

Analysis of SMN1 Gene Carrying Status in Newborns with Spinal Muscular Atrophy in Huizhou Area

Xiaoting Wang Shuliu Li Weidong Lv Zhiqiang Zhang

Huizhou Second Maternal and Child Health Hospital, Huizhou, Guangdong, 516001, China

Abstract

Objective: Newborns with spinal muscular atrophy (SMA) carriers were screened in Huizhou to understand the epidemiological characteristics of SMA, and to provide a basis for genetic counseling, genetic screening and presymptomatic intervention in SMA families. **Methods:** Collect heel blood dried blood spot samples and clinical data for newborns born between December 2022 and July 2024 at the Second Maternal and Child Health Hospital in Huizhou City who underwent SMN1 mutation carrier screening. Using multiplex PCR fluorescence probe technology, relative quantitative detection of copy number of SMN1 E7 was performed, and the deletion status of the target gene was analyzed to grasp the frequency of SMN1 E7 mutations in newborns in Huizhou area. **Results:** Among 9312 newborns, a total of 204 SMA carriers were detected, with a carrier rate of approximately 1/46; Among them, the mutation frequency of male newborns is about 1/47, and the mutation frequency of female newborns is about 1/44. There is no significant difference in the SMN1 E7 mutation carrying rate among different ethnic groups in Huizhou ($\chi^2=0.128, P=0.720$). There was no significant difference in SMA carrier rates among different ethnic groups ($\chi^2=5.961, P=0.069$). There is no correlation between the basic birth information of newborns and the presence of SMA genes. **Conclusion:** The carrier rate of SMA mutation in newborns in Huizhou area is higher than that in the Chinese population. It is recommended that newborns undergo SMN1 E7 mutation screening.

Keywords

newborn; spinal muscular atrophy (SMA); exon 7 of survival motor neuron 1 gene (SMN1 E7); PCR-fluorescence probe technology

惠州地区新生儿脊髓性肌萎缩症 SMN1 基因携带情况分析

王小亭 李淑柳 吕伟冬 张志强

惠州市第二妇幼保健院, 中国·广东 惠州 516001

摘要

目的: 对惠州地区新生儿脊髓性肌萎缩症 (SMA) 运动神经元存活基因1 (SMN1) 外显子7 (E7) 携带情况进行筛查, 掌握SMA携带率, 并为SMA家系进行遗传咨询、基因筛查以及对患儿进行症状前干预提供依据。**方法:** 收集2022年12月—2024年7月在惠州市第二妇幼保健院出生并进行SMA突变携带筛查的新生儿足跟血干血斑样本提取DNA, 采用多重PCR-荧光探针技术, 对SMN1基因E7的拷贝数进行相对定量检测, 分析目的基因的缺失情况, 并分析部分新生儿出生基本信息与携带SMA基因是否有相关性。**结果:** 在9312名新生儿中, 共检测出SMA携带者204例, 携带率约为1/46; 其中, 男性新生儿突变频率约为1/47, 女性新生儿突变频率约为1/44, 两者无统计学差异 ($\chi^2=0.128, P=0.720$)。各民族之间SMA携带率无明显差异 ($\chi^2=5.961, P=0.069$)。新生儿出生基本信息与携带SMA基因无相关性。**结论:** 惠州地区新生儿SMA携带率高于中国人群携带率, 建议新生儿进行SMN1 E7筛查。

关键词

新生儿; 脊髓性肌萎缩症; 运动神经元存活基因1外显子7 (SMN1 E7); PCR-荧光探针技术

1 引言

脊髓性肌萎缩 (Spinal muscular atrophy, SMA) 是一种由编码存活运动神经元蛋白 SMN1 突变引起的神经退行性疾病。SMN 表达减少会导致 α -运动神经元的丧失、严重肌无力, 甚至死亡^[1]。SMA 是一种常染色体隐性遗传病, 致病基因位于染色体 5q11.2-13, 约 95% 是由于 SMN1 基因

第7外显子 (E7) 或第7~8外显子双等位基因纯合缺失所致, 另外约 5% SMA 携带无义突变、移码或错义突变等点突变^[2-3]。《脊髓性肌萎缩症新生儿筛查专家共识》指出, 针对 SMN1 基因 E7 纯合缺失的筛查方法适宜在全体新生儿范围内进行推广^[4]。SMA 发病率约为 1/11000, 中国人群 SMN1 基因 E7 缺失携带率为 1/42~1/48, 是婴幼儿期致死性最高的遗传性疾病^[2]。随着 SMA 治疗药物诺西那生钠和利司普兰口服液先后于 2022 年和 2023 年纳入医保后, 使得 SMA 治疗有保可依, 大大减轻了患者的家庭负担^[5]。SMA 疾病修正治疗药物的症状前应用可显著改善患儿预后, 新生

【作者简介】 王小亭 (1988-), 女, 中国河南濮阳人, 硕士, 主管技师, 从事新生儿疾病筛查研究。

儿筛查是保证 SMA 早诊早治，获得良好预后的关键^[4-5]。掌握当地 SMA 流行病学特征，是减少出生缺陷率的有效手段。本研究采用 PCR- 荧光探针法对 2022 年 12 月—2024 年 7 月于惠州市第二妇幼保健院出生的新生儿 SMN1 E7 进行筛查，掌握 SMA 携带率，为 SMA 家系进行遗传咨询、基因筛查及对患儿进行症状前干预提供依据。

2 对象和方法

2.1 对象

对 2022 年 12 月—2024 年 7 月在惠州市第二妇幼保健院出生的新生儿家属进行宣教，收集进行 SMA 筛查的新生儿足跟血干血斑样本和临床资料，排除未进行 SMA 筛查的新生儿。本研究经医院伦理委员会批准同意（HZEFY-LL-2024137-KS202407-001）。

2.2 方法

2.2.1 基因组提取

收集新生儿干血斑标本，用打孔器得到 4mm 干血斑标本，使用深圳会众生物技术有限公司的核酸提取试剂（型号：I，备案号：粤深械备 20180290），提取人基因组 DNA。

2.2.2 PCR- 荧光探针法检测

采用多重 PCR 结合荧光探针技术，通过比较 Ct 法进行基因拷贝数的分析。基因拷贝数 0 为 SMA 患者，拷贝数 1 为携带者，拷贝数 ≥ 2 为正常。具体操作严格按照深圳会众生物技术有限公司试剂盒说明书进行操作。PCR 反应程序：50°C UNG 酶反应 1min，95°C 预变性 5min，一个循环；95°C 变性 15s，60°C 延伸及荧光检测 35s，40 个循环。

3 结果

3.1 2022 年 12—2024 年 7 月筛查结果

2022 年 12—2024 年 7 月，共对 9312 名新生儿进行了 SMA 筛查，筛查出 SMA 携带者 204 名，故惠州地区携带率约为 1/46，未检测出 SMA 患儿。

3.2 不同性别筛查人数及携带率

9312 名新生儿中，男性新生儿 5045 名，女性新生儿 4267 名。204 名 SMA 携带者中，男性新生儿 108 人，携带率约为 1/47；女性新生儿 96 人，携带率约为 1/44；两者无统计学差异（ $\chi^2=0.128$ ， $P=0.720$ ）。

3.3 不同民族 SMA 基因筛查人数及携带率

统计 2022 年 12 月至 2023 年 12 月出生的 5853 名新生儿民族，分析不同民族与携带 SMA 基因是否有相关性。5853 名进行 SMA 基因筛查的新生儿中，各民族所占人数及 SMA 携带情况详见表 1。汉族 5551 人，SMA 携带者检出 131 人，携带率约为 1/42；瑶族 27 人，SMA 携带者检出 2 人，携带率约为 1/14；畲族 10 人，SMA 携带者检出 1 人，携带率为 1/10；检出 SMA 基因携带者的三个民族之间无统计学差异（ $\chi^2=5.961$ ， $P=0.069$ ）。土家族、壮族等少数民族均未

检出。民族未知而父亲或母亲其中一方为香港户籍的 22 人、台湾户籍的 2 人、马来西亚户籍的 1 人，均无 SMA 携带者检出。

表 1 各民族所占人数及 SMA 携带情况

民族	人数	携带人数	携带率
土家族	76	—	—
壮族	46	—	—
苗族	33	—	—
瑶族	27	2	1/14
回族	15	—	—
畲族	10	1	1/10
彝族	11	—	—
满族	9	—	—
黎族	8	—	—
侗族	8	—	—
白族	7	—	—
其他	27	—	—
汉族	5551	131	1/42
未知（香港、台湾等）	25	—	—
合计	5853	134	1/44

3.4 SMA 携带者出生基本信息与携带的相关性分析

统计 2022 年 12 月至 2023 年 12 月出生的 5853 名新生儿出生基本信息，分析新生儿出生基本信息与携带 SMA 基因是否有相关性。134 名 SMA 携带者中，住院新生儿 128 名，门诊检测者 6 人。收集住院新生儿基本信息（包括新生儿身长、体重等），分析其与携带的相关性，结果显示新生儿基本信息均与 SMA 基因无关（均 $P > 0.05$ ）。新生儿出生的基本信息与 SMN1 的相关性如表 2 所示。

4 讨论

SMA 是最常见和最严重的遗传性疾病之一，进行 SMA 筛查是一种有效预防下一代患儿的方法^[6]。SMA 由奥地利神经病学家 Werdnig 于 1891 年首次报道，1995 年证实 SMN1 为 SMA 的致病基因，2016 年诺西那生钠注射液（Spinraza）上市用于治疗 SMA 患者^[7]。根据前瞻性研究估算，中国约有 3000 万名 SMA 致病基因携带者，有近 30000 名患者正遭受病痛的折磨^[8]。SMN2 基因是 SMA 的疾病修饰基因，是 SMN1 的旁系，SMN2 拷贝数与疾病程度呈负相关^[9]。如果父母双方都是 SMA 携带者，其后代有 25% 的机会为 SMA 患者，50% 的机会为携带者^[10]。目前为止，中国鲜少见关于新生儿 SMA 携带率的报道，掌握新生儿是否携带 SMA 基因以及 SMA 流行病学特征，可以对 SMA 家系进行遗传咨询、基因筛查提供依据，同时也可以为 SMA 患儿进行症状前干预改变患儿自然病程。

本研究分析了 2022 年 12 月—2024 年 7 月出生于惠州市第二妇幼保健院的 9312 名新生儿 SMA 基因携带情况，

并分析了部分新生儿出生信息与是否携带 SMA 基因的相关性。9312 名新生儿中，共筛查出 204 名 SMA 携带者，故惠州地区新生儿 SMA 携带率为 1/46 (2.2%)。其中，男性新生儿 108 人，携带率约为 1/47；女性新生儿 96 人，携带率约为 1/44，两者无统计学差异 ($\chi^2=0.128, P=0.720$)，此结果与云南地区^[11]相同。惠州地区新生儿 SMA 携带率 (1/46) 高于中国人群携带率 (1/53)^[12]、南方五省平均携带率 (1/73.8)^[13]，可能与标本量、纳入人群、城市流动人口不同有关；高于呼和浩特地区新生儿携带率 (1/87)^[8]，可能是因为呼和浩特地区 SMA 携带率为排除了高度怀疑 SMA 和有 SMA、DMD 等神经 - 肌肉病家族史的新生儿，两者研究对象纳入和排除标准不同有关，也可能与呼和浩特地区蒙古族人口占 11.57% 有关，需进一步验证。惠州地区新生儿 SMA 携带率略高于茂名地区育龄妇女 (1/51)^[14]、中国南

海地区孕妇 (1/56)^[15]、中国台湾地区孕妇 (1/48)^[16]，而明显高于乌鲁木齐地区育龄妇女 (1/61)^[17]和江门地区育龄妇女 (1/57)^[18]，可能是因为惠州地区与茂名、南海、台湾地区地理位置相近有关，而明显低于江门地区，可能与江门人存在与其他国家和地区人种进行婚配的现象，遗传信息更加丰富有关^[19]；明显高于乌鲁木齐，可能与乌鲁木齐市是一个多民族聚居的城市有关，也可能与标本量或者研究对象纳入标准不同有关。本研究发现各民族之间 SMA 携带率无差异，而前期研究结果显示，土家族 SMA 携带率为 1/23，汉族为 1/73.9，瑶族为 1/28.6，与本研究结果不符^[13]，可能与本研究标本量有限有关，也可能与中国目前缺乏相关数据有关。后期研究纳入中国多个新生儿疾病筛查中心，基于多因素 (如民族等) 的大样本人群进行调查，为统计中国不同地区 SMA 携带率提供实用数据基础。

表 2 新生儿出生的基本信息与 SMN1 的相关性

基本信息		正常新生儿	SMA 携带者	t/χ^2	P
身高		3140 ± 456cm	3101 ± 419cm	0.963	0.335
体重		49.54 ± 2.00g	49.50 ± 1.84g	0.243	0.808
孕周		38.5 ± 1.5W	38.5 ± 1.6W	0.417	0.677
分娩方式 (n)	顺产	3782	75	3.240	0.072
	剖宫产	1930	53		
胎次 (n)	1 胎	5653	124	0.737	0.188
	2 胎	77	4		
母亲文化程度 (n)	未知	462	8	0.720	0.868
	高中及以下	1643	36		
	大学 (专科、本科)	3506	82		
	研究生	101	2		

定量 PCR 无法检出约 4% 的“2+0”携带者^[20]，约 5% 的 SMN1 点突变携带者^[21]，约 2% 的新发突变胎儿的父母基因型正常^[22]；另外，基于血液标本的筛查可能无法识别性腺嵌合体的携带者^[10]。故本研究惠州地区新生儿 SMA 携带率较实际偏低。

自诺西那生钠和利司普兰口服液先后纳入医保后，给 SMA 患儿带来了希望，但是 SMA 的治疗仍需终身治疗管理，无论是从经济还是人力方面，普通家庭均难以承担，而且 SMA 的早期症状并不明显，因此，成本低廉的 SMA 携带者筛查成为预防 SMA 患儿出生的经济且有效的方法^[15]。许多国家已经陆续开展新生儿筛查，而且研究表明，孩子越早接受治疗效果越好。本院开展婚前、孕期及新生儿 SMA 携带者筛查及专业的遗传咨询，有效完成了 SMA 的三级预防，为惠州地区的优生优育及疾病预防提供了理论指导。

参考文献

[1] Mercuri E, Sumner CJ, Muntoni F, Darras BT, Finkel RS. Spinal muscular atrophy. *Nat Rev Dis Primers*. 2022 Aug 4;8(1):52.
 [2] Stephen J Kolb, M D, John T Kissel. Spinal Muscular Atrophy *Neurol Clin*. 2015 November ; 33(4): 831–846.

[3] Chen X, Sanchis-Juan A, French C E, et al. Spinal muscular atrophy diagnosis and carrier screening from genome sequencing data[J]. *CSHL*, 2019(5).
 [4] 中国研究型医院学会神经科学专业委员会,中国出生缺陷干预救助基金会神经与肌肉疾病防控专项基金组织专家组. 脊髓性肌萎缩症新生儿筛查专家共识(2023版)[J]. *中华医学杂志*, 2023,103(27):2075-2081.
 [5] 钟玉杭,黄小玲,孙志豪. 脊髓性肌萎缩症新生儿筛查研究进展 [J]. *罕见病杂志*, 2023,30(7):3-5.
 [6] Zhao S, Wang Y, Xin X, et al. Next generation sequencing is a highly reliable method to analyze exon 7 deletion of survival motor neuron 1 (SMN1) gene. *Sci Rep*. 2022 Jan 7;12(1):223.
 [7] Nishio H, Niba ETE, Saito T, et al. Spinal Muscular Atrophy: The Past, Present, and Future of Diagnosis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 26;24(15):11939.
 [8] 马科,庞晓燕,朱博,等. 呼和浩特地区新生儿脊髓性肌萎缩症、杜氏肌营养不良致病基因携带者筛查[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024,32(4):846-849.
 [9] Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, et al. Quantitative analyses

- of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet*, 2002 Feb;70(2):358-368.
- [10] Huang Z, Yang Q, Ye J, et al. Screening and prenatal diagnosis of survival motor neuron gene deletion in pregnant women in Zhaoqing city, Guangdong Province. *BMC Med Genomics*, 2023 Mar 1;16(1):39.
- [11] 章印红,王蕾,贺静,等.云南地区3049名育龄人群脊髓性肌萎缩症携带者筛查结果分析[J].中华医学遗传学杂志,2020(4):384-385-386-387-388.
- [12] 侯伟,付晓琳,谢潇潇,等.中国人33104例单基因病携带者筛查的多中心研究[J].南方医科大学学报,2024,44(6):1015-1023.
- [13] Zhao S, Wang W, Wang Y, et al. NGS-based spinal muscular atrophy carrier screening of 10,585 diverse couples in China: a pan-ethnic study. *Eur J Hum Genet*, 2021 Jan;29(1):194-204.
- [14] 李祝坤,谭满胜,唐玉芬,等.茂名地区育龄妇女脊髓性肌萎缩症 SMN1 突变携带者筛查与分析[J].热带医学杂志,2023,23(6):776-779.
- [15] 梁志钊,黄小玲,杨发达,等.南海地区10995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):183-187.
- [16] Su YN, Hung CC, Lin SY, et al.. Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study. *PLoS One*. 2011 Feb 25;6(2):e17067.
- [17] 刘儵然,武爽,韩锐.乌鲁木齐地区育龄女性脊髓性肌萎缩症携带者筛查胚胎植入前诊断及产前诊断情况分析[J].中国妇幼保健,2024,39(3):417-421.
- [18] 李秋丽,石海弘,孙淑湘,等.江门地区14378例育龄妇女的脊髓性肌萎缩症基因携带者筛查情况[J].中国优生与遗传杂志,2022, 30(3):509-511.
- [19] 唐佳,曾钦龙,杨应松,等.广东省江门地区G6PD缺乏症发生率及突变谱研究[J].热带医学杂志,2018,18(7):860-864.
- [20] Mailman M, Hemingway T, Darsey R, et al. Hybrids monosomal for human chromosome5 reveal the presence of a spinal muscular atrophy (SMA) carrier with two SMN1 copies on one chromosome[J]. *HUM GENET*, 2001, 108(2):109-115.
- [21] Qu YJ, Bai JL, Cao YY, et al. Mutation Spectrum of the Survival of Motor Neuron 1 and Functional Analysis of Variants in Chinese Spinal Muscular Atrophy. *J Mol Diagn*, 2016 Sep;18(5):741-752.
- [22] Wirth B, Schmidt T, Hahnen E, et al. De Novo Rearrangements Found in 2% of Index Patients with Spinal Muscular Atrophy: Mutational Mechanisms, Parental Origin, Mutation Rate, and Implications for Genetic Counseling[J].*AM J HUM GENET*, 1997, 61(5):1102.