

广东顺德地区孕妇脊髓性肌萎缩症携带者筛查及产前诊断分析

杨海清 叶杰 何昊匡 马占忠*

暨南大学附属顺德医院(佛山市顺德区第二人民医院) 检验科, 广东 佛山 528305

【摘要】 目的 对广东顺德地区孕妇进行脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)携带者筛查, 探讨该地区 SMA 携带频率及运动神经元存活基因 1(SMN1)的拷贝数变异情况, 分析携带 SMA 高风险孕妇的产前诊断结果。**方法** 采用多重 PCR 结合荧光探针技术对顺德地区 2022 年 10 月至 2025 年 1 月共 5233 例孕妇进行 SMN1 基因第 7 外显子(E7)缺失检测, 统计该地区孕妇 SMA 的携带率, 对缺失型孕妇的配偶进行 SMN1 基因缺失检测, 并采用荧光定量 PCR(quantitative PCR, qPCR)联合多重连接依赖探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)对夫妻双方均为 SMA 携带者的胎儿进行产前诊断分析。**结果** 在 5233 例孕妇中共检出 SMA 携带者 95 例, SMN1 基因 E7 缺失携带率约 1.82%。其中 70 例 SMN1 基因杂合缺失型孕妇的配偶进行 SMA 检测, 发现双方均为 SMA 携带者的夫妇 1 对, 经过羊水穿刺及产前诊断分析, 检出 SMN1 基因第 7、8 外显子复合杂合缺失胎儿 1 例。**结论** 广东顺德地区孕妇 SMA 携带率较高, 通过产前诊断评估胎儿的患病风险可为相关的遗传咨询和生育指导提供依据, 实现早期干预, 有效降低 SMA 疾病发生率。

【关键词】 脊髓性肌萎缩症; 携带者筛查; SMN1 基因; 产前诊断

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Carrier screening and prenatal diagnosis of pregnant women with spinal muscular atrophy in Shunde region of Guangdong province

Yang Haiqing, Ye Jie, He Haokuang, Ma Zhanzhong*

(Department of Clinical Laboratory, The Affiliated Shunde Hospital of Jinan University/Shunde Second People's Hospital, Foshan, Guangdong 528305, China)

【Abstract】 Objective To investigate the carrier frequency of spinal muscular atrophy (SMA) and the copy number variation of survival motor neuron 1 (SMN1) gene in Shunde region, Guangdong, and to analyze the prenatal diagnosis results of high-risk pregnant women, the carriers of pregnant women with SMA were screened. **Methods** Total 5233 cases of pregnant women in Shunde region from October 2022 to January 2025 was detected the deletion of exon 7 (E7) of SMN1 gene by the multiplex PCR combined with fluorescent probe technology, which calculated the carriage rate of SMA among pregnant women in this region. The spouses of pregnant women with deletion form was detected the deletion of SMN1 gene, quantitative PCR (qPCR) combined with multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) technology was used to analyze the prenatal diagnosis for the fetuses of both spouses with SMA carriers. **Results** Among 5233 pregnant women, a total of 95 cases of SMA carriers were identified, with the deletion rate of SMN1 gene E7 approximately 1.82%. Among them, the spouses of 70 pregnant women with heterozygous deletion of SMN1 gene were detected for SMA, and 1 couple was found to be both

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2025.03.005

* 通信作者: 马占忠, E-mail: mazhanzhong816@163.com

SMA carriers. After amniocentesis and prenatal diagnostic analysis, 1 fetus with heterozygous deletion of SMN1 E7 and E8 was detected. **Conclusion** The carriage rate of SMA in the Shunde region among pregnant women was relatively high, and the risk of fetuses was assessed through prenatal diagnosis, which provided a basis for relevant genetic counseling and fertility advice to achieve early intervention and effectively reduce the incidence of SMA disease.

【Key words】 Spinal muscular atrophy; Carrier screening; SMN1 gene; Prenatal diagnosis

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是以脊髓 α 运动神经元退化为核心特征,由功能性存活运动神经元(survival motor neuron, SMN)蛋白缺陷导致的遗传性神经肌肉疾病,主要临床表现为进行性、对称性、以肢体近端为主的肌无力与肌萎缩^[1, 2]。SMA是一种常染色体隐性遗传病,一般人群携带率为1/50~1/40,新生儿发病率为1/10000~1/6000,具有危害大、致死率高以及种族和地区差异等特点^[3]。近年来,SMA的研究方向主要聚焦于产前诊断及新生儿筛查的优化、生物标志物的评估监测等方面,另外基因治疗和分子靶向药物的开发为SMA患者带来了新的希望。

SMA的发病机制主要源于运动神经元存活基因1(SMN1)的缺失和突变,运动神经元存活基因2(SMN2)剪接效率低下而导致的功能性SMN蛋白不足^[4]。其中,SMN1基因位于端粒侧,是SMA的致病基因,其丢失或缺陷会导致不同表型的SMA;SMN2基因位于着丝粒侧,是SMA的修饰基因,其拷贝数与疾病的严重程度有关^[5]。据报道,约95%的病例是由SMN1第7外显子(E7)纯合缺失导致,其余约5%是由SMN1复合杂合突变(即一个等位基因E7缺失,另一个等位基因存在微小致病性变异)引起^[6],因此在SMA携带者的初筛阶段优先检测SMN1基因E7的缺失情况。

随着精准医学在遗传病领域的重大突破,新兴治疗手段已经显著改善了SMA的症状和预后,但是目前该疾病还是无法完全治愈。开展SMA携带者筛查,可以提供相关遗传咨询和生育指导,是降低发病率、改善预后和提升公众遗传病防控意识的关键措施^[7]。基于此,本研究采用多重PCR结合荧光探针技术对顺德地区孕妇进行SMA携带者筛查,并分析携带SMA高风险孕妇的产前诊断结果,旨

在阻断高风险妊娠,提高出生人口质量,合理优化医疗资源。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2022年10月至2025年1月在暨南大学附属顺德医院进行SMA携带者筛查的5233例孕妇资料,年龄15~47岁,平均 (30.46 ± 5.04) 岁。另外,因孕妇SMN1基因E7杂合缺失而召回其配偶并配合检测70例,年龄23~48岁,平均 (32.04 ± 5.24) 岁。

纳入标准:①无SMA表型、生育史和家族史;②无其他神经肌肉系统性疾病;③孕周9~22⁺₆周。排除标准:①患有严重疾病;②精神障碍无法配合者;③基本信息不完善者。本研究获得受检者的知情同意和暨南大学附属顺德医院伦理委员会批准(审批号JDSY-LL-2025047)。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 使用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采集受检者外周静脉血2 ml。

1.2.2 DNA提取 采用广州瑞能医学科技有限公司 Itrack-48C 全自动核酸提取仪以及深圳会众生物技术有限公司的核酸提取试剂,使细胞在裂解液和蛋白酶K的共同作用下裂解并释放出基因组核酸,并利用包埋磁珠对核酸的亲亲和吸附等作用,最后分离纯化获取人基因组DNA样本。所提取的DNA样本-20℃保存备用,避免反复冻融。

1.2.3 SMA携带者筛查 采用多重PCR结合荧光探针技术,使用人 β -actin基因作为内参基因,参比荧光为ROX,对SMN1第7外显子(目的基因)进行扩增并通过比较Ct法对SMN1基因拷贝数进行定量分析。操作严格按照深圳会众生物技术有限公司的人运动神经元存活基因1(SMN1)检测试剂

盒说明书进行。使用杭州安誉生物科技有限公司 AGS4800 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增,收集目的基因(FAM)和内参基因(VIC)荧光信号。

结果计算:待检样本(或对照样本)目的基因 $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$;待检样本目的基因 $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{待检样本}} - \Delta Ct_{\text{对照样本}}$;待检样本目的基因 RQ 值(Expression 值) $= 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。结果判读见表 1。若待测样本内参 β -actin 基因 Ct 值 >30 或提示无荧光信号、RQ 值为临界值,需要重新测定。

表 1 待测样本目的基因检测结果判读		
RQ 值	SMN1 基因拷贝数	基因型
<0.2 或无 RQ 值	0	纯合缺失型
$0.2 \leq RQ \leq 0.3$	重新测定	
$0.3 < RQ < 0.65$	1	杂合缺失型
$0.65 \leq RQ \leq 0.75$	重新测定	
$0.75 < RQ < 1.25$	2	正常型
≥ 1.25	2 或多拷贝	正常型

1.2.4 高风险胎儿 SMA 基因产前诊断分析 在充分的知情同意和遗传咨询基础上,高风险胎儿在广东医科大学附属顺德妇女儿童医院进行羊水穿刺并做 SMA 基因产前诊断分析。羊水样本检测前需要先鉴定排除母体 DNA 污染,使用 qPCR 方法检测 SMN1 基因第 7 外显子和第 8 外显子的缺失情况,并使用 SALSA P060 MLPA KIT 对 SMN1 基因 E7 和 E8 拷贝变异情况进行验证分析,最后通过软件分析系统判读胎儿 SMA 基因型。

2 结果

2.1 SMA 携带者筛查结果 在 5233 例接受 SMA 携带者筛查的孕妇中,共检出 SMN1 基因 E7 正常型 5138 例,SMN1 基因 E7 杂合缺失型 95 例,广东顺德地区孕妇 SMA 的携带率为 1.82%(95/5233),见表 2。

表 2 顺德地区 5233 例孕妇 SMA 携带者筛查结果		
变异类型	例数	比例(%)
SMN1 基因 E7 正常型	5138	98.18
SMN1 基因 E7 杂合缺失型	95	1.82
合计	5233	100

2.2 SMA 产前诊断结果 在上述 95 例 SMA 携带者孕妇中,共有 70 例孕妇配偶接受了基因检测,其中 69 例孕妇配偶为 SMN1 基因 E7 正常型,1 例

孕妇配偶为 SMN1 基因 E7 杂合缺失型;其余 25 例配偶因孕期过程中失访、主动拒绝检测等因素导致未完成检测。该对双方均为 SMA 携带者的夫妇在广东医科大学顺德妇女儿童医院进行充分的知情同意和遗传咨询后,自主选择进行羊水穿刺并做 SMA 基因产前诊断分析。结果显示:D13S305、D18S386、D21S1411 等 14 个 STR 位点测序分析提示胎儿取材无母体 DNA 污染,检出 SMN1 基因 E7、E8 复合杂合缺失胎儿 1 例,经多重连接依赖探针扩增技术(MLPA)验证结果一致,SMN1 基因 E7 和 E8 拷贝数均为单拷贝,SMN2 基因 E7 和 E8 拷贝数均为两拷贝,见图 1。

3 讨论

SMA 是由于功能性 SMN 蛋白严重缺乏而引发脊髓前角运动神经元死亡,并导致进行性肌无力与肌萎缩的遗传性疾病,被认为是导致婴幼儿死亡的主要遗传因素。荟萃分析表明,中国的 SMA 携带率约为 2.0%,且可能与检测方法及样本量差异有关^[8]。中国不同地区的 SMA 携带率也有细微差异,例如沧州地区为 2.1%^[9],淄博地区为 1.85%^[10],甘肃地区为 1.8%^[11],江苏地区为 1.72%^[12]。分析表明,SMA 携带率的高异质性可能与相关宣传普及程度、医疗卫生条件可及性、检测技术敏感性和人群遗传背景等多种因素相关^[13,14]。本研究显示顺德地区 SMA 携带率为 1.82%,经初步分析,其与国内其他地区略有差异的原因可能是华南地区与华北、西北、华东等地区存在地域差异,顺德本地人群具有相对稳定的人口结构与遗传谱系,外来人口迁入的基因交流频率较低等,但仍需作进一步研究验证。因此,开展相关筛查活动对于 SMA 流行病学研究具有重要意义。

SMA 的致病基因 SMN1 定位于 5 号染色体长臂 1 区 3 带(5q13),可编码全长 SMN 蛋白,对运动神经元存活至关重要;而 SMN2 基因是修饰基因,可产生功能性 SMN 蛋白^[15]。一个反馈调节提示低水平的全长 SMN 蛋白可能会加剧 SMN2 基因 E7 跳跃,从而进一步减少全长 SMN 蛋白^[16]。因此,SMN2 并不能完全补偿 SMA 患者中 SMN1 的缺

不参与剪接调控且对蛋白功能影响较小,其临床意义有限^[17]。《脊髓性肌萎缩症临床实践指南》以及《脊髓性肌萎缩症新生儿筛查专家共识(2023 版)》等均明确指出 SMN1 基因 E7 检测对于 SMA 基因诊断的关键意义^[18, 19]。因此,本研究在 SMA 携带者的初筛阶段优先检测 SMN1 基因 E7 的缺失情况。



目前,SMA 的临床分型分为 5 种:0 型(*SMN1* 基因纯合缺失或双等位基因致病变异,*SMN2* 基因

拷贝数为0~1)最为严重,宫内死亡或者出生后出现严重的呼吸问题;Ⅰ型(SMN1基因纯合缺失或双等位基因致病变异,SMN2基因拷贝数为1~3)为常见形式,6个月前发病,多于2岁前死亡;Ⅱ型(SMN1基因纯合缺失或双等位基因致病变异,SMN2基因拷贝数多为3)为中间形式,18个月前发病;Ⅲ型(SMN1基因纯合缺失或双等位基因致病变异,SMN2基因拷贝数为3~4)多于18个月后发病,能够独立站立和行走;Ⅳ型(SMN1基因纯合缺失或双等位基因致病变异,SMN2基因拷贝数为 ≥ 4)最为轻微,30岁后发病,有正常的生长周期,又称为成人型SMA^[20]。在SMN1基因检测技术方面,主要包括荧光定量PCR、MLPA技术、多重PCR联合变性高效液相色谱(PCR-DHPLC)和二代测序技术(NGS)等。其中,荧光定量PCR具有高通量、低成本、操作简单等特性,常用于大规模人群的初步筛查,但可能漏检“2+0”型携带者(即2个SMN1基因拷贝位于同一染色体)及SMN1基因点突变型携带者^[21]。MLPA技术能精准定量SMN1和SMN2基因E7、E8的拷贝数,适用于产前诊断,但费用较高、操作复杂、无法检测微小突变及单条染色体多个SMN1基因串联等情况^[22]。显然,检测技术局限性(如点突变漏检)或罕见遗传机制(如生殖细胞嵌合)等情况会导致残余风险。

本研究采用多重PCR结合荧光探针技术对顺德地区5233例孕妇进行SMA筛查,共检出SMN1基因E7杂合缺失型95例,结果显示携带率为1.82%。本研究的初筛阶段仅检测SMN1基因E7,因此存在漏检SMN1基因E8杂合缺失、纯合缺失以及未缺失情况的可能性,具有一定的局限性。此外,检出SMN1基因E7、E8复合杂合缺失胎儿1例,该对夫妇在进行遗传咨询和生育指导后选择继续妊娠。该胎儿出生后因诊断为新生儿肺炎、低出生体重儿被新生儿科收治,住院6天后其呼吸和四肢肌张力方面大致正常而出院。根据该胎儿SMN1基因E7、E8复合杂合缺失,拷贝数均为单拷贝,且表型正常,初步预测其为缺失型携带者,建议满月后尽早到生长发育专科随诊,定期行神经、运动发育评估,并跟踪回访,同时建议进行家庭成员筛查与风险防控,并

告知该对夫妇再生育胎儿25%的SMA患病风险。另外,本研究69例女方携带、男方正常的病例中,胎儿均未患病,SMA患病率为0%;但25例男方未筛查病例因随访缺失导致结局不完整,建议后续扩大样本量完善分析。因此,对于SMA筛查阳性的孕妇,建议加做男方筛查,如双方均为阳性,则建议产前诊断进一步明确胎儿是否患病;如男方阴性,胎儿患病几率小,不必紧张,以减轻孕妇及家庭的焦虑;若男方因特殊原因无法筛查,需告知孕妇相关潜在风险。

综上,SMA的分子机制复杂,致病基因SMN1缺失或突变导致功能性SMN蛋白不足,而SMN2基因的剪接调控及修饰因子作用需结合基因组异质性综合分析。尽管目前SMA检测技术不断优化,但部分罕见变异存在检测盲区,且结果解读存在复杂性,残余风险管理和遗传咨询仍是临床工作中的重要环节。本研究初步明确广东顺德地区孕妇SMA的携带率为1.82%,该数据具有明确的公共卫生意义,为中国人“SMA携带率约为2.0%”提供了地区性数据补充,填补了该地区SMA流行病学的空白,为出生缺陷防控体系的构建提供了数据支撑,同时为遗传咨询和产前诊断方案提供了重要的科学依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] GNAZZO M, PISANÒ G, BALDINI V, et al. Myostatin modulation in spinal muscular atrophy: a systematic review of preclinical and clinical evidence [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(12):5858.
- [2] TIZZANO E F, LINDNER G, CHILCOTT E, et al. In utero therapy for spinal muscular atrophy: closer to clinical translation [J]. *Brain*, 2025, 148(9): 3043-3056.
- [3] PAIK J. Risdiplam: A review in spinal muscular atrophy [J]. *CNS Drugs*, 2022, 36(4): 401-410.
- [4] MATTHEW E R BUTCHBACH. Genomic variability in the survival motor neuron genes (SMN1 and SMN2): implications for spinal muscular atrophy phenotype and therapeutics development [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 7896.
- [5] NISHIO H, NIBA E T E, SAITO T, et al. Spinal muscular

- atrophy: the past, present, and future of diagnosis and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15):11939.
- [6] 戴毅,崔丽英. 青少年成人脊髓性肌萎缩症临床诊疗指南 [J]. *罕见病研究*, 2023, 2(3): 377-397.
- [7] QU Y, BAI J, JIAO H, et al. Variants located in intron 6 of SMN1 lead to misdiagnosis in genetic detection and screening for SMA [J]. *Heliyon*, 2024, 10(6): e28015.
- [8] LI C, GENG Y, ZHU X, et al. The prevalence of spinal muscular atrophy carrier in China [J]. *Medicine*, 2020, 99(5):e18975.
- [9] 李桃桃,穆小荣,孙悦,等. 沧州地区孕妇脊髓性肌萎缩症携带者筛查现状分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024, 32(9): 1928-1931.
- [10] 魏欣,张良忠,韩佳佳,等. 山东淄博地区孕妇脊髓性肌萎缩症筛查及产前诊断分析 [J]. *华南预防医学*, 2024, 50(9): 868-870+874.
- [11] 马斌,郝胜菊,惠玲,等. 甘肃地区 13022 例孕妇脊髓性肌萎缩症携带者筛查及产前诊断 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024, 32(1): 157-160.
- [12] 张菁菁,王玉国,马定远,等. 江苏地区 5776 例孕妇脊髓性肌萎缩症携带者筛查及产前诊断 [J]. *现代妇产科进展*, 2021, 30(6): 434-437.
- [13] AL JUMAH M, AL RAJEH S, EYALID W, et al. Spinal muscular atrophy carrier frequency in Saudi Arabia [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2022, 10(11): e2049.
- [14] KEINATH M C, PRIOR D E, PRIOR T W. Spinal muscular atrophy: mutations, testing, and clinical relevance [J]. *Appl Clin Genet*, 2021, 14: 11-25.
- [15] LEFEBVRE S, BÜRGLEN L, REBOULLET S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene [J]. *Cell*, 1995, 80(1): 155-165.
- [16] ZHANG Y, HE J, ZHANG Y, et al. The analysis of the association between the copy numbers of survival motor neuron gene 2 and neuronal apoptosis inhibitory protein genes and the clinical phenotypes in 40 patients with spinal muscular atrophy: observational study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(3): e18809.
- [17] RUHNO C, MCGOVERN V L, AVENARIUS M R, et al. Complete sequencing of the SMN2 gene in SMA patients detects SMN gene deletion junctions and variants in SMN2 that modify the SMA phenotype [J]. *Human Genetics*, 2019, 138(3): 241-256.
- [18] 熊晖,王艺. 脊髓性肌萎缩症临床实践指南 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2023, 18(1): 1-12.
- [19] 季星,吴士文. 《脊髓性肌萎缩症新生儿筛查专家共识(2023 版)》解读 [J]. *临床儿科杂志*, 2023, 41(12): 942-945+960.
- [20] NISHIO H, NIBA E T E, SAITO T, et al. Clinical and genetic profiles of 5q- and non-5q-spinal muscular atrophy diseases in pediatric patients [J]. *Genes (Basel)*, 2024, 15(10):1294.
- [21] 马鹏鹏,卢婉,刘艳秋,等. 育龄妇女脊髓性肌萎缩症基因携带者筛查结果及高危人群产前诊断结果分析 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2024, 32(12): 2939-2943+2968.
- [22] 李烨荣,张菁菁,吕娟. 脊髓性肌萎缩症携带者筛查技术研究进展 [J]. *临床检验杂志*, 2022, 40(1): 52-56+59.

(收稿日期:2025-07-22)

编辑:姚红霞