

· 论 著 ·

舟山市新生儿常见耳聋基因检测结果分析

王海燕¹, 姚贤儿¹, 胡妙君¹, 胡湘云¹, 唐禹馨¹, 洪开听¹, 赵樑²

1.舟山市妇幼保健院, 浙江 舟山 316000; 2.浙江博圣生物技术股份有限公司

摘要: **目的** 分析舟山市新生儿常见耳聋基因突变热点以及听力筛查结果, 为预防和早期发现耳聋提供依据。**方法** 选取2015年8月—2018年5月于舟山市妇幼保健院出生的新生儿为研究对象, 采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术检测常见耳聋基因 GJB2、SLC26A4、GJB3 和 mtDNA 12SrRNA 的 22 个突变热点, 结合听力筛查情况分析检测结果并监测随访听力情况。**结果** 共纳入新生儿 4 029 人, 检出携带耳聋基因新生儿 180 例, 携带率为 4.47%。其中男婴 94 例, 携带率为 4.66%; 女婴 86 例, 携带率为 4.28%。男、女婴携带率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。听力初筛未通过 135 人, 未通过率为 3.35%, 其中 13 人携带耳聋基因, 携带率为 9.63%; 听力初筛通过 3 894 人, 通过率为 96.65%, 其中 167 人携带耳聋基因, 携带率为 4.29%; 听力初筛通过和未通过新生儿耳聋基因携带率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。最终确诊听力损失 11 例, 听力损失总检出率为 2.73‰。GJB2 基因突变 91 例, 携带率为 2.26%; SLC26A4 基因突变 57 例, 携带率为 1.41%; GJB3 基因突变 14 例, 携带率为 0.35%; mtDNA 12SrRNA 基因突变 15 例, 携带率为 0.37%; 双杂合突变 3 例, 携带率为 0.07%。共检出耳聋基因筛查突变位点 16 个, 检出耳聋基因 184 例, 检出率为 4.57%。**结论** 舟山市新生儿耳聋基因携带率为 4.47%, 携带的致聋基因以 GJB2 和 SLC26A4 突变为主, mtDNA 12SrRNA 基因突变携带率也较高。

关键词: 新生儿; 听力筛查; 耳聋基因; 突变位点

中图分类号: R764.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2019) 12-1215-05

Analysis of common mutations of deafness-related genes in Zhoushan newborns

WANG Hai-yan*, YAO Xian-er, HU Miao-jun, HU Xiang-yun, TANG Yu-xin, HONG Kai-ting, ZHAO Liang

*Zhoushan Maternal and Child Health Hospital, Zhoushan, Zhejiang 316000, China

Abstract: Objective To learn the mutation types and hearing screening results in local newborns of Zhoushan, in order to provide evidence for prevention and early detection of deafness. **Methods** The newborns in Zhoushan Maternal and Child Health Hospital from August 2015 to May 2018 were recruited and detected by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) for twenty-two mutation sites of GJB2, SLC26A4, GJB3 and 12SrRNA genes. The results of genotyping and hearing screening were analyzed and the hearing condition of abnormal newborns was followed up. **Results** Among 4 029 newborns, 180 (4.47%) newborns were identified to carry mutations, including 94 males (4.66%) and 86 females (4.28%). There was no statistically significant difference in the rate of carrying mutations between male and female infants ($P > 0.05$). Totally 135 (3.35%) newborns failed in primary hearing screening, 13 (9.63%) of whom carried the deafness genes; 3 894 (96.65%) newborns passed, 167 (4.29%) of whom carried the deafness gene. There was statistically significant difference in the the rate of carrying mutations between newborns who passed and failed in primary hearing screening ($P < 0.05$). Eleven newborns were diagnosed with hearing loss, with a rate of 2.73‰. Among 180 mutations identified, there were 91 GJB2 mutations (2.26%), 57 SLC26A4 mutations (1.41%), 14 GJB3 mutations (0.35%), 15 mtDNA 12SrRNA

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.12.006

基金项目: 舟山市科技计划项目 (2017B31124)

作者简介: 王海燕, 本科, 副主任医师, 主要从事儿童保健和新生儿疾病筛查管理工作

通信作者: 王海燕, E-mail: whywys2009@163.com

mutations (0.37%) and 3 with mutations of two genes (0.07%). Sixteen mutation sites (184 cases) were found, and the detection rate was 4.57%. **Conclusion** The rate of carrying deafness genes in Zhoushan newborns was 4.47%. The deafness genes found were mainly GJB2 and SLC26A4, the carrying rate of mtDNA 12SrRNA gene mutation was also high.

Key words: Newborns; Hearing screening; Deafness gene; Mutation sites

听力障碍是常见的感觉障碍之一^[1]。据世界卫生组织估计,2014年全球听力残疾患者达3.6亿,占全球总人口的5.14%^[2]。听力障碍给患儿家庭及社会带来了沉重负担。遗传因素约占新生儿耳聋原因的60%,很多迟发型听力损失与基因突变有关^[3]。近年来,随着分子遗传学和基因诊断技术的迅速发展,越来越多的耳聋基因被发现,其中GJB2、GJB3、mtDNA和SLC26A4基因为最常见的致聋基因^[4-5]。本研究分析2015年8月—2018年5月舟山市新生儿常见耳聋基因突变位点以及听力异常检测结果,为预防和早期发现耳聋提供依据。现将结果报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选择2015年8月—2018年5月于舟山市妇幼保健院出生并接受听力筛查和遗传性耳聋基因筛查的新生儿为研究对象。本研究经舟山市妇幼保健院伦理委员会审查,入选对象由其监护人签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 听力筛查 采用瞬态声诱发耳声发射(transient otoacoustic emission, TEOAE)和自动听性脑干反应(auto-auditory brainstem response, AABR)联合筛查。新生儿出生后满48 h采用TEOAE初筛听力,未通过者出院前再次筛查。住院期间TEOAE未通过者和携带耳聋基因突变者(不管初筛是否通过)于30 d至2月龄时采用AABR复筛;AABR未通过者于3月龄时采用声导抗、听性脑干反应和多频稳态反应进行听力学评估诊断。TEOAE筛查使用丹麦MADSEN公司的耳声发射仪,AABR筛查使用德国MAICO MB11听力筛查仪,技术人员于环境噪声<30 dB的房间内进行检测。

1.2.2 耳聋基因检测 新生儿出生72 h后,由经统一培训的护士采用滤纸采血卡采集新生儿足跟血3~4个血斑,直径 ≥ 8 mm,自然晾干后装入密封袋中,置4℃冰箱保存,定期外送到杭州甄元健康科技有限公司检测中心。采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)技术检测耳聋基因,检测内容为常见耳聋基因GJB2、

SLC26A4、GJB3和mtDNA 12SrRNA的22个突变热点。GJB2包含c.35delG、c.176_191del16、c.235delC、c.299delAT和c.167delT 5个突变热点;SLC26A4包含c.281C>T、c.919-2A>G、c.1226G>A、c.1707+5G>A、c.2027T>A、c.2168A>G、c.589G>A、c.1174A>T、c.1229C>T、c.1975G>C和c.2162C>T 11个突变热点;GJB3包括c.538C>T和c.547G>A 2个突变热点;mtDNA 12SrRNA包含m.1494C>T、m.1555A>G、m.7445A>G和m.12201T>C 4个突变热点。

1.2.3 随访程序 未携带耳聋基因且听力筛查通过者,进入常规儿童保健系统随访,定期体检时给予听性行为检查和指导家长听力家庭监测,发现异常给予听力学评估诊断;未携带耳聋基因而听力筛查未通过者,经听力学评估诊断为听力损失患儿,由听力中心定期随访;耳聋基因携带者,无论听力筛查是否通过,均由听力中心定期听力监测,包括听性行为、TEOAE、AABR和声导抗交替检查,发现异常给予听力学评估诊断。

1.3 统计分析 采用Excel 2007软件建立数据库,采用SPSS 19.0软件统计分析。定性资料采用相对数描述,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 共纳入新生儿4 029人,年龄最小3 d,最大9 d,平均 (3.75 ± 0.72) d。男婴2 018人,占50.09%;女婴2 011人,占49.91%。共检出携带耳聋基因新生儿180例,携带率为4.47%。其中男婴94例,携带率为4.66%;女婴86例,携带率为4.28%;男、女婴携带率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.344$, $P = 0.558$)。听力初筛未通过135人,未通过率为3.35%,其中13人携带耳聋基因,携带率为9.63%;听力初筛通过3 894人,通过率为96.65%,其中167人携带耳聋基因,携带率为4.29%;听力初筛通过和未通过新生儿耳聋基因携带率差异有统计学意义($\chi^2 = 8.721$, $P = 0.003$)。最终确诊听力损失11例,听力损失总检出率为2.73%。

2.2 耳聋基因突变情况 GJB2基因突变91例,携

带率为 2.26%，包括 90 例杂合突变和 1 例复合杂合突变；SLC26A4 基因突变 57 例，携带率为 1.41%，包括 1 例纯合突变和 56 例杂合突变；GJB3 基因突变 14 例，携带率为 0.35%，均为杂合突变；mtDNA

12SrRNA 基因突变 15 例，携带率为 0.37%，均为均质 / 异质突变；双杂合突变 3 例，携带率为 0.07%。见表 1。

表 1 4 029 名新生儿检出耳聋基因情况

检测基因	突变位点	突变类型	突变例数	携带率 (%)	听力初筛 (TEOAE)	听力复筛 (AABR)	听力确诊
GJB2	c.35delG	杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	c.176_191del16	杂合突变	7	0.17	2 例未通过	1 例未通过	1 例确诊损失
	c.235delC	杂合突变	71	1.76	7 例未通过	通过	
	c.299_300delAT	杂合突变	11	0.27	2 例未通过	1 例未通过	1 例确诊损失
	c.167delT		0	0			
	c.235delC/c.176_191del16	复合杂合突变	1	0.02	通过	3 月龄时未通过	1 例确诊损失
SLC26A4	c.281C > T		0	0			
	c.919-2A > G	杂合突变	45	1.12	2 例未通过	通过	正常
	c.919-2A > G	纯合突变	1	0.02	通过	9 月龄时未通过	1 例确诊损失
	c.1226G > A		0	0			
	c.1707+5G > A		0	0			
	c.2027T > A		0	0			
	c.2168A > G	杂合突变	2	0.05	通过	通过	
	c.589G > A	杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	c.1174A > T	杂合突变	2	0.05	通过	通过	
	c.1229C > T	杂合突变	4	0.10	通过	通过	
	c.1975G > C	杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	c.2162C > T	杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	GJB3	c.538C > T	杂合突变	5	0.12	通过	通过
c.547G > A		杂合突变	9	0.22	通过	通过	
mtDNA 12SrRNA	m.1494C > T		0	0			
	m.1555A > G	均质 / 异质	10	0.25	通过	通过	
	m.7445A > G	均质 / 异质	1	0.02	通过	通过	
	m.12201T > C	均质 / 异质	4	0.10	通过	通过	
双杂合突变	GJB2 基因 c.235delC/GJB3 基因 c.547G > A	双杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	GJB2 基因 c.235delC/mtDNA 12SrRNA 基因 m.1555A > G	双杂合突变	1	0.02	通过	通过	
	GJB2 基因 c.235delC/SLC26A4 基因 c.919-2A > G	双杂合突变	1	0.02	通过	通过	
合计			180	4.47	13 例未通过	4 例未通过	4 例确诊损失

2.3 突变位点检出情况 本次耳聋基因筛查共检出突变位点 16 个，检出耳聋基因突变 184 例，检出率为 4.57%。突变位点前六位依次为 GJB2 c.235delC，75 例占 40.76%，检出率为 1.86%；SLC26A4 c.919-2A > G，47 例占 25.54%，检出率为 1.17%；GJB2 c.299_300delAT，11 例占 5.98%，检出率为 0.27%；mtDNA 12SrRNA m.1555A > G，11 例占 5.98%，检出率为 0.27%；GJB3 c.547G > A，10 例占 5.43%，检出率为 0.25%；GJB2 c.176_191del16，8 例占 4.35%，检出率为 0.20%。本次筛查未检测到 GJB2 c.167delT、SLC26A4 c.281C > T、SLC26A4

c.1226G > A、SLC26A4 c.1707+5G > A、SLC26A4 c.2027T > A 和 mtDNA 12SrRNA m.1494C > T 这 6 个突变位点。见表 2。

2.4 听力异常诊断结果

2.4.1 未携带耳聋基因者听力确诊和随访结果 未携带耳聋基因新生儿 3 849 人，其中听力初筛通过 3 727 人，进入常规儿童保健系统随访，未发现听力损失；听力初筛未通过 122 人，未通过率为 3.17%，召回 114 人进行 AABR 复筛，15 例未通过复筛，经听力学评估最终确诊听力损失 7 例，听力损失率为 1.82%。

表2 22个突变位点检出情况

检测基因	突变位点	检出例数	构成比 (%)	检出率 (%)
GJB2	c.35delG	1	0.54	0.02
	c.176_191del16	8	4.35	0.20
	c.235delC	75	40.76	1.86
	c.299_300delAT	11	5.98	0.27
	c.167delT	0	0	0
SLC26A4	c.281C>T	0	0	0
	c.919-2A>G	47	25.54	1.17
	c.1226G>A	0	0	0
	c.1707+5G>A	0	0	0
	c.2027T>A	0	0	0
	c.2168A>G	2	1.09	0.05
	c.589G>A	1	0.54	0.02
	c.1174A>T	2	1.09	0.05
	c.1229C>T	4	2.17	0.10
	c.1975G>C	1	0.54	0.02
	c.2162C>T	1	0.54	0.02
	GJB3	c.538C>T	5	2.72
mtDNA 12SrRNA	c.547G>A	10	5.43	0.25
	m.1494C>T	0	0	0
	m.1555A>G	11	5.98	0.27
	m.7445A>G	1	0.54	0.02
	m.12201T>C	4	2.17	0.10
合计		184	100.00	4.57

2.4.2 耳聋基因携带者听力确诊和随访结果 携带耳聋基因新生儿180例，其中听力初筛未通过13例，未通过率为7.22%，最终确诊听力损失4例，听力损失率为22.22%。其中2例GJB2杂合突变确诊听力损失，为GJB2 c.176_191del16位点杂合突变（左耳阈值70 dBnHL、右耳阈值50 dBnHL）和GJB2 c.299_300delAT位点杂合突变（双耳阈值80 dBnHL）；1例GJB2 c.235delC/c.176_191del16复合杂合突变（双耳阈值70 dBnHL）和1例SLC26A4 c.919-2A>G纯合突变（双耳阈值45 dBnHL）新生儿听力初筛通过，进入定期监测系统，分别于3月龄和9月龄时AABR检测未通过，后被确诊听力损失；其他突变目前均未随访到听力损失。见表1。

3 讨论

本研究发现，舟山市新生儿耳聋基因总携带率为4.47%，GJB2、SLC26A4、mtDNA 12SrRNA和GJB3基因突变携带率分别为2.26%、1.41%、0.37%和0.35%，双杂合突变携带率为0.07%，其中mtDNA 12SrRNA基因突变携带率高于北京市海淀区的0.21%^[6]和深圳市南山区的0.26%^[7]，可能与不同

地区人群的基因存在差异有关。新生儿听力初筛未通过组耳聋基因携带率为9.63%，高于通过组的4.29%，提示听力筛查未通过新生儿应作为耳聋基因检测的重点人群。确诊听力损失11例，听力损失总检出率为2.73%，与嘉兴市2013—2017年检出率2.68%^[8]接近，高于余姚市2013—2017年检出率1.45%^[9]。

GJB2基因中检出c.235delC、c.299_300delAT、c.176_191del16和c.35delG这4个突变位点，未检出c.167delT突变，总检出率为2.36%，其中c.235delC检出率最高。有研究显示，GJB2基因的突变热点具有种族和地区特异性，c.235delC位点突变在中国、日本及韩国等亚洲人群最普遍^[10-12]，与本文结果相似。本研究显示，1例GJB2 c.235delC/c.176_191del16复合杂合突变TEOAE筛查通过，而在3月龄时AABR筛查未通过，后确诊为听力损失，提示携带GJB2明确致病突变的新生儿即使通过听力筛查也需要定期进行听力学监测，以及时发现异常尽早干预。

SLC26A4基因突变位点检出率最高为c.919-2A>G，其次为c.1229C>T、c.2168A>G和c.1174A>T。有研究表明，我国SLC26A4突变热点为c.919-2A>G和c.2168A>G^[7,13-14]，与本研究结果相似。本研究检出1例SLC26A4 c.919-2A>G纯合突变，听力初筛通过，9月龄定期AABR检测未通过，而后被确诊听力损失；2例c.919-2A>G单杂合突变，听力初筛未通过，3月龄时AABR检测未见异常；其他突变均通过听力筛查。提示SLC26A4纯合突变携带者出生时不一定出现听力损失^[15]，因此即使通过听力筛查也需严密监测听力，必要时建议行颞骨CT检查以早期发现异常并早期干预^[16-17]。对于其他一些单杂合突变携带儿，因为没有进一步全外测序，不能排除以后发生听力损失的可能，也需要定期随访听力^[18-19]。同时要对新生儿养育者加强相关知识宣教^[20]，尽量避免发热、头部外伤和引起颅内压增加的运动（如剧烈运动、用力咳嗽和擤鼻等），减少儿童跑跳、跌倒，增强体质，远离噪声；告知家庭自行监测听力的方法，早发现早治疗。

本研究检出GJB3单基因杂合突变14例、GJB2基因c.235delC/GJB3基因c.547G>A双杂合突变1例，总检出率为0.37%，低于绍兴市^[13]检出结果0.56%，与孟国民等^[14]研究结果相似，提示该基因的分布可能存在地域差异。14例GJB3单杂合突变和1例双杂合突变新生儿听力筛查均通过，随访未发现听力损失，追访家族史有1例母亲和2例祖辈听力

下降,但未予以基因验证,提示须告知这15例儿童监护人GJB3突变高频听力损失的特点,应长期关注听力状况^[21]。

本研究检出携带mtDNA 12SrRNA突变的新生儿16例(包括1例双基因突变),听力筛查均通过。mtDNA基因突变携带者对氨基糖苷类药物非常敏感^[22],低剂量就可引起耳鸣甚至更为严重的听力损害,并且mtDNA 12SrRNA基因遗传方式99.8%属于母系遗传^[22],因此可根据遗传规律推导家族中其他成员的基因型,指导整个家族乃至后代的药物使用,避免或减少药物性耳聋的发生。

综上所述,舟山市新生儿携带的致聋基因突变以GJB2和SLC26A4为主;携带有GJB2和SLC26A4明确致病突变的新生儿早期有可能通过听力筛查,需定期进行听力监测,早发现早干预;携带GJB2和SLC26A4单基因杂合突变儿童建议进一步基因检测或定期进行听力监测。听力筛查和耳聋基因筛查具有互补性,通过新生儿耳聋基因筛查能够早期发现听力筛查不能发现的迟发性和药物性耳聋高危儿,从而进行重点监测,有助于早期发现、早期干预、甚至避免耳聋的发生。

参考文献

[1] PAN J, XU P, TANG W B, et al. Mutation analysis of common GJB2, SCL26A4 and 12SrRNA genes among 380 deafness patients in northern China [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2017, 98: 39-42.

[2] World Health Organization. Deafness and hearing loss Fact sheet [EB/OL]. [2019-09-24]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en>.

[3] DAI Z Y, SUN B C, HUANG S S, et al. Correlation analysis of phenotype and genotype of GJB2 in patients with non-syndromic hearing loss in China [J]. *Gene*, 2015, 570 (2): 272-276.

[4] 杜亚婷, 崔庆佳, 黄丽辉. 耳聋基因检测技术的临床应用进展 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30 (8): 667-670.

[5] 余红, 晶群, 吴长划, 等. 绍兴地区131名耳聋患儿常见致聋基因检测结果分析 [J]. *中华全科医学*, 2018, 16 (10): 1683-1685.

[6] 韩萍, 邵瑜. 北京市海淀区2012—2014年新生儿耳聋基因筛查管理现状分析 [J]. *中国妇幼卫生杂志*, 2015, 6 (3): 62-65.

[7] 刘丽益, 李维, 韩璐好, 等. 深圳市南山区25 987例新生儿耳聋基因筛查结果分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26 (3): 75-77.

[8] 孙晓艳, 丁洁, 张莺, 等. 2013—2017年嘉兴市268 187例新生儿听力筛查结果分析 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2019, 27 (4): 453-456.

[9] 徐科. 余姚地区2013—2017年新生儿听力筛查结果分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2019, 27 (1): 33, 66.

[10] TSUKADA K, NISHIO S Y, HATTORI M, et al. Ethnic-specific spectrum of GJB2 and SLC26A4 mutations: their origin and a literature review [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2015, 124 (Suppl 1): 61-76.

[11] 徐文华, 张志成, 梅金鑫, 等. 新生儿33 321例耳聋基因筛查结果分析 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2018, 26 (11): 1168-1171.

[12] 忻蓉, 顾春健, 沈学萍, 等. 新生儿听力和耳聋基因联合筛查临床应用研究 [J]. *预防医学*, 2018, 30 (6): 590-594.

[13] 杨晶群, 余红, 刘丹. 绍兴地区7 172例新生儿耳聋基因突变位点分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2017, 25 (5): 96-97.

[14] 孟国民, 王虎良. 3 293名新生儿耳聋基因突变位点分析 [J]. *预防医学*, 2018, 30 (5): 536-537, 540.

[15] 赵雪雷, 黄丽辉, 王雪瑶, 等. SLC26A4基因致聋突变患儿的基因型和听力学特点分析 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32 (11): 836-840.

[16] 崔庆佳, 王国建, 张媛, 等. GJB2、SLC26A4基因相关耳聋儿童的听力损失特点分析 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2014, 22 (2): 120-123.

[17] 孙宝春, 代志瑶, 黄莎莎, 等. GJB2、SLC26A4基因致病性突变与内耳CT表型关系的研究 [J]. *中华耳科学杂志*, 2014, 12 (1): 30-33.

[18] 余红, 杨晶群, 樊洁敏, 等. 遗传性耳聋基因SLC26A4阳性携带婴儿2年随访结果分析 [J]. *中国妇幼卫生杂志*, 2016, 7 (4): 62-64.

[19] 于晓宇, 林斌, 许军, 等. 135例大前庭导水管耳聋患者SLC26A4基因突变分析 [J]. *中华耳科学杂志*, 2018, 16 (2): 160-164.

[20] 梁鹏飞, 王淑娟, 王剑, 等. 陕西省800例非综合征型聋患者常见致聋基因突变分析 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2015, 23 (1): 11-15.

[21] 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.

[22] LUO S, VAIENCIA C A, ZHANG J, et al. Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115 (51): 13039-13044.

收稿日期: 2019-08-22 修回日期: 2019-09-24 本文编辑: 姜申