂盒对广东地区 2003 例听力正常且无耳聋家族史的孕妇进行 *GJB2*、*SLC26A4*、*GJB3* 和 *mtDNA12S rRNA* 这 4 个耳聋相关基因的 9 个致聋突变位点检测。对检出的耳聋基因携带者丈夫进行耳聋基因芯片检测和相应基因测序, 双方检测发现为同一耳聋基因突变携带者的孕妇在知情同意的前提下再对其胎儿进行耳聋基因产前诊断。**结果** 检出孕妇携带者 103 例, 检出率 5.14%。这 103 例携带者的丈夫中检出同样为相应基因的携带者 6 例, 其中 *SLC26A4* 基因杂合突变与 *GJB2* 基因杂合突变携带者各 3 例。6 对夫妇在充分告知和知情同意的前提下通过羊水穿刺进行胎儿耳聋基因产前诊断, 1 例胎儿确诊为 *GJB2* 基因 c.109 G>A 杂合突变携带者, 1 例为 *GJB2* 基因 c.235delC 纯合突变患者, 1 例为 *SLC26A4* 基因 IVS7-2A>G/c.2086 C>T 双杂合突变患者, 还有 1 例为 *GJB2* 基因 c.511\_512 ins AACG 杂合携带者, 另有 2 例为正常基因型。**结论** 在听力正常孕妇中使用基因芯片进行耳聋基因筛查, 检出耳聋基因携带者, 然后对其丈夫进行耳聋基因筛查和相应基因序列分析, 针对双方为同一基因治病突变携带者的夫妇进行相应基因的产前基因诊断, 可以有效降低先天性耳聋患儿的出生率。

**【关键词】** 耳聋基因; 携带者; 筛查; 产前诊断

**【中图分类号】** R714.53 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** To study the significance of the gene sequencing for the husbands of the gene mutation carriers of deafness during pregnancy in the decrease of birth defects. **Method** Genomic DNA extracted from 2003 normal hearing pregnant women of Guangdong area were subjected to screen for hot spot mutations in the *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* and *mtDNA 12S rRNA* gene. Array screen and related gene sequence were done for the mutation carriers' husbands. If couple were the same gene mutation carriers, prenatal diagnosis was used. **Results** A total of 103 pregnant women(5.14%) were found gene mutation carriers. There were 6 husbands have the same gene mutation with their wife. Prenatal diagnosis confirmed two gene mutation fetus patients, two mutation carriers and two normal fetuses. **Conclusions** It's an effective method to decrease the born of deaf children through deafness genes mutation carriers screening of pregnant women.

**【Key words】** deafness gene; carrier; screen; prenatal diagnosis

耳聋是严重影响人类生活质量的致残性疾病, 也是最常见的出生缺陷之一, 60% 以上的新生儿耳聋是由遗传因素所导致, 遗传性耳聋包括综合征型

耳聋和非综合征型耳聋, 其中非综合征型耳聋约占 70%<sup>[1]</sup>, 分子诊断技术的迅速发展使得其目前已成为检测遗传性耳聋的主要方法。针对中国人群的研究及流行病学数据表明, 中国人群的主要遗传性耳

聋致病基因包括 *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* 和 *mtDNA12SrRNA*, 其中 *GJB2* 基因突变所致的遗传性耳聋占散发患者的 30%~40%<sup>[2,3]</sup>, 在耳聋患者中最为常见。由于耳聋患者大多以散发的形式在人群中随机出现, 因而每个家庭都存在生育耳聋患儿的可能性。热点突变基因的筛查可以实现遗传性耳聋的早防早治, 是目前家庭中预防耳聋患儿出生最为经济有效的方法, 尤其对有明确遗传学病因和遗传风险的耳聋家庭, 选择产前诊断技术可有效避免遗传性耳聋儿的出生。

## 1 资料与方法

1.1 基本资料 受检对象来自 2014 年 12 月至 2015 年 12 月间在本院医学遗传中心门诊就诊、听力正常、本人及配偶身体健康、无已知的其他疾病、且没有耳聋家族史及不良生育史的孕妇 2003 例。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 抽取受检者外周血 3ml, 枸橼酸钠抗凝。试剂盒提取 DNA (厦门致善), 取 2 $\mu$ l 用 Thermo NANO DROP 2000 进行定量和纯度检测, 保证每一样本 DNA 浓度大于 100 ng/ $\mu$ l, 纯度 OD260/280 介于 1.7~2.0 之间。

1.2.2 基因芯片检测 应用耳聋基因芯片(北京博奥生物有限公司)进行遗传性耳聋基因突变热点筛查, 按试剂盒说明书进行操作。该芯片可检测中国人中常见的 4 个耳聋基因中的 9 个热点突变, 包括 *GJB2*(35 del G、176 del 16、235 del C、299 del AT)、*GJB3* 538 C>T、*SLC26A4*(2168A>G、

*IVS7-2 A>G*) 和线粒体 12S rRNA(1494 C>T、1555 A>G)。

1.2.3 随访 对于芯片检测结果为突变携带者的孕妇, 电话随访并建议其丈夫进行基因芯片检测及相应致聋基因测序(上海生工生物工程有限公司)。

1.2.4 产前检测 对夫妻双方为同一致聋基因突变携带者的情况, 经夫妻双方知情同意签字, 在 B 超定位引导下行羊膜腔穿刺术, 抽取羊水 8~10ml 用于接种培养, 定期观察收获羊水培养后的细胞使用迈纳德公司 DNA 提取试剂盒提取细胞 DNA, 经 3500XL 全自动基因分析仪排除母血污染后, 对胎儿进行基因芯片检测及相应致聋基因测序(上海生工生物工程有限公司)。

## 2 结果

2.1 在受检的 2003 例孕妇标本中, 共检 103 例耳聋基因携带者, 检出率 5.14%, 其中 *GJB2* 杂合突变型 68 例, 占 3.39%; *SLC26A4* 杂合突变型 23 例, 占 1.15%; *GJB3* 杂合突变型 3 例, 占 0.15%; 线粒体 12S rRNA 杂合突变型 3 例, 占 0.15%, *GJB2*(235delC)/*SLC26A4*(*IVS7-2A>G*) 双杂合突变型 6 例, 占 0.3%。

2.2 对 103 例突变携带者进行电话随访, 通过宣教及知情告知, 这 103 位孕妇的丈夫均接受了耳聋基因芯片及相应基因的测序检测, 最终查出 6 例与其配偶发生相同基因突变的携带者。相关结果如表 1。

表 1 6 例耳聋基因突变携带者检测结果

夫妇序号	妻子筛查结果	丈夫检测结果
夫妇一	<i>GJB2</i> 基因 c.299 del AT 杂合	<i>GJB2</i> 基因 c.109 G>A 杂合
夫妇二	<i>GJB2</i> 基因 c.235delC 杂合	<i>GJB2</i> 基因 c.235delC 杂合
夫妇三	<i>GJB2</i> 基因 c.235delC 杂合	<i>GJB2</i> 基因 c.511_512 ins AACG 杂合
夫妇四	<i>SLC26A4</i> 基因 <i>IVS7-2A&gt;G</i> 杂合	<i>SLC26A4</i> 基因 c.2086 C>T 杂合
夫妇五	<i>SLC26A4</i> 基因 <i>IVS7-2A&gt;G</i> 杂合	<i>SLC26A4</i> 基因 c.1548 ins C 杂合
夫妇六	<i>SLC26A4</i> 基因 c.2168 A>G 杂合	<i>SLC26A4</i> 基因 c.1229C>T 杂合

2.3 产前诊断 对这两对致聋突变携带者进行遗传指导, 告知先天性聋儿发生的几率和风险(*GJB2*

基因突变致聋属于常染色隐性遗传, 生育患儿的风险为 25%), 6 对夫妻均接受了产前诊断。相应胎儿

检测结果如下表 2。

表 2 6 例耳聋基因突变携带者胎儿检测结果

夫妇序号	羊水检测结果
夫妇一	<i>GJB2</i> 基因 c. 109 G>A 杂合
夫妇二	<i>GJB2</i> 基因 c. 235delC 纯合
夫妇三	<i>GJB2</i> 基因 c. 511_512 ins AACG 杂合
夫妇四	<i>SLC26A4</i> 基因 IVS7-2A>G 杂合、c. 2086 C>T 杂合
夫妇五	未检测到明确致病突变
夫妇六	未检测到明确致病突变

### 3 讨论

耳聋是影响我国出生人口素质的重要问题之一,目前临床上对遗传性耳聋缺乏有效的治疗手段。部分耳聋患儿虽能借助辅助听力器械改善听力状况,但绝大多数因未能及时诊治而影响生活与学习,给整个家庭带来沉重负担。我国 2006 年第二次全国残疾人抽样调查也显示,听力残疾居各类残疾之首,占全国残疾人的 31%<sup>[4]</sup>。目前的研究数据表明,遗传性耳聋基因携带率达 5%<sup>[5]</sup>,既往仅针对听力障碍人员的听力筛查和干预不足以有效阻断遗传性耳聋在整个人群中的传递和发病。此外耳聋患者的发生更多呈散发的特点,绝大多数夫妇在生育聋儿前未有家族史,容易忽视进行耳聋基因的常规筛查。为避免生育聋儿给家庭造成的沉重负担,夫妇在生育前进行耳聋基因筛查意义显著。然而导致耳聋的病因较为复杂,致聋基因较多,目前已经发现的致聋基因已有几十种,全覆盖进行检查费用高昂,时效相对较长,成本较高,目前无法大规模推广。因而针对中国人群最常见的热点突变进行筛查是降低耳聋出生缺陷的最行之有效和经济实用的做法。

中国人群的耳聋研究及流行病学数据表明,目前发现的主要遗传性耳聋致病基因包括 *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* 和 *mtDNA12SrRNA* 等 4 种。*GJB2* 的突变在中国人群携带率高达 3.65%<sup>[6,7]</sup>; *SLC26A4* 基因又称 *PDS* 基因,编码的蛋白质 Pendrin 主要由疏水性氨基酸组成,属于离子转运体家族,多项研究表明,大前庭水管综合征和 Pendred 综合征(前庭水管扩大或伴内耳畸形、神经性聋和甲状腺肿)与 *SLC26A4* 基因突变有密切的关系,我国大部分地区正常人群中,*SLC26A4* 的突变携带率为

1.85% 左右<sup>[8,9]</sup>。由于 *GJB2* 与 *SLC26A4* 基因突变导致的耳聋均为常染色体隐性遗传,正常人群中这两种基因突变高携带率直接导致 *GJB2* 与 *SLC26A4* 耳聋的高发病率。

本研究采用遗传性耳聋基因芯片检测试剂盒对来院就诊的 2003 例听力正常且无耳聋家族史的孕妇进行 *GJB2*、*SLC26A4*、*GJB3* 和 *mtDNA12S rRNA* 这 4 个耳聋相关基因的 9 个致聋突变位点进行检测;对检出的携带者其丈夫进行耳聋基因芯片检测和相应基因测序,最终查出 6 例突变携带者,根据遗传模式,6 个胎儿的发病风险均为 25%,通过产前检测,6 个胎儿的耳聋基因检测结果分别提示为 2 例正常基因型、2 例携带者和 2 例耳聋基因型。携带者通过遗传咨询建议胎儿将来婚配对象进行相应耳聋基因的检测,避免其后代出现耳聋患儿;妊娠有耳聋基因型的这两对夫妻则通过遗传咨询和知情告知,最终选择了终止妊娠,不仅避免了耳聋患儿的出生,同时也最大程度减轻了该家庭的痛苦和经济负担。

本研究通过对听力正常且无耳聋家族史孕妇进行耳聋突变基因筛查,再对携带者的丈夫进行芯片检测和相应基因测序,对于为同一突变携带者的夫妻结合产前诊断,对胎儿进行基因突变遗传情况检测,有效减少遗传性聋儿的出生,同时对于检出的突变携带者则进行成年后的配偶选择和优生优育指导。但对于正常基因型的受检胎儿需要说明的是,目前的临床分子诊断亦仅限于 *GJB2*、*GJB3* 和 *SLC26A4*、线粒体基因等这几个少数常见基因,并不能检测所有的致聋基因,其他已知的耳聋基因综合考虑检出率和经济成本目前都无法纳入临床常规筛查(检测)范围<sup>[10]</sup>,因此,对检测结果为野生型者,遗传咨询医生应谨慎解释相应结果,避免因为知情告知不到位而导致可能存在的隐患。不过随着人们对遗传性耳聋认识的深入,芯片及分子诊断技术在拓展检测范围,降低耳聋出生缺陷上将发挥越来越重要的作用。

### 参 考 文 献

[1] 王建国,袁永一,李荣,等.不同听力学表型人群中常见耳聋基

- 因突变检出率的分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 25(101):447-448.
- [2] 韩明显,戴朴. 我国耳聋基因诊断的临床应用进展[J]. 北京医学, 2011, 33(5):419-421.
- [3] Lu Y, Dai D, Chen Z, et al. Molecular screening of patients with nonsyndromic hearing loss from Nanjing city of China [J]. J biomedres, 2011, 25(5):309-318.
- [4] 中国残联网站. 2006年第二次全国残疾人抽样调查表[EB/OL]. [http://www.cdpf.org.cn/sjcx/node\\_50872.htm](http://www.cdpf.org.cn/sjcx/node_50872.htm).
- [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] 李庆忠,王秋菊,迟放鲁,等. 中国散发听力损失患者中GJB2基因突变分子流行病学研究[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2006, 6(5):310-313.
- [7] Minami S, Mutai H, Nakano A, et al. GJB2-associated hearing loss undetected by hearing screening of newborns [J]. Gene, 2013, 532(1):41-45.
- [8] 李琦,方如平,尤易文,等. SLC26A4基因热点突变检测对大前庭导水管综合征患儿的诊断作用. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 24(19):876-879.
- [9] Du W, Guo Y, Wang C, et al. A systematic review and meta-analysis of common mutations of SLC26A4 gene in Asian populations [J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2013, 77(10):1670-1676
- [10] 韩明显,卢彦平,边旭明,等. 213个遗传性耳聋家庭的产前诊断和生育指导[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2012, 47(2):127-131.

(收稿日期:2016-08-28)

编辑:宋文颖

## · 视频导读 ·

## 中国产前筛查与诊断策略:发展,经验与挑战

段涛

(上海市第一妇婴保健院)



中国的产前诊断经过多年的发展,我们都有了哪些经验?又将面临怎样的挑战?在诸多种筛查方法面前,究竟哪一种才是最合适的呢?我们一起来听听段涛教授是怎么说的。

在这个视频中,段涛教授的讲课涉及了中国唐氏筛查的策略、面对唐氏筛查我们的选择、好的产前筛查策略的标准、NIPT时代的唐氏筛查策略选择、基因芯片、NGS、罕见病的产前诊断等内容,这些内容都是从事产前诊断的医生在临床工作中必定会遇到的问题,让我们一起来学习吧!

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2017.02.006