

云南地区永久性先天性甲状腺功能减退症患儿 基因突变分析

龚彦菱^{1,2}, 章印红³, 刘凡⁴, 朱宝生³, 周笑颜³, 谭颖³, 李苏云³, 李利^{1,2}

1. 昆明理工大学医学院, 云南 昆明 650500
2. 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属医院儿科, 云南 昆明 650032
3. 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属医院医学遗传科 云南省出生缺陷与遗传病研究重点实验室 云南省出生缺陷与罕见病临床医学研究中心, 云南 昆明 650032
4. 楚雄彝族自治州人民医院儿童医学中心, 云南 楚雄 675000

[摘要] 目的:分析云南地区永久性先天性甲状腺功能减退症(CH)患儿的基因突变及其临床表型特点。方法:回顾性分析2016年1月至2019年1月经云南省第一人民医院诊治的40例CH患儿的临床资料,所有患儿随访至3岁,分别在患儿1、2和3岁时行格塞尔发育量表评分,评估患儿发育状况和预后。采用高通量测序检测27个已知的CH相关基因,分析基因型和临床表型之间的关系。结果:40例患儿中23例检出相关基因突变,突变检出率为57.5%;共检出8个基因的32种突变类型,前三位突变基因为DUOX2、TPO和TSHR,突变频率分别为65.9%(29/44)、11.4%(5/44)和9.1%(4/44);17例检出DUOX2基因突变患儿存在17种突变类型,其中p. K530*突变频次最高,占比20.7%(6/29);DUOX2杂合突变与复合杂合突变患儿的体格发育和智力发育评估差异无统计学意义($P>0.05$),患儿随访至3岁均不能停药,表现为永久性CH。携带其他基因突变患儿的体格和智力发育评估也在正常范围。结论:云南地区永久性CH患儿DUOX2、TPO和TSHR基因突变检出率较高,基因突变类型与CH患儿预后无明显相关性。



[关键词] 先天性甲状腺功能减退症;基因突变;新生儿筛查;甲状腺激素;高通量测序
[中图分类号] R722.11;R725.8 [文献标志码] A

Gene mutations in children with permanent congenital hypothyroidism in Yunnan, China

收稿日期:2022-04-24 接受日期:2022-06-06

基金项目:云南省万人计划“名医”专项(YNWR-MY-2018-016);云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(202101AY070001-262);云南省出生缺陷和遗传病研究重点实验室开放课题(2020ZDKFKT001);云南省出生缺陷与罕见病临床医学研究中心项目(2019ZF015)

第一作者:龚彦菱,硕士研究生,主要从事儿童内分泌遗传代谢性疾病的临床诊治和基础研究;E-mail:gyeoni@163.com;https://orcid.org/0000-0003-1320-8102. 章印红,副主任医师,主要从事新生儿遗传代谢病的发病机制研究;E-mail:zyh8920002@163.com;https://orcid.org/0000-0002-2037-139X

通信作者:李利,主任医师,博士生导师,主要从事儿童内分泌遗传代谢性疾病及新生儿相关疾病的临床诊治和发病机制研究;E-mail:erklili@sina.com;https://orcid.org/0000-0002-8406-2588

GONG Yanling^{1,2}, ZHANG Yinhong³, LIU Fan⁴, ZHU Baosheng³, ZHOU Xiaoyan³, CHAN Ying³, LI Suyun³, LI Li^{1,2} (1. School of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. Department of Pediatrics, the First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032, China; 3. Department of Medical Genetics, the First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Yunnan Provincial Key Laboratory for Birth Defects and Genetic Diseases, Yunnan Provincial Clinical Research Center for Birth Defects and Rare Diseases, Kunming 650032, China; 4. Children's Medical Center, Chuxiong Yi Autonomous Prefecture People's Hospital, Chuxiong 675000, Yunnan Province, China)

GONG Yanling and ZHANG Yinhong contributed equally to the article

Corresponding author: LI Li, E-mail: erklili@sina.com, <https://orcid.org/0000-0002-8406-2588>

[**Abstract**] **Objective:** To investigate molecular and clinical characteristics of children with permanent congenital hypothyroidism (CH) in Yunnan, China. **Methods:** The clinical data of 40 children with CH diagnosed and treated in the First People's Hospital of Yunnan Province during January 2016 and January 2019 were retrospectively analyzed. All children were followed up to 3 years old, and Gesell intelligent score was evaluated at age of 1, 2 and 3 years, respectively. Developmental status and prognosis were evaluated. Next-generation sequencing (NGS) was used to screen all exons and exon-intron boundary sequences of the 27 known CH associated genes, and the relationship between genotypes and clinical phenotypes was analyzed. **Results:** Among the 40 children, the thyroid related pathogenic gene mutations were detected in 23 cases with a rate of 57.5%, and a total of 32 mutations of 8 genes were detected. Mutations in *DUOX2*, *TPO* and *TSHR* genes were the most common ones with mutation frequencies of 65.9%(29/44), 11.4%(5/44) and 9.1%(4/44), respectively. *DUOX2* gene mutations were detected in 17 children with CH, and a total of 17 mutation types were detected. p.K530* was the most common mutation in *DUOX2* gene, accounting for 20.7%(6/29). There was no significant difference in physical development and intelligence assessment between children with *DUOX2* heterozygous mutation and compound heterozygous mutations. None of patients could terminate medication at 3 years of the follow-up and all of them were provisionally assessed as permanent CH. The physical and mental development assessment of children with other gene mutations were also in the normal range. **Conclusion:** The detection rate of *DUOX2*, *TPO* and *TSHR* pathogenic mutations are high among children with permanent CH in Yunnan area, and no correlation is observed between gene mutation types and prognosis in children with CH.

[**Key words**] Congenital hypothyroidism; Gene mutation; Neonatal screening; Thyroid hormone; High-throughput sequencing

[**缩略语**] 先天性甲状腺功能减退症(congenital hypothyroidism, CH); 双氧化酶(dual oxidase, DUOX); 促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH); 甲状腺素(thyroxine, T4); 游离T4(free T4, FT4); 三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3); 游离T3(free T3, FT3); 甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO); 促甲状腺激素受体(thyrotropin receptor, TSHR); X连锁转导素 β 样蛋白1基因(transducin β-like 1 X-linked gene,

TBL1X);碘化酪氨酸脱碘酶(iodotyrosine deiodinase, IYD);配对盒基因(paired box gene, PAX);免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IGSF);DUOX成熟因子(DUOX maturation factor, DUOXA)

CH是一种常见的可导致严重智力发育落后和体格发育障碍的儿童内分泌代谢性疾病。云南地区CH发病率为1/3579~1/2610,与全国发病率(1/4000~1/3000)接近^[1-2]。尽管CH的筛查和诊断技术日益成熟,但发病机制研究仍显不足。CH主要与甲状腺发育不全和甲状腺激素合成障碍有关,基因突变是重要的致病因素^[3-4]。自Vaisman等^[5]2004年首次阐述DUOX2基因突变导致CH的致病机制以来,基因突变导致CH发生的报道越来越多,高频突变位点以及基因型和表型间的关系存在明显的人群差异^[6]。为探讨云南地区CH患儿基因突变的发生情况及其与表型的相关性,本研究对40例CH患儿的相关资料进行了分析,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象

回顾性分析2016年1月至2019年1月经云南省第一人民医院新生儿疾病筛查后诊治的40例云南籍CH患儿的资料。CH患儿确诊时年龄为15~30 d,其中男性19例,女性21例。纳入标准:①足月儿,且甲状腺自身免疫抗体均为阴性者;②散发和非近亲病例。排除标准:①其他先天性疾病及染色体异常疾病者;②中枢性甲状腺功能减退症或相关综合征者;③自身免疫性疾病家族史者。本研究经患儿父母知情同意并签署书面同意书,并通过医院医学伦理委员会审查(2019GJ048)。

1.2 仪器及试剂

新生儿TSH测定试剂盒AutoDELFIA[®] Neonatal hTSH为芬兰Wallac Oy公司产品;全自动时间分辨荧光免疫分析仪Wallac-AotuDELFIA[®] 1235 Automatic Immunoassay System、全自动打孔仪Panthera-Puncher[™] 9为芬兰PerkinElmer公司产品;基因组DNA提取试剂盒QIAamp DNA Mini为德国Qiagen公司产品;高通量测序系统Illumina HiSeq 2000为美国Illumina公司产品。

1.3 CH筛查和确诊方法

按照《新生儿疾病筛查技术规范(2010年版)》^[7]的要求采集新生儿足跟血制作干血斑并于3 d内完成检测,严格参照试剂盒说明书操作。

对TSH不低于8 mIU/L的新生儿召回复查,复查结果再次异常者进一步检测血清TSH、T₄、FT₄、T₃和FT₃。正常值范围:TSH为0.3~4.6 mIU/L, T₄为55.40~161.25 nmol/L, FT₄为10.44~24.38 pmol/L, T₃为1.01~2.96 nmol/L, FT₃为2.77~6.31 pmol/L。对于血清FT₄水平低于检测下限而TSH水平高于检测上限者诊断为CH^[8-9]。所有确诊患儿进行甲状腺彩色多普勒超声检查。

1.4 采用高通量测序检测基因突变

对诊断明确且长期规律随访无法减量或停药的患者,采集患儿及父母外周血标本各3 mL,乙二胺四乙酸抗凝,严格按照试剂盒操作说明提取基因组DNA后交由安诺优达基因科技(北京)有限公司进行测序,分析筛选与CH相关的27个基因(HESX1、LHX3、LHX4、SOX3、OTX2、PROPI、POU1F1、TRHR、TSHB、LEPR、TPO、TSHR、TBL1X、IYD、PAX8、NKX2-1、FOXE1、IGSF1、NKX2-5、JAG1、GLIS3、CDCA8、TG、DUOX2、DUOXA2、SLC5A5、SLC26A4)。参照人类基因变异数据库及ClinVar数据库明确致病性突变位点。参考美国医学遗传学与基因组学学会和美国分子病理协会在2015年提出的“序列变异解释的标准和指南”^[10]对突变位点的致病性进行判读。

1.5 患儿随访及管理

由新生儿筛查中心及儿童内分泌专科医生负责确诊病例的治疗、定期随访及监测。所有患儿均在门诊随访治疗,分别在1、2和3岁行包括身高、体重、头围、格塞尔发育量表评分和左甲状腺素治疗剂量在内的评估。

1.6 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。正态分布的计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析;计数资料用例数(百分率)[$n(\%)$]表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿基因突变情况

40例CH患儿中23例检出基因突变,检出率为57.5%(23/40),其中19例检出1种基因突变

(82.6%),包括*DUOX2*、*TPO*、*TSHR*、*TBLIX*、*DUOXA2*和*IGSF1*等突变;4例检出2种基因突变(17.4%),其中*DUOX2+PAX8*突变1例,*DUOX2+TPO*突变2例,*DUOX2+IYD*突变1例。23例患儿共检出8个突变基因的32种突变类型,包括17种*DUOX2*突变、5种*TPO*突变、4种*TSHR*突变、2种*TBLIX*突变及*DUOXA2*、*IYD*、*PAX8*、*IGSF1*突变各1种(表1),其中24种(75.0%)与甲状腺激素合成异常基因有关;突变频数前三位的基因分别为*DUOX2*、*TPO*和*TSHR*,分别占65.9%(29/44)、11.4%(5/44)和9.1%(4/44)。结果提示,*DUOX2*基因突变在云南地区患儿中检出率较高,且p.K530*位点突变在云南地区患儿中较为常见。

2.2 *DUOX2*基因突变及患儿生长发育情况

17例患儿检出*DUOX2*基因突变,突变频数为29,检出的17种突变类型包括错义突变、无义突变、剪切突变和缺失突变,突变频率分别占比58.6%(17/29)、24.1%(7/29)、10.3%(3/29)和6.9%(2/29),其中p.K530*突变频次最高,占20.7%(6/29)。5例检测到*DUOX2*基因杂合突变,12例检测到*DUOX2*基因复合杂合突变。除4例患儿(例4、例10、例11、例16)父母中有一方未能召回外,其余患儿父母均进行了目标基因位点检测(表2)。结果提示,*DUOX2*基因以复合杂合突变为主。

17例患儿经甲状腺彩色多普勒超声检查,7例甲状腺形态未见明显异常,8例甲状腺肿大,甲状腺缺如和甲状腺发育不全各1例。追溯患儿父母甲状腺功能情况,除例4和例13母亲有亚临床甲状腺功能减退外,其余患儿父母甲状腺功能均无异常。例1、例2、例8和例11分别合并*PAX8*、*TPO*和*IYD*基因杂合突变,例2甲状腺缺如,例8甲状腺发育不全,上述患儿生长发育评估接近同龄儿。所有患儿在3岁时均不能减量或停药,表现为永久性CH(表2)。*DUOX2*基因杂合突变组与*DUOX2*基因复合杂合突变组生长发育指标在各年龄节点差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),提示*DUOX2*基因突变类型与CH患儿预后无显著相关性。见表3。

2.3 其他CH相关基因突变及患儿生长发育情况

除*DUOX2*突变外,检出的*TPO*、*TSHR*、*TBLIX*、*PAX8*、*IYD*、*IGSF1*及*DUOXA2*基因突变患儿均在门诊规律随诊,4例合并*DUOX2*基因突变患儿的甲状

腺发育情况详见表2,1例*TSHR*基因复合杂合突变患儿伴有甲状腺缺如,1例*TSHR*杂合突变患儿的甲状腺发育正常,余*IGSF1*、*TBLIX*及*DUOXA2*基因杂合突变患儿均伴甲状腺肿。上述患儿的体格发育(身高、体重、头围)及智力发育(大运动、精细运动、适应性行为、语言及个人-社会行为)评估均在正常范围(表3)。

3 讨论

CH是一种常见的儿童内分泌代谢障碍疾病,若患儿早期得不到及时诊断和治疗,将会导致严重的体格和智力发育障碍。甲状腺激素合成障碍约占CH病因的35%,50%的患儿存在基因突变;甲状腺发育不全约占CH病因的65%,在不到5%的患者中发现了基因突变^[11]。甲状腺发育不全相关的基因包括*PAX8*、*TSHR*、*NKX2-1*、*FOXE1*、*NKX2-5*和*HHEX*等,常呈常染色体隐性或显性遗传;甲状腺激素合成障碍相关基因包括*DUOX2*、*DUOXA2*、*TPO*、*TG*、*SLC26A4*、*SLC5A5*和*IYD*等,常呈常染色体隐性遗传^[12-16]。随着高通量测序的广泛应用,目前国内外关于CH的分子研究报道逐渐增多,基因组测序技术应用于新生儿疾病筛查已经逐渐成为未来的发展趋势^[17-19]。截至目前,针对云南地区CH基因突变的研究鲜有报道,本研究在40例云南地区CH患儿中检出23例存在相关基因突变,突变检出率为57.5%(23/40),24种突变类型与甲状腺激素合成异常基因有关,占75.0%(24/32)。突变频数前三位的基因为*DUOX2*、*TPO*和*TSHR*,分别占65.9%(29/44)、11.4%(5/44)和9.1%(4/44)。这些发现可为云南地区新生儿CH的筛查、治疗和遗传咨询提供参考资料。

本文资料显示,17例(42.5%)CH患儿检出*DUOX2*突变,*DUOX2*的高频突变率与韩国^[20]和日本^[21]学者以及我国其他学者^[4]的研究结果一致,表明*DUOX2*基因突变可能是东亚人群CH发生的主要遗传因素。而西方国家的一些研究报道显示,*TPO*基因突变是导致激素合成障碍的最常见原因^[22-23],这可能与种族及地域间的差异有关。有研究认为,*DUOX2*基因杂合突变多与暂时性CH相关,复合杂合或纯合突变多与永久性CH相关^[24]。本文资料中,5例存在*DUOX2*基因杂合突变(29.4%,5/17),12例存在*DUOX2*基因复合杂合突变(70.6%,12/17),随访至3岁时均不能减量或

表 1 23例先天性甲状腺功能减退症患儿8个突变基因的32种突变类型一览

Table 1 Thirty-two mutations of 8 gene in 23 children with congenital hypothyroidism

突变基因(转录本)	区域	突变位点	氨基酸变化	突变类型	致病等级	突变频数	占比(%)
<i>DUOX2</i> (NM_014080.4)	外显子14	c. 1588A>T	p. K530*	无义	致病	6	13.6
	外显子17	c. 2048G>T	p. R683L	错义	可能致病	3	6.8
	外显子20	c. 2654G>T	p. R885L	错义	可能致病	3	6.8
	外显子28	c. 3693+1G>T	splicing	剪切	致病	3	6.8
	外显子25	c. 3329G>A	p. R1110Q	错义	可能致病	2	4.5
	外显子6	c. 605_621delAGC TGGCGTCGGGGCCC	p. Gln202Argfs*93	缺失	致病	1	2.3
	外显子6	c. 647_656delAGAACCCCC TinsTTTCCCCCGAGACTC	p. delGluAsnProLeu216_219in- sLeuSerProGluThrArgfs*81	缺失	致病	1	2.3
	外显子13	c. 1462G>A	p. G488R	错义	可能致病	1	2.3
	外显子13	c. 1546C>T	p. R516C	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子15	c. 1708C>T	p. Q570*	无义	可能致病	1	2.3
	外显子17	c. 2054T>C	p. V685A	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子20	c. 2635G>A	p. E879K	错义	致病	1	2.3
	外显子22	c. 2921G>A	p. R974H	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子25	c. 3391G>T	p. A1131S	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子30	c. 3974A>G	p. H1325R	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子32	c. 4348T>C	p. Y1450H	错义	临床意义未明	1	2.3
外显子34	c. 4537G>C	p. G1513R	错义	临床意义未明	1	2.3	
<i>TPO</i> (NM_000547.5)	外显子9	c. 1450G>A	p. V484M	错义	可能致病	1	2.3
	外显子9	c. 1471C>T	p. R491C	错义	可能致病	1	2.3
	外显子10	c. 1682C>T	p. T561M	错义	可能致病	1	2.3
	外显子11	c. 1949G>A	p. G650E	错义	临床意义未明	1	2.3
	外显子13	c. 2268dupT	p. E757*	无义	致病	1	2.3
<i>TSHR</i> (NM_000369.2)	外显子10	c. 1295A>G	p. N432S	错义	可能致病	1	2.3
	外显子10	c. 1454C>A	p. A485D	错义	可能致病	1	2.3
	外显子10	c. 1538C>T	p. T513M	错义	可能致病	1	2.3
	外显子10	c. 1638G>A	p. W546*	无义	可能致病	1	2.3
<i>TBL1X</i> (NM_005647.3)	外显子5	c. 139C>T	p. R47*	无义	可能致病	1	2.3
	外显子7	c. 611C>A	p. S204*	无义	可能致病	1	2.3
<i>PAX8</i> (NM_003466.3)	外显子3	c. 164A>G	p. H55R	错义	临床意义未明	1	2.3
<i>IYD</i> (NM_203395.2)	外显子4	c. 599G>C	p. G200A	错义	临床意义未明	1	2.3
<i>IGSF1</i> (NM_001170961.1)	外显子14	c. 2471C>T	p. S824F	错义	临床意义不明	1	2.3
<i>DUOXA2</i> (NM_207581.3)	外显子5	c. 738C>G	p. Y246*	无义	可能致病	1	2.3

splicing: 剪切突变; DUOX: 双氧化酶; TPO: 甲状腺过氧化物酶; TSHR: 促甲状腺激素受体; TBL1X: X连锁转导素β样蛋白1基因; PAX: 配对盒基因; IYD: 碘化酪氨酸脱碘酶; IGSF: 免疫球蛋白超家族; DUOXA: DUOX成熟因子。

停药, 预后评估为永久性CH, 暂未观察到暂时性CH转归, 与黄永兰等^[25]的报道不一致, 可能与本文资料样本量较少且均为难以减量或停药的患儿

有关。CH是一种复杂的内分泌疾病, 尽管近年来一直在尝试探究CH致病的遗传密码, 但基因型与表型的关系并非单一对应, 也并非所有CH患儿均

表 2 17例DUOX2基因突变先天性甲状腺功能减退症患儿基因型及表型

Table 2 Genotypes and phenotypes of congenital hypothyroidism children with DUOX2 gene mutations

例序	性别	确诊时 年龄(d)	TSH(mIU/L)		FT4 (pmol/L)	甲状腺 超声检查	DUOX2基因氨基酸变异 (遗传来源)	合并其他 基因突变	3岁时左甲状腺 素剂量(μg/d)
			初筛	复查					
1	男	29	333.0	118.0	4.8	正常	p. H1325R(母)	PAX8	80.0
2	女	16	103.0	98.0	5.4	缺如	p. V685A(母)	TPO	75.0
3	女	15	20.0	17.0	5.0	正常	p. R885L(母)	无	17.5
4	男	27	70.9	100.0	2.9	增大	p. R1110Q(—)	无	60.0
5	女	18	25.0	19.0	9.4	正常	p. K530*(父)	无	40.0
6	男	23	12.3	46.9	9.9	增大	p. K530*(父)/p. R1110Q(母)	无	37.5
7	女	15	10.7	15.6	10.2	增大	p. K530*(父)/p. R885L(母)	无	37.5
8	女	25	92.8	150.0	0.3	偏小	p. R885L(母)/p. Q570*(父)	IYD	62.5
9	男	18	131.0	124.7	7.1	正常	p. K530*(父)/splicing(母)	无	75.0
10	女	19	237.0	14.2	9.2	增大	p. A1131S(—)/p. R974H(母)	无	25.0
11	女	26	17.9	71.9	6.1	增大	p. K530*(母)/splicing(—)	TPO	37.5
12	女	30	32.4	111.9	5.1	正常	p. K530*(父)/p. Y1450H(母)	无	37.5
13	男	15	23.0	16.5	5.0	增大	p. E879K(母)/p. R516C(父)	无	30.0
14	女	22	28.0	9.8	5.1	正常	p. R683L(母)/p. G488R(父)	无	20.0
15	男	17	110.0	100.0	5.6	增大	p. R683L(父)/splicing(母)	无	25.0
16	男	24	25.4	38.5	8.1	增大	p. R683L(父)/p. G1513R(—)	无	25.0
17	女	20	85.0	67.0	7.9	正常	p. Gln202Argfs*93(父)/p. delGluAsnPro- Leu216_219insLeuSerProGluThrArgfs*81(母)	无	62.5

—:来源不明;splicing:剪切突变. DUOX:双氧化酶;TSH:促甲状腺激素;FT4:游离甲状腺素;PAX:配对盒基因;TPO:甲状腺过氧化物酶;IYD:碘化酪氨酸脱碘酶.

表 3 不同类型DUOX2基因突变先天性甲状腺功能减退症患儿的生长发育情况

Table 3 Growth and development of 17 congenital hypothyroidism children with DUOX2 gene mutation

突变类型	n	身高 (cm)	体重 (kg)	头围 (cm)	格塞尔发育量表评分					左甲状腺素治 疗剂量(μg/d)
					$(\bar{x} \pm s)$					
					大运动	精细运动	适应性行为	语言	个人-社会 行为	
杂合突变										
1岁	5	74.9±1.7	9.8±0.7	45.7±1.1	90.4±6.6	95.8±3.7	94.4±3.6	95.2±4.2	98.8±0.8	26.2±10.7
2岁	5	87.7±3.1	12.7±1.6	48.3±0.8	93.2±6.6	89.8±3.3	91.2±3.8	87.0±6.3	91.6±5.9	32.0±15.4
3岁	5	95.9±1.8	13.9±1.6	49.1±0.7	91.6±4.1	95.4±5.2	94.4±2.4	95.4±5.3	97.0±4.5	36.0±24.6
复合杂合突变										
1岁	12	75.0±1.1	9.6±0.4	46.3±1.1	91.3±6.8	92.9±6.8	90.2±7.5	87.3±7.8	94.1±6.0	26.0±7.6
2岁	12	87.4±2.7	12.3±1.0	47.8±0.8	92.9±6.2	93.7±8.2	94.9±8.0	87.7±9.6	97.0±6.1	30.2±9.0
3岁	12	95.6±3.0	14.5±1.1	48.6±0.8	94.3±7.6	96.6±5.6	95.3±6.4	88.1±8.4	97.5±7.2	29.0±6.6

可通过高通量测序找到可能的遗传病因,未知基因或环境因素的作用依然存在^[26-27]。

此外,CH表型的严重程度是否取决于基因突变的数量尚不清楚。本文资料中,4例CH患儿同时存在2种基因突变类型,多见于DUOX2和TPO突变,这与Wang等^[28]报道的携带双基因突变的61例患者中最常见的双基因突变为DUOX2/DUOX1

略有差异,可能与本文资料样本量较少以及存在地域和民族间的差异有关。DUOX2作为NADPH氧化酶家族的成员,其突变通常导致甲状腺激素合成障碍,而非导致甲状腺发育异常。本文资料DUOX2基因突变患儿中甲状腺形态正常或增大者占88.2%(15/17),这与大部分研究者的结论一致;但甲状腺缺如和甲状腺发育不全各1例(例2

合并*TPO*杂合突变,例8合并*IYD*杂合突变),这表明*DUOX*家族可能通过与其他未确定蛋白相互作用在甲状腺发育中发挥额外的作用。基因突变位点或基因突变类型越多,甲状腺功能越难恢复正常,需要更长时间和更大剂量的药物来维持。Aycan等^[12]研究表明,由于相关基因的补偿效应减弱,*DUOX1*和*DUOX2*双基因突变将导致表型加重。与之类似,Sun等^[29]报道,*DUOX2*基因复合杂合或纯合突变将导致更低的残留酶活性,增加CH患者甲状腺功能减退的严重程度。本文资料中,所有检出基因突变的患儿体格及智力发育情况均良好,且未观察到*DUOX2*基因杂合突变患儿的远期预后与复合杂合突变患儿间存在显著性差异,这与Wang等^[30]发现一致。限于本研究临床样本量较小,且没有完善的候选基因功能验证和酶活性检测,这一结论可能存在片面性。

综上所述,本研究采用高通量测序对云南地区CH儿童进行相关基因筛选,发现本地区CH相关致病基因突变中约75.0%(24/32)与甲状腺激素合成异常有关,*DUOX2*、*TPO*和*TSHR*基因突变检出率较高,且*DUOX2*基因以无义突变p. K530*频次最高,未观察到*DUOX2*基因突变类型对CH患儿体格和智力发育造成显著影响。上述发现为初步探索云南地区CH发生的遗传背景提供了参考资料,并为西部地区更好地开展新生儿疾病筛查和出生缺陷防治提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 章印红,李利,朱宝生,等. 云南省部分地区新生儿先天性甲状腺功能减低症筛查结果分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2015, 17(1): 45-48.
ZHANG Yinong, LI Li, ZHU Baosheng, et al. Analysis of neonatal screening results for congenital hypothyroidism in parts of Yunnan Province, China[J]. *Chinese Contemporary Pediatrics*, 2015, 17(1): 45-48. (in Chinese)
- [2] 王琼,齐志业,赵小龙,等. 云南省6州/市先天性甲状腺功能减低症筛查中TSH切值的确立[J]. *昆明医科大学学报*, 2018, 39(1): 69-72.
WANG Qiong, QI Zhiye, ZHAO Xiaolong, et al. The determination of cut-off value of TSH during screening of congenital hypothyroidism in 6 prefecture/city of Yunnan province[J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2018, 39(1): 69-72. (in Chinese)
- [3] PETERS C, NICHOLAS A K, SCHOENMAKERS E, et al. *DUOX2/DUOX2A2* mutations frequently cause congenital hypothyroidism that evades detection on newborn screening in the United Kingdom[J]. *Thyroid*, 2019, 29(6): 790-801.
- [4] HUANG M, LU X, DONG G, et al. Analysis of mutation spectra of 28 pathogenic genes associated with congenital hypothyroidism in the Chinese Han population[J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 695426.
- [5] VAISMAN M, ROSENTHAL D, CARVALHO D P. Enzymes involved in thyroid iodide organification[J]. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2004, 48(1): 9-15.
- [6] SUN F, ZHANG J X, YANG C Y, et al. The genetic characteristics of congenital hypothyroidism in China by comprehensive screening of 21 candidate genes[J]. *Eur J Endocrinol*, 2018, 178(6): 623-633.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 新生儿疾病筛查技术规范(2010年版) [A/OL]. (2010-11-10)[2020-06-11]. <http://www.nhc.gov.cn/fys/s3585/201012/170f29f0c5c54d298155631b4a510df0.shtml>. Ministry of Health of the People's Republic of China. Technical guide of newborn screening in China (2010) [A/OL]. (2010-11-10)[2020-06-11]. <http://www.nhc.gov.cn/fys/s3585/201012/170f29f0c5c54d298155631b4a510df0.shtml>. (in Chinese)
- [8] VAN TROTSENBURG P, STOUPA A, LÉGER J, et al. Congenital hypothyroidism: a 2020—2021 consensus guidelines update—an ENDO-European reference network initiative endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology[J]. *Thyroid*, 2021, 31(3): 387-419.
- [9] 邓臣前,陈树春. 欧洲儿科内分泌学会与欧洲内分泌学会《关于先天性甲状腺功能减退症的筛查、诊断和管理共识2020—2021年更新版》要点解读[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(36): 4555-4562.
DENG Chenqian, CHEN Shuchun. Interpretation of congenital hypothyroidism: a 2020—2021 consensus guidelines update—an ENDO-European Reference Network initiative endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology[J]. *Chinese General Practice*, 2021, 24(36): 4555-4562. (in Chinese)
- [10] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.
- [11] STOUPA A, KARIYAWASAM D, POLAK M, et al. Genetic of congenital hypothyroidism[J]. *Med Sci (Paris)*, 2022, 38(3): 263-273.
- [12] AYCAN Z, CANGUL H, MUZZA M, et al. Digenic

- DUOX1* and *DUOX2* mutations in cases with congenital hypothyroidism[J]. **J Clin Endocrinol Metab**, 2017, 102(9): 3085-3090.
- [13] WASSNER A J. Congenital hypothyroidism[J]. **Clin Perinatology**, 2018, 45(1): 1-18.
- [14] BRADY J, CANNUPP A, MYERS J, et al. Congenital hypothyroidism[J]. **Neonatal Netw**, 2021, 40(6):377-385.
- [15] KOSTOPOULOU E, MILIORDOS K, SPILLOTIS B. Genetics of primary congenital hypothyroidism—a review[J]. **Hormones**, 2021, 20(2): 225-236.
- [16] LI M, LI X, WANG F, et al. Genetic analysis of iodide transporter and recycling (*NIS*, *PDS*, *SLC26A7*, *IYD*) in patients with congenital hypothyroidism[J]. **Gene**, 2022, 824: 146402.
- [17] 张伟然, 赵正言. 新生儿疾病基因筛查研究进展[J]. **中华儿科杂志**, 2020, 58(12): 1033-1037.
ZHANG Weiran, ZHAO Zhengyan. Advances in genetic screening for neonatal diseases[J]. **Chinese Journal of Pediatrics**, 2020, 58(12): 1033-1037. (in Chinese)
- [18] 周文浩, 赵正言. 基因组测序技术应用于新生儿筛查: 临床实践的机遇和挑战[J]. **中华儿科杂志**, 2021, 59(7): 541-544.
ZHOU Wenhao, ZHAO Zhengyan. Genomic newborn screening: opportunities and challenges[J]. **Chinese Journal of Pediatrics**, 2021, 59(7): 541-544. (in Chinese)
- [19] 韩连书. 新生儿遗传病基因筛查技术及相关疾病[J]. **浙江大学学报(医学版)**, 2021, 50(4): 429-435.
HAN Lianshu. Genetic screening techniques and diseases for neonatal genetic diseases[J]. **Journal of Zhejiang University (Medical Science)**, 2021, 50(4): 429-435. (in Chinese)
- [20] SHIN J H, KIM H Y, KIM Y M, et al. Genetic evaluation of congenital hypothyroidism with gland in situ using targeted exome sequencing[J]. **Ann Clin Lab Sci**, 2021, 51(1): 73-81.
- [21] TANAKA T, AOYAMA K, SUZUKI A, et al. Clinical and genetic investigation of 136 Japanese patients with congenital hypothyroidism[J]. **J Pediatr Endocrinol Metab**, 2020, 33(6): 691-701.
- [22] AVBELJ M, TAHIROVIC H, DEBELJAK M, et al. High prevalence of thyroid peroxidase gene mutations in patients with thyroid dysmorphogenesis[J]. **Eur J Endocrinol**, 2007, 156(5): 511-519.
- [23] RIS-STALPERS C, BIKKER H. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to *TPO* mutations[J]. **Mol Cell Endocrinol**, 2010, 322(1-2): 38-43.
- [24] FU C, LUO S, ZHANG S, et al. Next-generation sequencing analysis of *DUOX2* in 192 Chinese subclinical congenital hypothyroidism (SCH) and CH patients[J]. **Clinica Chim Acta**, 2016, 458: 30-34.
- [25] 黄永兰, 谭敏沂, 蒋翔, 等. 疑似甲状腺激素合成障碍性先天性甲状腺功能减低症患儿*DUOX2*基因热点变异及临床转归[J]. **中华实用儿科临床杂志**, 2019, 34(20): 1546-1549.
HUANG Yonglan, TAN Minyi, JIANG Xiang, et al. *DUOX2* hotspots variants and outcomes of patients with congenital hypothyroidism suspected thyroid dysmorphogenesis[J]. **Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics**, 2019, 34(20): 1546-1549. (in Chinese)
- [26] ACAR S, GÜRSOY S, ARSLAN G, et al. Screening of 23 candidate genes by next-generation sequencing of patients with permanent congenital hypothyroidism: novel variants in *TG*, *TSHR*, *DUOX2*, *FOXE1*, and *SLC26A7*[J]. **J Endocrinol Invest**, 2022, 45(4): 773-786.
- [27] ZHANG R J, YANG G L, CHENG F, et al. The mutation screening in candidate genes related to thyroid dysgenesis by targeted next-generation sequencing panel in the Chinese congenital hypothyroidism[J]. **Clin Endocrinol**, 2022, 96(4): 617-626.
- [28] WANG F, ZANG Y, LI M, et al. *DUOX2* and *DUOXA2* variants confer susceptibility to thyroid dysgenesis and gland-in-situ with congenital hypothyroidism[J]. **Front Endocrinol**, 2020, 11: 237.
- [29] SUN F, ZHANG R J, CHENG F, et al. Correlation of *DUOX2* residual enzymatic activity with phenotype in congenital hypothyroidism caused by biallelic *DUOX2* defects[J]. **Clin Genet**, 2021, 100(6): 713-721.
- [30] WANG F, XIAOLE L, MA R, et al. Dual oxidase system genes defects in children with congenital hypothyroidism[J]. **Endocrinology**, 2021, 162(8): bqab043.

[本文编辑 余方 刘丽娜]