

新生儿常见耳聋基因突变热点及对听力的影响

李为,赵毅,葛玥铭,付洪涛,王进东,张晓龙,董洁,程钰翔

唐山市妇幼保健院 耳鼻喉科,河北 唐山 063000

摘要:目的 探讨唐山市新生儿携带的常见耳聋基因突变热点及其对听力的影响,为耳聋基因咨询及听力障碍的干预提供依据。方法 回顾性分析在唐山市妇幼保健院分娩并行听力与耳聋基因联合筛查的新生儿共 5 298 例,听力筛查包括耳声发射和自动听性脑干反应;采用博奥晶典生物芯片检测 4 个常见耳聋突变基因的 15 个位点,包括 *GJB2* 基因(c.35delG, c.176_191del16, c.235delC, c.299_300delA, c.109G>A)、*GJB3* 基因(c.538 C>T)、*SLC26A4* 基因(IVS7-2A>G, c.2168A>G, c.1975 G>C, c.2027 T>A, c.1226G>A, IVS15+5 G>A, c.1174A>T, c.1229C>T)、*12srRNA* 基因(m.1555A>G)。结果 耳聋基因突变携带率 4.41%(234/5 298),为携带耳聋基因突变组;未携带耳聋基因突变的样本中随机选择 2 404 例,为非携带耳聋基因突变组(对照组)。携带耳聋基因突变组中 *GJB2*、*SLC26A4*、*GJB3*、*mtDNA12SrRNA*、双基因杂合突变及单基因杂合突变携带率分别为 2.49%(132/5 298)、1.34%(71/5 298)、0.28%(15/5 298)、0.19%(10/5 298)、0.09%(5/5 298)及 0.02%(1/5 298)。携带耳聋基因突变组听力初筛 234 例,通过率 91.88%(215/234),未通过率 8.12%(19/234),复筛 153 例,确诊率 1.96%(3/153)。非携带组 2 404 例,初筛通过率 93.97%(2 259/2 404),未通过率 6.03%(145/2 404),复筛 105 例,确诊率 0.08%(2/2 364)。两组通过率、双耳未通过率及确诊率差异有统计学意义($P=0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$)。结论 唐山市新生儿携带常见耳聋基因突变有一定的地域性,携带耳聋基因是听力障碍的高危因素,听力与耳聋基因联合筛查有利于听力障碍的检出。

关键词:听力与耳聋基因联合筛查; *GJB2*; *SLC26A4*; *mtDNA12SrRNA*; *GJB3*

中图分类号:R764.43

文献标志码:A

文章编号:1673-3770(2024)01-0001-08

引用格式:李为,赵毅,葛玥铭,等. 新生儿常见耳聋基因突变热点及对听力的影响[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报,2024, 38(1): 1-8. LI Wei, ZHAO Yi, GE Yueming, et al. Hotspots of deafness gene mutation and its effect on hearing in newborns[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(1):1-8.

Hotspots of deafness gene mutation and its effect on hearing in newborns

LI Wei, ZHAO Yi, GE Yueming, FU Hongtao, WANG Jindong, ZHANG Xiaolong, DONG Jie, CHENG Yuxiang

Department of Otolaryngology, Tangshan Maternal and child Health Care Hospital, Tangshan 063000, Hebei, China

Abstract: Objective To explore the hotspots of deafness gene mutation and its effect on hearing in newborns in Tangshan city.

Methods The data of 5 298 newborns born in Tangshan maternal and child health care hospital were analyzed retrospectively and hearing and deafness genes were screened. Hearing was screened by otoacoustic emission and auditory brainstem response, and the genetic basis of newborn deafness covering 15 variants in 4 genes was screened by the gene chip. Genes included *GJB2* (c.35delG, c.176_191del16, c.235delC, c.299_300delA, c.109G>A), *GJB3* (c.GJB3538 C>T), *SLC26A4* (IVS7-2A>G, c.2168A>G, c.1975 G>C, c.2027 T>A, c.1226G>A, IVS15+5 G>A, c.1174A>T, c.1229C>T), and *12srRNA* (m.1555A>G). **Results** In total, 234 patients with deafness genes were identified as the deafness gene carrier group. A total of 2 404 patients were randomly selected from 5064 without deafness genes as the non-deafness gene carrier group to analyze the mutation hotspots of the deafness genes and their effects on hearing status. The prevalence of deafness genes was 4.41%(234/5 298). The positive rates of *GJB2*, *SLC26A4*, *GJB3*, *mtDNA12SrRNA*, double gene mutation, and single gene mutation were 2.49%(132/5 298), 1.34%(71/5 298), 0.28%(15/5 298), 0.19%(10/5 298), 0.09%(5/5 298), and 0.02%(1/5 298), which differed from previous reports. In primary hearing screening, the for deafness gene carrying group had a pass rate of 91.88%(215/234), a failure rate of 8.12%(19/234), and a diagnosis rate of 1.96%(3/153). In the non-carrier group, the pass rate 93.97%(2 259/2 404), the failure rate was 6.03%(145/2 404), and the diagnosis rate was 0.08%(2/2 364). The pass rate for bilateral ear, failure rate for bilateral ear, and diagnosis rate were different ($P=0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$, respectively). **Conclusion** The common gene mutation for deafness in newborns in Tangshan City has a certain regional character, and carrying deafness genes is a high-risk factor of hearing impairment.

收稿日期:2022-12-16

基金课题:2018 年度河北省医学科学研究重点课题计划(20181356)

通信作者:程钰翔。E-mail:chengyuxiang199968@sina.com

The combined screening of hearing and hearing loss genes is beneficial for detecting hearing impairment.

Key words: Joint screening of hearing and deafness genes; *GJB2*; *SLC26A4*; *mtDNA12SrRNA*; *GJB3*

据 2005 年 WHO 估计全球耳聋残疾例达 2.7 亿,占世界总人口 4.6%,已成为世界性的公共卫生问题^[1],我国每年新增 6~8 万例耳聋患儿^[2],其中超过 60%的新生儿耳聋是遗传因素导致^[3]。婴幼儿时期是语言、智力发育的黄金期,耳聋会严重影响患者的认知能力和交流能力,有较大的身心危害。在我国,每个聋儿一生需 30~50 万元用于特殊教育和各项生活救助,但如果早期发现听力障碍,并予以治疗干预,所需费用明显低于发病后再救治的费用^[4-5]。张娇等^[6]研究认为,听力与耳聋基因联合筛查较单纯的听力筛查具有显著优势,尤其是在发现新生儿线粒体药物敏感基因突变方面,因此我国率先提出听力与耳聋基因联合筛查以实现听力障碍的早发现、早诊断、早治疗。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2020 年 7 月至 2021 年 9 月在我院分娩的新生儿作为研究对象。纳入及排除标准:①新生儿出生后 48 h;②新生儿家长签订听力筛查与耳聋基因联合筛查的知情同意书;③入组新生儿均行听力初筛与耳聋基因联合筛查;④入组新生儿家长表示配合后续的听力随访;⑤携带耳聋基因突变组入组对象为完成听力初筛、复筛、诊断的新生儿,非携带耳聋基因突变组入组对象为初筛通过的新生儿及初筛未通过且完成了复筛及诊断的新生儿。排除标准:①新生儿有头颅外伤;②新生儿有严重先天性出生缺陷;③新生儿有中耳炎等炎症性疾病;④携带耳聋基因突变组中未完成复筛和(或)诊断的新生儿、非携带耳聋基因突变组中初筛未通过且未完成复筛和(或)诊断的新生儿。

1.2 方法

所有入组新生儿均在出生后 48 h 取足跟血,芯片筛查耳聋 4 个基因(15 个位点);所有新生儿均在出生 48 h 进行耳声发射(transient otoacoustic emission, TEOAE)筛查,早产儿听力筛查均在纠正胎龄 40 周进行^[7],根据耳聋基因筛查结果确定为携带耳聋基因突变组和非携带耳聋基因突变组,统计耳聋基因突变携带率等数据及听力初筛结果;所有携带耳聋基因突变组中的新生儿、非携带耳聋基因突变组中初筛未通过的新生儿,于出生后 42 d 进行耳声发射 TEOAE 和自动听性脑干反应(automatic auditory brainstem response, AABR)联合复筛,复筛未通过者于出生后 3 个月进行听力诊断,统计两组中

完成复筛及听力诊断的新生儿的检查结果;同时关注患儿的家族史,并根据知情同意原则建议患儿亲属进行相关耳聋基因检测。

1.2.1 耳聋基因检测

新生儿出生 48 h 后,采足跟血 3 滴分别涂于特制的干血片上,血斑直径 8 mm 一枚用于检测、两枚作为留样以备验证或者复查。对血斑中的 DNA 进行提取,打孔器截取血斑,置于离心管中,加入蒸馏水,充分振摇,试管放 15 min,离心去除上清液,向下层沉积物中加入 Chelex 提取剂,充分振摇,56 °C 水浴孵育 30 min,加热至沸腾,保持 8 min,冷却后离心,于 4 °C 暂存、-20 °C 长期保存待测。以博奥晶典生物芯片提供的 *GJB2*、*SLC26A4*、*mtDNA12SrRNA*、*GJB3* 基因的 15 个位点的耳聋基因突变样本作为阳性对照。

1.2.2 听力筛查及诊断

所有入组新生儿行 TEOAE 筛查时,均处在睡眠状态,室内噪音<40 dB(A);外耳道清洁;采用丹麦耳听美耳声发射测试仪对患儿按照卫生部 2010 年版新生儿疾病筛查技术规范^[8]进行筛查,并记录筛查结果;所有携带耳聋基因突变组中的新生儿、非携带耳聋基因突变组中初筛未通过的新生儿,生后 42 d 用 OAE 与 AABR 联合复筛,复筛未通过者于生后 3 个月进行听力诊断,包括耳声发射 TEOAE 筛查、听性脑干反应(auditory brainstem response, ABR)、中潜伏期诱发电位(40 Hz AERP)、稳态诱发电位(auditory steady state response, ASSR)、声导抗等项检查,确诊为听力障碍的患儿进行相应干预。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件进行分析,计数资料采用确切概率法和 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 携带耳聋基因突变的筛查结果

携带耳聋基因突变组共 234 例,包括 *GJB2* (235delC、176_191del16、299_300delAT)、*GJB3* (538C>T)、*SLC26A4* (2168A>G、IVS 7-2A>G、1174A>T)、线粒体 *DNA12SrRNA* (1494C>T、1555A>G) 等基因突变类型,携带率差异有统计学意义 ($P < 0.001$);*GJB2* 基因突变中 c.235delC、12SrRNA 基因突变中 c.1555A>G 均质突变型、*SLC26A4* 基因突变中 c. IVS 7-2A > G 杂合、*GJB3* 基因突变中 c. GJB3538 C>T 杂合、杂合突变中 c.235delC 杂合最常见(表 1)。

表 1 新生儿与耳聋相关各类基因检测结果

Table 1 Comparison of positive rates of various genes in neonatal hereditary deafness

| 基因类型 | 位点及突变类型 | 人数/例 | 比例/% | |
|---------|-------------------------------------|--|------|------|
| GJB2 | c.235delC 杂合 | 90 | 1.70 | |
| | c.176_191del16 杂合 | 10 | 0.19 | |
| | c.299_300delAT 杂合 | 32 | 0.60 | |
| 12SrRNA | c.1555A>G 异质突变型 | 2 | 0.04 | |
| | c.1555A>G 均质突变型 | 8 | 0.15 | |
| SLC26A4 | c.IVS7-2A>G 杂合 | 49 | 0.92 | |
| | c.2168A>G 杂合 | 12 | 0.23 | |
| | c.1975 G>C 杂合 | 2 | 0.04 | |
| | c.2027T>A 杂合 | 2 | 0.04 | |
| | c.1226G>A 杂合 | 3 | 0.05 | |
| | c.IVS15+5G>A 杂合 | 1 | 0.02 | |
| | c.1174A>T 杂合 | 2 | 0.04 | |
| | GJB3 c.538 C>T 杂合 | 15 | 0.28 | |
| | 双基因 | GJB2 c.235delC/SLC26A4 c.2168delC 杂合 | 2 | 0.04 |
| | | GJB2 c.235delC/SLC26A4 c.IVS7-2 A>G 杂合 | 2 | 0.04 |
| 单基因 | GJB2 c.235delC/GJB3 c.538C>T 杂合 | 1 | 0.02 | |
| | 合计 | 5 | 0.09 | |
| | GJB2 c.235delC 杂合/GJB2 c.109delC 杂合 | 1 | 0.02 | |
| 总计 | | 234 | 4.41 | |

2.2 听力初筛结果对比

携带耳聋基因突变组与非携带耳聋基因突变组双耳未通过率比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$);而左耳未通过率、右耳未通过率、双耳通过率比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 听力初筛结果比较

Table 2 Comparison of preliminary hearing screening results

| 项目 | 耳聋基因突变携带组 (234 例) | 非耳聋基因突变携带组 (2 404 例) | χ^2 | P |
|----------|-------------------|----------------------|----------|-------|
| 双耳未通过率/% | 3.85 | 1.62 | 5.903 | 0.015 |
| 左耳未通过率/% | 3.42 | 2.66 | 0.460 | 0.498 |
| 右耳未通过率/% | 0.86 | 1.66 | 0.891 | 0.345 |
| 双耳通过率/% | 91.88 | 93.97 | 1.595 | 0.207 |

2.3 携带耳聋基因突变的不同突变类型听力检测结果

携带耳聋基因突变组中携带 GJB2 235delC 杂合突变 90 例,复筛 60 例,听力障碍确诊率 1.67% (1/60);携带 GJB2 299_300delAT 杂合突变 32 例,复筛 24 例,听力障碍确诊率 4.17% (1/24);携带线粒体 DNA12SrRNA 基因突变中组中携带 12SrRNA

1555A>G 均质突变型 8 例,复筛 4 例,确诊听力障碍 25% (1/4);余均未确诊为听力障碍。见表 3。

表 3 各种基因位点突变类型对应的听力检查结果

Table 3 Hearing test results corresponding to mutation types of various gene loci

| 基因位点及突变类型 | 阳性例数/例 | 听力初筛未通过率/% | 听力复筛未通过率/% | 听力障碍确诊率/% |
|-------------------------------------|--------|------------|------------|-----------|
| GJB2 c.235delc 杂合 | 90 | 10.00 | 1.67 | 1.67 |
| GJB2 c.176_191del16 杂合 | 10 | 10.00 | 0.00 | — |
| GJB2 c.299_300delAT 杂合 | 31 | 12.5 | 4.17 | 4.17 |
| GJB2 c.299-300delAT 纯合 | 1 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 12SrRNA c.1555A>G 异质突变型 | 2 | 0.00 | 0.00 | — |
| 12SrRNA c.1555A>G 均质突变型 | 8 | 12.50 | 25.00 | 25.00 |
| SLC26A4IVS7-2A>G 杂合 | 49 | 2.04 | 0.00 | — |
| SLC26A42168A>G 杂合 | 12 | 0.00 | 0.00 | — |
| SLC26A41975G>C 杂合 | 2 | 0.00 | 0.00 | — |
| SLC26A42027T>A 杂合 | 2 | 0.00 | 0.00 | — |
| SLC26A41226 G>A 杂合 | 3 | 0.00 | 0.00 | — |
| SLC26A4IVS15+5 G>A | 1 | 0.00 | 0.00 | — |
| SLC26A41174 A>T 杂合 | 2 | 0.00 | 0.00 | — |
| GJB3 c.538C>T 杂合 | 15 | 6.67 | 0.00 | — |
| GJB2 c.235delC 杂合/SLC26A4 2168 杂合 | 2 | 0.00 | 0.00 | — |
| GJB2 c.235 杂合/SLC26A4 IVS7-2 A>G 杂合 | 2 | 50.0 | 0.00 | — |
| GJB2 c.235delC 杂合/GJB3538 C>T 杂合 | 1 | 100.00 | 0.00 | — |
| GJB2 c.235delC 杂合/GJB2 109delC 杂合 | 1 | 0.00 | 0.00 | — |

2.4 听力复筛及确诊结果

携带耳聋基因突变组听力初筛未通过 19 例,初筛未通过率 8.12%;复筛 153 例,复筛未通过 3 例,复筛未通过率 1.96%;进行听力诊断 3 例均听力异常,听力障碍确诊率 1.96% (3/153),其中 1 例 GJB2 c.235delC 杂合,ABR 反应阈左耳 50 dBnHL,右耳 40 dBnHL;1 例 12SrRNA1555A>G 均质突变型 ABR 左耳 60 dBnHL,右耳 20 dBnHL;1 例 GJB2 c.299_300delAT 纯合突变已确诊为双耳重度感音神经性耳聋。非携带耳聋基因突变组听力初筛未通过 6 例,复筛 6 例,其中 2 例复筛未通过,进行听力诊断 2 例均听力异常,听力障碍确诊率 0.08% (2/2 364),其中 1 例 ABR 测试左耳 50 dBnHL,右耳 45 dBnHL,另 1 例 ABR 测试双耳重度感音神经性聋。两组双耳未通过率、听力障碍确诊率、双耳通过率 ($P<0.001$ 、 $P<0.001$ 、 $P=0.001$) 比较,差异有统计学意义;左耳未通过率、右耳未通过率比较,差异无

统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 4 携带耳聋基因突变组与非携带耳聋基因突变组听力复筛及确诊结果对比

Table 4 Comparison of failure rate and diagnosis rates between deafness gene carrying group and non-deafness gene carrying group

| 听力检测结果 | 携带耳聋基因突变组 (153 例) | 非携带耳聋基因突变组 (2 364 例) | χ^2 | P |
|----------|-------------------|----------------------|----------|--------|
| 双耳未通过率/% | 1.31 | 0.08 | 13.537 | <0.001 |
| 左耳未通过率/% | 0.65 | 0.13 | 2.512 | 0.113 |
| 右耳未通过率/% | 0 | 0.04 | — | 0.799 |
| 双耳通过率/% | 98.04 | 99.75 | 11.752 | 0.001 |
| 确诊率/% | 1.96 | 0.08 | 25.514 | <0.001 |

2.5 听力状态与基因突变位点及家族史的关系

统计初筛、复筛、听力诊断、耳聋基因诊断、父母耳聋基因筛查资料全面的 31 例的资料,其中 1 例携

带 *GJB2* 299 纯合突变,听力初筛、复筛均未通过,已确诊为重度感音神经性耳聋,父母均为 *GJB2* 299 杂合突变携带者;1 例与其母均携带 12SrRNA 1555A>G 均质突变,听力初筛、复筛均通过;1 例与其母均携带 12SrRNA 1555A>G 均质突变,听力初筛、复筛左耳均未通过,确诊为左耳中度感音神经性耳聋;1 例携带 *GJB3* 538 杂合突变,听力初筛、复筛均通过,其母亲 *GJB3* 538 纯合突变且听力正常;余 26 例均通过听力初筛及复筛均携带耳聋基因杂合突变,其中 3 例有耳聋家族史,1 例母亲携带 *GJB2* 235 纯合突变为聋哑例、1 例祖父母聋哑例、1 例与父母均携带 *GJB2* 235 杂合突变且其父母为聋哑例。1 例携带 7-2 A>G 杂合突变,爷爷奶奶聋哑,父母未查耳聋基因突变。见表 5。

表 5 听力状态与基因突变位点及家族史的关系

Table 5 Hearing status of neonates carrying the deafness gene mutation and the correlation with whether their parents carry the deafness gene mutation and family history of deafness

| 项目 | 例数 | 耳聋突变基因筛查结果 | 听力初筛 | 听力复筛 | 耳聋基因突变诊断 | 父亲耳聋突变基因筛查结果 | 目前耳聋突变基因筛查结果 | 耳聋家族史 |
|---------------------------------|----|------------|------|------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------|
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 未查 | 未查 | 祖父母聋哑 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | <i>SLC26A4</i> c.Ivs 7-2 A>G 杂合 | 未查 | 未查 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | <i>SLC26A4</i> 1983C>A | <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 5 | 阳性 | 通过 | 通过 | <i>SLC26A4</i> c.Ivs 7-2 A>G 杂合 | 正常 | <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | <i>SLC26A4</i> c.Ivs 7-2 A>G 杂合 | <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | 正常 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 1 | 阳性 | 未通过 | 通过 | <i>SLC26A4</i> c.Ivs 7-2 A>G 杂合 | 正常 | <i>SLC26A4</i> c.IVS 7-2 A>G 杂合 | 无 |
| <i>SLC26A4</i> 1226 杂合 | 1 | 阳性 | 未通过 | 通过 | 未查 | 正常 | <i>SLC26A4</i> 1226 杂合 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.299delC 纯合 | 1 | 阳性 | 未通过 | 未通过 | 未查 | <i>GJB2</i> c.299 杂合 | <i>GJB2</i> c.299delC 杂合 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.299delC 杂合 | 2 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | <i>GJB2</i> c.299delC 杂合 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.176 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | 正常 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | <i>GJB2</i> c.235 杂合 | <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 父母聋哑 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | <i>GJB2</i> c.235 杂合 | 未查 | 未查 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 5 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 无 |

续表

| 项目 | 例数 | 耳聋突变 基因筛查 结果 | 听力初筛 | 听力复筛 | 耳聋基因 突变诊断 | 父亲耳聋 突变基因 筛查结果 | 目前耳聋突变 基因筛查 结果 | 耳聋 家族史 |
|---|----|--------------------|-----------|-----------|--------------|----------------------|------------------------------------|-----------|
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 未查 | 未查 | 正常 | <i>GJB2</i> c.235delC 纯合 | 母亲 聋哑 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | <i>GJB2</i> c.235 杂合 | 正常 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 左耳 未通过 | 通过 | 未查 | 正常 | <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 1 | 阳性 | 左耳 未通过 | 通过 | 未查 | <i>GJB2</i> c.109 杂合 | <i>GJB2</i> c.235delC 杂合 | 无 |
| 12 <i>SrRNA</i> 1555 A>G 均质突变 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | 12 <i>SrRNA</i> c.1555A>G 均质突变型 | 无 |
| 12 <i>SrRNA</i> c.1555 A>G 均质突变 | 1 | 阳性 | 左耳 未通过 | 左耳 未通过 | 未查 | 正常 | 12 <i>SrRNA</i> c.1555A>G 均质突变型 | 无 |
| <i>GJB3</i> c.538 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 正常 | <i>GJB3</i> c.538 杂合 | 无 |
| <i>GJB2</i> c.235delC 杂合/ <i>GJB2</i> c.109delC 杂合 | 1 | 阳性 | 通过 | 通过 | 未查 | 未查 | 未查 | 无 |

3 讨论

我国常见的耳聋相关基因突变位点主要有 *GJB2* (235delC、176_191del16、299_300delAT)、*GJB3* (538C>T)、*SLC26A4* (2168A>G、IVS7-2A>G、1174 A>T)、线粒体 *DNA12SrRNA* (1494C>T、1555A>G)^[9]。现阶段对这 4 个基因研究较多,新生儿听力及基因联合筛查可有效提高新生儿听力缺陷的早期检出率^[10-13]。王秋菊等^[14-15]2007 年首先提出“新生儿听力及基因联合筛查”的理念。2019 年 6 月美国国家协调中心区域遗传学网络的新生儿听力筛查工作组开始提出联合筛查的倡议^[16]。本研究对新生儿采用 OAE 与耳聋基因联合筛查,OAE 的产生和记录依赖于耳蜗外毛细胞和中耳传导结构的完整^[17],受环境影响较大,且对迟发性、有药物性致聋风险患儿的检出率较低;而耳聋基因筛查能检测先天性、药物性聋及大前庭导水管综合征等耳聋基因位点^[18],从而对耳聋的诊治起到预警作用,因此联合筛查可以对耳聋更早的发现。

3.1 新生儿携带常见耳聋基因突变基本情况

2012 年北京市免费筛查 1 033 401 例新生儿血样的耳聋基因,发现总突变率 4.479% (4 629/1 033 401)^[19],本研究中耳聋基因总突变率 4.41%。李茜等^[20]报道耳聋基因突变率携带率 5.59% 与此有较大差异,可能因地域差异造成。李倩等^[1]研究发现 *GJB2*、*SLC26A4*、线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因突变在基因异常例群的构成比依次为 53.41%、

39.42%、7.17%,*GJB2* 是我国第一常见的耳聋致病基因。本研究这三种突变基因携带率由高到低为 56.41% (132/234)、30.34% (71/234)、4.27% (10/234),均是 *GJB2* 突变携带率最高。本研究中 *GJB2* 突变的携带率为 2.49% (132/5298),从高到低依次为 *GJB2* c.235delC 杂合携带率 1.70% (90/5289)、*GJB2* c.176_191del16 杂合携带率 0.19% (10/5289)、*GJB2* c.299_300delAT 杂合携带率 (32/5289)。因此,*GJB2* c.235delc 杂合突变携带率在该基因突变中突变率最高与李茜^[20]、王川等^[21]报道相符;Vona 等^[22]研究认为,*SLC26A4* 基因是我国第二常见的耳聋致病基因,其最常见突变为 *ivs7-2A>G*,本研究中共 71 例携带 *SLC26A4* 基因突变,携带率为 30.34% (71/234),其中 49 例携带 *ivs7-2A>G* 突变,携带率为 69.01% (49/71)。有研究表明,线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因是我国药物性耳聋的主要致病基因,其最常见的突变为 12*SrRNA* 1555A>G,检出率为 6.6%,本研究中线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因均为 12*SrRNA* 1555A>G 与此相符,检出率为 4.27% (10/234)略有差异。有关 *GJB3* 基因的报道较少,*GJB3* 基因突变在极重度耳聋患者中阳性检出率较高,占比为 7.5%^[23],本研究中共检出 15 例,检出率为 6.41% (15/234),但未检出耳聋患者,可能因为 *GJB3* 突变是迟发性耳聋,新生儿较少发病。与入组例数少,失访例数多有关。

3.2 突变位点影响听力的特点及遗传咨询

国内多项耳聋分子流行病学研究^[24-25]显示,

GJB2、SLC26A4、GJB3 及 12srRNA 是遗传性耳聋最常见的四个致病基因, 双耳感音神经性聋主要通过常染色体隐性遗传, 其中由 GJB2 基因和 GJB3 基因导致的耳聋占据 43% 以上, 而导致重度以及极重度语前聋的发生率在 40% 以上^[26]。本研究中确诊的 3 例中携带耳聋基因突变组 GJB2 235delc 杂合突变确诊 1 例, 听力筛查均未通过, AABR 左耳 50 右耳 40, 耳颞部核磁共振检查未见异常, 确诊为左侧为中度感音神经性耳聋, 右侧为轻度感音神经性耳聋。GJB2 299_300delAT 纯合突变确诊 1 例, 听力筛查未通过, 已诊断极重度聋已配助听器。GJB2 235delC 杂合 / GJB2 109delC 杂合 1 例, 听力筛查通过, 究其原因 GJB2 109delC 导致听力障碍的作用极小, 虽然 GJB2 235delC 导致听力障碍的影响极强^[27], 但是因为 GJB2 235delC 造成的耳聋为常染色体隐性遗传, 二者的杂合不能造成听力障碍。本研究中携带 GJB3 538 C>T 杂合突变共 15 例, 无纯合突变, 无确诊病例, 其中 1 例母亲携带 GJB3 538 C>T 纯合突变但听力正常, 有研究表明 GJB3 基因以常染色体隐性遗传为主, 临床表现为后天高频渐进性聋^[15], 告知其定期进行听力测试, 发生听力下降时应及时就医^[28]。本研究中携带 SLC26A4 基因突变的 71 例中, 无例确诊为听力障碍, 考虑与该基因突变为常染色体隐性遗传且复诊率低 63.38% (45/71) 有关, SLC26A4 基因也叫一巴掌致聋基因, 携带此基因的新生儿要避免头部受到撞击, 密切观察听力状态, 必要时定期检测听力; 12SrRNA 为药物性耳聋基因, 属母系遗传, 本研究发现 12SrRNA 1555A>G 杂合突变 10 例, 1 例确诊为左耳中度感音神经性耳聋, 考虑不排除左侧中耳病变, 待完善相关检查, 建议其母亲及其家族成员进行相应检测与预防^[29], 以检出 12SrRNA 1555A>G 纯合突变成员以达到避免使用耳毒性药物的目的, 避免耳聋的发生。本研究中新生儿携带耳聋基因除外 1 例 GJB2 299 纯合突变外均为杂合突变, 且均大多数情况下表现为常染色体隐性遗传, 因此建议其母亲生二胎或其将来婚配时注意进行耳聋基因遗传咨询, 避免聋儿的出生。

3.3 听力检查结果比较

本研究对耳聋基因突变携带组与非耳聋基因突变携带组双耳、左耳、右耳初筛未通过率、双耳通过率对比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 左耳未通过率、右耳未通过率、双耳通过率, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 复筛双耳通过率、双耳未通过率及确诊率 ($P = 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$) 均有统计学差异,

因此携带耳聋基因突变是引起听力障碍的高危因素; 非携带耳聋基因组中确诊 2 例, 通过详细病史询问未发现导致耳聋发生的病因。初筛和复筛双耳通过率对比有较大差异, 原因可能与复诊率低等因素有关。

4 总 结

本研究中携带耳聋基因突变组中复筛率仅为 62.96% (153/243), 失访率高达 37.04% (90/243), 其中包括 1 例 GJB2 c.235delc 杂合新生儿左耳初筛未通过、2 例 GJB2 c.235delc 杂合新生儿双耳初筛未通过、1 例 GJB2 235 杂合 GJB3 538 杂合新生儿双耳初筛未通过、1 例 GJB2 c.299_300delAT 杂合新生儿右耳听力初筛未通过及 1 例 GJB2 235 杂合 SLC26A4 c.Ivs7-2 A>G 杂合新生儿左耳初筛未通过, 虽多次电话通知均拒绝复筛, 电话随访其中 3 例发音不清楚, 不排除听力障碍, 接下来重点关注。复筛率低的原因与患儿复诊不便、医患沟通不到位、医患联系中断、家长不重视、复筛资料登录录入疏漏等因素有关^[30]。

本研究中未涉及到入组新生儿的性别、生产方式、遗传病史及体质量等个例信息, 仅从耳聋基因突变携带状态及听力检查角度论述了携带耳聋基因突变对新生儿听力状态的影响, 具有局限性及偏倚。这与新生儿信息录入系统不完善有关, 今后加强网络平台建设以获得全面、真实的信息。

基因芯片的检测位点有限, 对于罕见基因罕见位点无法有效的进行检测^[31]。根据耳聋基因数据库 (<http://hereditary hearing loss.org>) 检索得知迄今为止已定位了 200 余个 NSHL 相关位点, 截至到 2021 年 2 月已经鉴定发现了非综合征性耳聋基因总素为 133 个, 但仍有大量的遗传性耳聋致病基因尚不明确, 导致部分患者的遗传咨询面临困难^[28]。这或许可以解释耳聋基因突变筛查隐性的新生儿发生重度感音神经性耳聋。

综上所述, 唐山市新生儿耳聋基因突变携带状况、听力筛查结果及确诊率与李倩、王秋菊等^[1]在聋病遗传与环境相关高危因素的流行病学研究中的大数据比较有一定差异, 排除位点选择不同的干扰, 可能因地域差异造成, 也可能与没有完善阳性患儿后续基因测序等工作以及样本量少有关。今后我们在工作中加强对阳性患儿家长的宣教使其配合后续基因测序等工作并继续积累样本量以便得到更准确的结论。耳聋基因筛查对听力障碍的诊断有预警作用; 听力与耳聋基因联合筛查可以对耳聋早诊断、早干预。

参考文献:

- [1] 李倩. 聋病遗传与环境相关高危因素的流行病学研究 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2014
- [2] 贺娟, 肖伟利, 李雪芹, 等. 遗传性耳聋基因的研究进展[J]. 内蒙古医学杂志, 2017, 49(10): 1175-1177. doi:10.16096/j.cnki.nmgjxzz.2017.49.10.009
HE Juan, XIAO Weili, LI Xueqin, et al. The clinical application of hereditary deafness genes[J]. *Inner Mongolia Medical Journal*, 2017, 49(10): 1175-1177. doi:10.16096/j.cnki.nmgjxzz.2017.49.10.009
- [3] 《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. doi:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2019.03.001
- [4] 相丽丽. 新生儿听力和耳聋基因联合筛查及随访 [D]. 济南: 山东大学, 2014
- [5] 孟西娜, 张婷, 臧嘉, 等. 无锡地区新生儿耳聋基因的 MALDI-TOF-MS 筛查分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(2): 102-105. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2015.02.009
MENG Xina, ZHANG Ting, ZANG Jia, et al. MALDI-TOF-MS based diagnosis and analysis of newborn hereditary deafness screening in Wuxi, Jiangsu Province [J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2015, 38(2): 102-105. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2015.02.009
- [6] 张娇, 王大勇, 韩冰, 等. 新生儿听力与基因联合筛查的系统评价和 Meta 分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2020, 18(2): 216-224. doi:10.3969/j.issn.1672-2922.2020.02.001
ZHANG Jiao, WANG Dayong, HAN Bing, et al. Newborn concurrent hearing and genetic screening: a systematic review and meta-analysis [J]. *Chinese Journal of Otolology*, 2020, 18(2): 216-224. doi:10.3969/j.issn.1672-2922.2020.02.001
- [7] 陈惠球, 陈敬国, 黄超. 早产儿 AABR 听力筛查初筛时间探讨 [J]. 实用临床护理学电子杂志, 2017, 2(11): 124-125. doi:10.3969/j.issn.2096-2479.2017.11.097
CHEN Huiqiu, CHEN Jingguo, HUANG Chao. The effect of different initial screening times on the rate of spontaneous auditory brainstem response in preterm infants [J]. *Journal of Clinic Nursing's Practicality*, 2017, 2(11): 124-125. doi:10.3969/j.issn.2096-2479.2017.11.097
- [8] 黄丽辉. 解读 2010 年版新生儿听力筛查技术规范 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2011, 19(6): 495-496
- [9] 孙莉莉, 张莉, 张东红. 小儿非综合征型耳聋 59 例基因突变筛查分析 [J]. 中国实用儿科杂志, 2014, 29(2): 133-136
SUN Lili, ZHANG Li, ZHANG Donghong. Screening and analysis of hot-spot deafness gene mutations among children with non-syndromic hearing loss in 59 cases [J]. *Chinese Journal of Practical Pediatrics*, 2014, 29(2): 133-136
- [10] Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness [J]. *Nature*, 1997, 387(6628): 80-83. doi:10.1038/387080a0
- [11] 龙彦, 马寅婷, 孙媛媛, 等. 微阵列芯片法检测北京地区孕期女性常见耳聋基因突变分布及随访结果分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7): 552-556. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.07.011
LONG Yan, MA Yinting, SUN Yuanyuan, et al. The prevalence of common genetic deafness related mutation detected by microarray and follow-up in pregnant women in Beijing [J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2019, 42(7): 552-556. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.07.011
- [12] Shang H, Yan D, Tayebi N, et al. Targeted next-generation sequencing of a deafness gene panel (MiamiOtoGenes) analysis in families unsuitable for linkage analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2018; 3103986. doi:10.1155/2018/3103986
- [13] 王秋菊. 新生儿听力及基因联合筛查: 中国模式与未来发展 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 28(22): 1733-1736. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.22.002
WANG Qiuju. Newborn hearing combined gene screening—China model and future development [J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2014, 28(22): 1733-1736. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.22.002
- [14] 王秋菊, 赵亚丽, 兰兰, 等. 新生儿聋病基因筛查实施方案与策略研究 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 42(11): 809-813. doi:10.3760/j.issn:1673-0860.2007.11.003
WANG Qiuju, ZHAO Yali, LAN Lan, et al. Studies of the strategy for newborn gene screening [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2007, 42(11): 809-813. doi:10.3760/j.issn:1673-0860.2007.11.003
- [15] 王秋菊. 新生儿聋病易感基因筛查的意义与策略 [J]. 中国医学文摘-耳鼻咽喉科学分册, 2007, 22(1): 21-22
WANG Qiuju. Significance and strategy of screening susceptibility genes for neonatal deafness [J]. *Chinese Medical Digest (Otorhinolaryngology)*, 2007, 22(1): 21-22
- [16] Shearer AE, Shen J, Amr S, et al. A proposal for comprehensive newborn hearing screening to improve identification of deaf and hard-of-hearing children [J]. *Genet Med*, 2019, 21(11): 2614-2630. doi:10.1038/s41436-019-0563-5
- [17] 李珊珊, 宋岩, 马秀岚. 新生儿重症监护病房高危新生儿听力筛查及诊断的随访研究 [J]. 中国医科大学

- 学报, 2020, 49(12): 1140-1142. doi:10.12007/j.issn.0258-4646.2020.12.018
- LI Shanshan, SONG Yan, MA Xiulan. A follow-up study on hearing screening and diagnosis for high-risk newborns in a neonatal intensive care center[J]. Journal of China Medical University, 2020, 49(12): 1140-1142. doi:10.12007/j.issn.0258-4646.2020.12.018
- [18] 孙秀艳, 尚丽新, 李冰, 等. 新生儿听力筛查联合耳聋基因检测临床价值研究[J]. 人民军医, 2020, 63(2): 159-161, 168. doi:10.3969/j.issn.1006-7299.2019.01.004
- SUN Xiuyan, SHANG Lixin, LI Bing, et al. Clinical value of newborn hearing screening combined with deafness gene detection [J]. People's Military Surgeon, 2020, 63(2): 159-161, 168. doi:10.3969/j.issn.1006-7299.2019.01.004
- [19] 韩德民. 新生儿听力及耳聋基因联合筛查[J]. 中国医学文摘耳鼻喉科学, 2012, 27(6): 290-292. doi: 10.3760/j.issn: 1673-0860.2007.11.003
- HAN Demin. Joint screening of newborn hearing and deafness genes[J]. Chinese Medical Digest(Otorhinolaryngology), 2012, 27(6): 290-292. doi: 10.3760/j.issn: 1673-0860.2007.11.003
- [20] 李茜, 王诺扬, 童鸣, 等. 10 313 例新生儿听力与耳聋易感基因联合筛查结果分析[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(6): 475-480. doi: 10.13602/j.cnki.jcls.2022.06.15
- LI Qian, WANG Nuoyang, TONG Ming, et al. Analysis of combined screening of hearing and deafness-related genes in 10 313 newborns[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2022, 40(6): 475-480. doi: 10.13602/j.cnki.jcls.2022.06.15
- [21] 王川, 尚煜. 9 755 例新生儿听力与耳聋基因联合筛查结果分析[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2019, 27(1): 16-19. doi: 10.3969/j.issn.1006-7299.2019.01.004
- WANG Chuan, SHANG Yu. Retrospective analysis of combined hearing and deafness gene screening in 9 755 newborns [J]. Journal of Audiology and Speech Pathology, 2019, 27(1): 16-19. doi: 10.3969/j.issn.1006-7299.2019.01.004
- [22] Vona B, Nanda I, Hofrichter MAH, et al. Non-syndromic hearing loss gene identification: a brief history and glimpse into the future[J]. Mol Cell Probes, 2015, 29(5): 260-270. doi:10.1016/j.mcp.2015.03.008
- [23] 王团, 蔡爱军, 张运波, 等. 儿童双耳感音神经性聋临床特点及 GJB2 与 GJB3 基因突变分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2022, 28(4): 52-56. doi: 10.11798/j.issn.1007-1520.202221237
- WANG Tuan, CAI Aijun, ZHANG Yunbo, et al. Clinical features and mutation analysis of GJB2 and GJB3 genes in children with binaural sensorineural hearing loss [J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2022, 28(4): 52-56. doi: 10.11798/j.issn.1007-1520.202221237
- [24] Wang QJ, Xiang JL, Sun J, et al. Nationwide population genetic screening improves outcomes of newborn screening for hearing loss in China[J]. Genet Med, 2019, 21(10): 2231-2238. doi:10.1038/s41436-019-0481-6
- [25] 王欣, 孙云, 王彦云, 等. 芯片捕获二代测序技术在新生儿疾病筛查中的应用[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(3): 173-178. doi:10.13602/j.cnki.jcls.2022.03.03
- WANG Xin, SUN Yun, WANG Yanyan, et al. Clinical application of newborn screening based on chip capture second-generation sequencing technology [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2022, 40(3): 173-178. doi:10.13602/j.cnki.jcls.2022.03.03
- [26] 唐俊湘, 孙玉秀, 王朝红, 等. 2 363 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, 78. doi: 10.3969/j.issn.1002-266X.2015.32.032
- TANG Junxiang, SUN Yuxiu, WANG Chaohong, et al. Analysis of screening results of four common genetic deafness gene mutations in 2 363 newborns [J]. Shandong Medical Journal, 2015, 55(32): 76-77. doi: 10.3969/j.issn.1002-266X.2015.32.032
- [27] Lin YF, Lin HC, Tsai CL, et al. GJB2 mutation spectrum in the Taiwanese population and genotype-phenotype comparisons in patients with hearing loss carrying GJB2 c.109G>A and c.235delC mutations[J]. Hear Res, 2022, 413: 108135. doi:10.1016/j.heares.2020.108135
- [28] 胡华梅, 胡华, 董艳玲, 等. 新生儿中常见的 9 个耳聋基因突变位点筛查分析[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(2): 96-98. doi: 10.3969/j.issn.1671-2420.2006.05.014
- HU Huamei, HU Hua, DONG Yanling, et al. Mutation analysis of 9 mutation spots related to neonatal deafness by DNA microarray [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2012, 34(2): 96-98. doi: 10.3969/j.issn.1671-2420.2006.05.014
- [29] 李为, 赵毅, 葛玥铭, 等. 双卵双胞胎和单卵双胞胎新生儿听力筛查结果分析[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2023, 37(2): 1-6. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2022.065
- LI Wei, ZHAO Yi, GE Yueming, et al. Analysis of hearing screening results of dizygotic and monozygotic twins[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2023, 37(2): 1-6. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2022.065
- [30] 郭云天晓. 非综合征遗传性耳聋家系的分子遗传学致病因素研究及遗传咨询[D]. 大连: 大连医科大学, 2021
- [31] Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H, et al. Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in middle eastern families[J]. Genome Biology, 2011, 12(9): 1-11. doi: 10.1186/gb-2011-12-9-r89