

论著 · 临床研究

新生儿耳聋基因联合听力筛查结果分析*

李 卉¹, 高唐鑫子¹, 吴 丹², 江雨霏¹, 宋婕萍¹, 王维鹏³, 戴 翔^{4△}

(湖北省妇幼保健院: 1. 检验科; 2. 耳鼻喉科; 3. 保健部, 湖北武汉 430070;

4. 华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院优生遗传实验室, 湖北武汉 430016)

摘要:目的 调查耳聋基因热点突变位点在武汉地区新生儿中的携带率, 探讨新生儿耳聋基因筛查联合听力筛查的临床应用价值和意义。方法 回顾性分析 2016 年 1 月至 2017 年 12 月在武汉市出生的 11 231 例足月新生儿听力筛查与耳聋基因筛查结果。新生儿出生后 3 d 采集足跟血, 采用实时荧光定量 PCR 法对常见的 3 个基因 4 个位点进行筛查, 包括 GJB2 c. 235delC、SLC26A4 c. 919-2A>G、12S rRNA m. 1555A>G 及 m. 1494C>T, 同时利用耳声发射法于生后 48~72 h 进行听力初筛, 初筛未通过者在出生后 42 d 行听力复筛, 复筛未通过者于出生后 6 个月进行听力评估与诊断。基因突变阳性或听力确诊未通过的病例采用一代测序法进行验证。结果 11 231 例新生儿中, 59 例未通过 6 月龄听力检测。耳聋基因检测检出 346 例(占 3.08%)携带耳聋基因突变, 包括 GJB2 c. 235delC 突变 199 例, c. 176del16 突变 2 例, c. 427C>T 杂合突变 1 例; c. 235delC/c. 257C>G 复杂杂合突变 1 例, c. 235delC/c. 299delAT 复杂杂合突变 2 例, c. 235delC/c. 427C>T 复杂杂合突变 1 例; SLC26A4 c. 919-2A>G 突变 113 例; 线粒体 12S rRNA m. 1555A>G 突变 20 例及 m. 1494C>T 突变 1 例。GJB2 基因突变合并 SLC26A4 基因突变 2 例; GJB2 基因突变合并线粒体基因突变 4 例。结论 部分类型的耳聋基因突变携带患儿出生时不表现出听力异常, 单纯应用常规听力筛查会漏检部分耳聋高危患儿。新生儿常规听力筛查联合耳聋基因筛查, 有助于提高耳聋患儿的检出率, 有利于耳聋患儿的早期发现及早期干预。

关键词: 新生儿; 耳聋基因; 听力筛查; 联合筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.18.012

中图法分类号: R446.9; R764.5

文章编号: 1673-4130(2019)18-2223-04

文献标识码: A

Concurrent genetic and universal screening for hearing impairment*

LI Hui¹, GAO Tangxinzi¹, WU Dan², JIANG Yufei¹, SONG Jieping¹, WANG Weipeng³, DAI Xiang^{4△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Otorhinolaryngology; 3. Department of Health Care, Maternal and Child Health Hospital of Hubei Province, Wuhan, Hubei 430070, China;

4. Eugenic Genetics Laboratory, Wuhan Children's Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the prevalence and distribution of deafness-related gene mutation in newborns and to assess the clinical value of concurrent genetic and universal newborn hearing screening (UNHS). **Methods** A retrospectively analysis were performed in a total of 11 231 newborns in 2016 and 2017. All newborns accepted simultaneous hearing screening and genetic screening targeting 4 deafness-associated mutations commonly found in the Chinese population, including c. 235delC of the GJB2 gene, c. 919-2A>G of the SLC26A4 gene, and m. 1555A>G and m. 1494C>T of the mitochondrial 12S rRNA gene. Cases with gene mutations or failed the hearing tests were verified by Sanger sequencing. **Results** Of the 11 231 newborns, 59 cases failed to pass the hearing tests. Neonatal genetic screening identified 346 (3.08%) babies with at least 1 mutated allele for deafness, including GJB2 c. 235delC (199 cases), c. 176del16 (2 cases), c. 427C>T (1 case), c. 235delC/c. 257C>G (1 case), c. 235delC/c. 299delAT (2 cases) and c. 235delC/c. 427C>T (1 case), SLC26A4 c. 919-2A>G (113 cases), m. 1555A>G (20 cases) and m. 1494C>T (1 case) and two cases of GJB2 gene mutation combined with SLC26A4 gene mutation, 4 cases of GJB2 gene mutation combined with mitochondrial gene mutation. **Conclusion** We confirmed the utility of neonatal genetic screening for common deafness-associated mutations in identifying infants with late-onset or progressive hearing impairment which

* 基金项目: 湖北省自然科学基金青年项目(2017CFB271); 湖北省妇幼保健院科研课题(220936022)。

作者简介: 李卉, 女, 主治医师, 主要从事遗传病筛查与诊断的研究。 △ 通信作者, E-mail: congque@163.com。

本文引用格式: 李卉, 高唐鑫子, 吴丹, 等. 新生儿耳聋基因联合听力筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(18): 2223-2226.

undetectable by UNHS,thus compensate for the inherent limitation of the UNHS.

Key words:newborns; deafness gene; neonatal hearing screening; concurrent screening

先天性耳聋是常见的出生缺陷,是导致儿童残疾的重要原因之一。我国新生儿耳聋的发生率约为 1‰^[1]。常规的新生儿听力筛查通常采用耳声发射(OAE)等电生理学技术筛查新生儿听力损失情况,该方法存在一定的局限性,不仅受环境因素影响较大,且对迟发型、有药物性致聋风险的患儿检出率较低,这部分漏检患儿可能错过 1~3 岁儿童语言发育的关键时期而因聋致哑。导致耳聋的危险因素众多,其中约 65%的患者与遗传因素有关^[2],70%的遗传性耳聋属于非综合征型,其根本原因是基因突变,可由单一基因突变或不同基因复合突变引起。GJB2、SLC26A4、线粒体 12S rRNA 基因突变是我国人群最常见的耳聋致病因素。在成熟的新生儿听力筛查的基础上,融入耳聋基因热点突变位点的筛查,可以从分子水平上早期发现和诊断先天性遗传性耳聋、药物性耳聋,对迟发性耳聋进行预警,早期进行日常听力保健和安全用药指导,减少听障儿童的出现,为儿童听力保健提供了一种新的模式。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2016 年 1 月至 2017 年 12 月于武汉市出生,经监护人知情同意后同时接受常规听力筛查与耳聋基因筛查的 11 231 例足月新生儿为研究对象,对其结果进行比较分析。

1.2 听力筛查 采用耳声发射法于新生儿出生后 48~72 h,在自然睡眠、安静环境下进行听力筛查,测试前用电耳镜检查并清理外耳道残留物。初筛未通过者于生后 42 d 进行听力复筛。2 次听力筛查均未通过者在 6 月龄时进行诊断性听力检查,采用 AABR 法检测,>20 dBnHL 判定为不通过。

1.3 耳聋基因筛查 新生儿于出生后 48~72 h 采集足跟血制成血片,送武汉市卫计委公开招标的第三方检测公司检测。采用实时荧光定量 PCR 法对中国人

群中最常见的 3 个耳聋基因的 4 个位点进行筛查,包括 GJB2 c. 235delC、SLC26A4 c. 919-2A>G 及线粒体 DNA 12S rRNA m. 1555A>G、m. 1494C>T^[3]。基因突变阳性或听力确诊未通过的病例采用一代测序法进行验证。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件,对未发现耳聋基因突变和携带耳聋基因突变患儿的听力筛查结果进行比较,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 新生儿听力筛查 11 231 例新生儿中,男女比例为 1.08:1。其中 59 例(占 0.53%)未通过 6 月龄听力确诊。

2.2 新生儿耳聋基因筛查 11 231 例新生儿中,346 例患儿被检出携带耳聋基因突变,阳性检出率为 3.08%。检出以下位点:GJB2 基因 c. 235delC 杂合突变 195 例、纯合突变 4 例,c. 176del16 杂合突变 1 例、纯合突变 1 例,c. 427C>T 杂合突变 1 例,c. 235delC/c. 257C>G 复杂杂合突变 1 例,c. 235delC/c. 299delAT 复杂杂合突变 2 例,c. 235delC/c. 427C>T 复杂杂合突变 1 例。SLC26A4 基因 c. 919-2A>G 杂合突变 109 例、纯合突变 4 例。线粒体 12S rRNA m. 1555A>G 均质性突变 18 例、异质性突变 2 例;m. 1494C>T 均质性突变 1 例。GJB2 c. 235delC 杂合突变合并 SLC26A4 c. 919-2A>G 杂合突变 1 例,GJB2 c. 299delAT 杂合突变合并 SLC26A4 c. 919-2A>G 杂合突变 1 例,GJB2 c. 235delC 杂合突变合并线粒体 12S rRNA m. 1555A>G 均质性突变 1 例,GJB2 c. 235delC 杂合突变合并线粒体 12S rRNA m. 1494C>T 均质性突变 2 例,GJB2 c. 299delAT 杂合突变合并线粒体 12S rRNA m. 1555A>G 均质性突变 1 例,见表 1。

表 1 11 231 例新生儿耳聋基因常见突变携带及不同类型耳聋基因突变患儿听力筛查情况(n)

基因	突变类型	检出例数	听力筛查	
			通过	不通过
GJB2	235delC 纯合突变	4	0	4
	235delC 杂合突变	195	194	1
	176del16 纯合突变	1	0	1
	176del16 杂合突变	1	0	1
	427C>T 杂合突变	1	0	1
	235delC 杂合突变/299delAT 杂合突变	2	0	2
	235delC 杂合突变/257C>G 杂合突变	1	0	1
	235delC 杂合突变/427C>T 杂合突变	1	0	1
SLC26A4	919-2A>G 纯合突变	4	0	4

续表 111 231 例新生儿耳聋基因常见突变携带及不同类型耳聋基因突变患儿听力筛查情况 (n)

基因	突变类型	检出例数	听力筛查	
			通过	不通过
12S rRNA	919-2A>G 杂合突变	109	106	3
	1494C>T 均质性突变	1	1	0
	1555A>G 均质性突变	18	16	2
	1555A>G 异质性突变	2	2	0
GJB2/SLC26A4	235delC/919-2A>G 复杂杂合突变	1	1	0
	299delAT/919-2A>G 复杂杂合突变	1	1	0
GJB2/12S rRNA	235delC 杂合突变/1555A>G 均质性突变	1	0	1
	235delC 杂合突变/1494C>T 均质性突变	2	2	0
	299delAT 杂合突变/1555A>G 均质性突变	1	1	0

2.3 耳聋基因与听力联合筛查结果 11 231 例足月新生儿中, 96. 92%(10885/11 231)通过耳聋基因筛查, 96. 59%(10848/11 231)同时通过听力筛查, 0. 33%(37/11 231)通过基因筛查而未通过听力筛查; 未通过耳聋基因筛查而通过了听力筛查的新生儿有占 2. 71%(324/11 231), 未通过听力筛查的占 0. 43%(22/11 231)。耳聋基因突变的新生儿中听力筛查未通过率为 6. 36%(22/346)明显高于耳聋基因筛查通过的新生儿[0. 34%(37/10 885)], 差异有统计学意义($\chi^2=221. 07, P<0. 01$), 见表 2。

耳聋基因筛查	听力筛查		合计
	通过	未通过	
通过	10 848	37	10 885
未通过	324	22	346
合计	11 172	59	11 231

GJB2 235delC 突变的新生儿听力筛查未通过率为 2. 01%(4/199), 176del16 杂合突变 1 例及 427C>T 杂合突变各检出 1 例, 均未通过听力筛查; SLC26A4 919-2A>G 突变新生儿听力筛查未通过率为 6. 19%(7/113); 21 例线粒体 12S rRNA 突变中, 仅有 2 例 m. 1555A>G 均质性突变新生儿未通过听力筛查。本研究中, 携带 GJB2 c. 235delC、c. 176del16 位点纯合突变; SLC26A4 919-2A>G 位点纯合突变; 及 GJB2 基因复合杂合突变的新生儿均未通过听力检测。携带双基因杂合突变的新生儿个体, 绝大多数通过听力检测, 仅有 1 例 GJB2 c. 235delC 杂合突变合并线粒体 m. 1555A>G 均质性突变患儿表现为听力受损, 见表 1。

3 讨 论

耳聋是我国最常见的致残病种之一, 我国耳聋的人群总体发病率约为 0. 1%~0. 3%, 不同民族、地区之间有明显差异。遗传因素与耳聋密切相关, 其根本原因是基因突变, 可由单一基因突变或不同基因复合

突变引起。GJB2、SLC26A4、线粒体 12SrRNA 是我国最常见耳聋易感基因^[4]。本研究中共检出 346 例携带耳聋基因突变, 阳性检出率为 3. 08%, 略低于其他研究报道^[5], 可能与本研究选择的检测位点较少有关。

GJB2 基因是我国耳聋人群中最常见的易感基因, 主要表现为常染色体隐性遗传, 其突变引起的耳聋约占遗传性耳聋的 50%^[6]。GJB2 基因突变可导致蛋白翻译过程中的移码突变, 使其编码的缝隙连接蛋白 26 功能丧失, 从而改变缝隙连接通道的正常结构, 导致钾离子回流障碍引起钾中毒, 损伤耳蜗细胞导致感音神经性耳聋。GJB2 基因突变者出生时听力损失有一定的非外显率^[7], 缝隙连接蛋白的缺陷能够影响耳蜗放大功能, 从而导致迟发性、进行性听力损失的发生^[8-9]。本研究发现本地区 GJB2 基因突变具有较高的人群携带率, 为 1. 89%, 与其他报道相比略低^[10-12], 可能与检测位点较少有关。提示新生儿 GJB2 基因突变占有相当的比例。本研究中发现的 4 例 GJB2 基因 c. 235delC 位点纯合突变患儿均未通过听力筛查, 而 195 例杂合突变患儿中仅有 1 例未通过听力筛查。本研究发现 GJB2 基因 c. 235delC 纯合突变、c. 176del16 基因突变、c. 427C>T 杂合突变以及 GJB2 基因复合杂合突变的新生儿在出生时就可表现出听力损失, 因此应对其进行早期干预才能有效减少听力障碍的发生, 避免因聋致哑。对 GJB2 基因突变携带的患儿应监测并随访听力, 避免迟发性、进行性听力损失引起的聋哑情况。

SLC26A4 基因突变可导致前庭水管扩大, 患者常因颅内压增高受外力因素影响而导致后天性耳聋, 是仅次于 GJB2 基因突变引起遗传性耳聋的第二大遗传因素, 其中 c. 919-2A>G 突变是中国人群最常见的突变方式^[13], 表现为常染色体隐性遗传。本研究中, SLC26A4 基因 c. 919-2A>G 杂合突变的携带率为 1. 02%, 仅次于 GJB2 基因。检出的 109 例杂合携带者中 106 例通过听力筛查, 仅 3 例未例通过听力筛查, 而 4 例纯合突变者早期即表现为听力受损。尽早

检出 SLC26A4 基因突变,可以对患儿及家属进行生活指导,避免激烈运动、颅脑损伤等外界环境因素导致的耳聋发生。

线粒体 12SrRNA 基因又被称为药物敏感性耳聋基因,其突变可以改变线粒体 DNA 空间结构,形成与氨基糖甙类抗生素作用的结合位点而导致对此类药物敏感,使用此类药物可引起毛细胞损伤从而导致永久性不可逆的耳聋^[14]。携带线粒体基因 m. 1494C>T、m. 1555A>G 突变的个体,仅使用正常剂量或微量的氨基糖甙类药物就可在极短时间内引发听力损失,因此一旦检出,患者应严格终身禁用氨基糖甙类抗菌药物。因线粒体病遵循母系遗传规律,还应对患者家族中未发病的母系成员提供预防性用药指导及生育指导、产前诊断、干预措施等,从而减少药物性耳聋的发生。

耳声发射为目前新生儿听力筛查的主要手段之一,但易受到环境噪声、受检者年龄、配合程度、外耳道分泌物残留等影响,且部分早期通过常规听力筛查的新生儿,后期仍会表现出听力障碍^[15],单纯进行常规听力筛查无法识别迟发性、渐进性、药物敏感性耳聋;单纯进行耳聋基因筛查无法检出检测位点范围之外的突变,均会漏筛一部分耳聋高危儿童。本研究在通过听力筛查的 11 172 例新生儿中,检出了 346 例携带耳聋基因突变,表明新生儿耳聋基因筛查可从分子水平提早明确耳聋遗传因素,对提早发现先天性耳聋、迟发型耳聋、药物性耳聋等高危人群具有优势。但耳聋易感基因众多,本研究中检测的热点基因位点较少,仍然存在一定局限性。本研究中 59 例未通过听力筛查的新生儿中,有 37 例并未检出携带耳聋基因突变;可能由于常规听力筛查存在一定假阳性,也可能由于本研究所覆盖的筛查位点较少,该类患者存在其他未在检测范围内的基因或位点的突变,扩大基因筛查位点应有助于提高检出率。部分携带致病性耳聋基因突变的患儿早期虽未表现出明显听力损失,但仍应密切监测及随访听力情况。

4 结 论

部分类型的耳聋基因突变携带患儿出生时并不表现出听力异常,单纯应用常规听力筛查会漏检部分高危患儿。新生儿常规听力筛查联合耳聋基因筛查可以提高耳聋高危新生儿的检出率,扩大耳聋高危儿童的防治范围,能够早期识别、早期诊断、早期干预,对降低耳聋的发生率起到重要作用。临床应用中应当充分认识和正确对待听力筛查和基因筛查的意义和局限性,基因筛查与听力筛查及后期听力学评估及随访相结合,才能更好地推进新生儿听力筛查工作。

参考文献

- [1] 王智楠,李隽,胡艳玲,等. 湖北地区新生儿听力与基因筛查模式的转变与发展[J]. 中国医学文摘(耳鼻咽喉科学),2015,30(4):208-211.
- [2] 王晓燕,潘拥军,蒋新液,等. 新生儿听力和聋病相关基因联合筛查的临床意义[J]. 中华耳科学杂志,2014,32(3):463-466.
- [3] 姚聪,胡艳玲,周爱芬,等. 武汉市新生儿听力与耳聋基因联合筛查模式的建立[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(8):93-95.
- [4] 李倩,王秋菊. 新生儿聋病易感基因筛查的研究进展[J]. 听力学及言语疾病杂志,2015,33(1):91-96.
- [5] PENG Q, HUANG S, LIANG Y, et al. Concurrent genetic and standard screening for hearing impairment in 9317 southern Chinese newborns[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2016, 20(10):603-608.
- [6] XIN F, YUAN Y YI, DENG X M, et al. Genetic mutations in nonsyndromic deafness patients of Chinese minority and han ethnicities in Yunnan, China[J]. J Transl Med, 2013, 11(1):312.
- [7] 王现蕾,黄丽辉,杜亚婷,等. GJB2 基因致聋突变与听力变化研究进展[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,41(6):322-326.
- [8] ZHU Y, LIANG C, CHEN J, et al. Active cochlear amplification is dependent on supporting cell gap junctions[J]. Nat Commun, 2013, 4:1786.
- [9] ZHU Y, CHEN J, LIANG C, et al. Connexin26 (GJB2) deficiency reduces active cochlear amplification leading to late-onset hearing loss[J]. Neuroscience, 2015, 284:719-729.
- [10] 姚聪,胡艳玲,周爱芬,等. 武汉市部分新生儿耳聋基因与听力联合筛查结果分析[J]. 听力学及言语疾病杂志,2018,26(1):5-7.
- [11] HAO Z J, FU D G, MING Y, et al. Large scale newborn deafness genetic screening of 142,417 neonates in Wuhan, China[J]. PLoS One, 2018, 13(4):e195740.
- [12] HAN S J, YANG X J, ZHOU Y, et al. Deafness gene mutations in newborns in Beijing[J]. Acta Otolaryngol, 2016, 136(5):475-479.
- [13] 王秋菊,杜婉. 大前庭水管综合征的诊断与遗传咨询[J]. 听力学及言语疾病杂志,2016,24(6):630-635.
- [14] 张雪溪,张杰,陈敏,等. 线粒体 DNA 突变与遗传性耳聋[J]. 中华耳科学杂志,2015,13(3):454-457.
- [15] WU C C, TSAI C H, HUNG C C, et al. Newborn genetic screening for hearing impairment: a population-based longitudinal study[J]. Genetics in Medicine, 2017, 19(1):6-12.