

辽西地区非综合征性耳聋患者及其亲属 常见耳聋基因检测结果分析

吴 思,邢巍巍

(锦州医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科,辽宁 锦州 121000)

摘要:目的 分析辽西地区非综合征性耳聋患者及其直系亲属耳聋基因突变检测结果,了解本地区非综合征性耳聋的常见遗传基因及其分布特点。方法 收集 2018 年 4 月-2019 年 4 月就诊于锦州医科大学附属第一医院门诊和辽西地区聋哑学校及当地残联注册的感音神经性耳聋患者及其直系亲属共 178 例(患者 170 例,亲属 8 例),采集患者及部分耳聋患者直系亲属的外周血样本,应用遗传性耳聋基因芯片技术筛查 4 个常见耳聋基因的 13 个突变位点情况,并对检测结果进行统计学分析。结果 共 178 名受检者中,耳聋检出率为 34.83%,其中非综合征性耳聋检出率为 33.53%。GJB2 突变基因 26 例,阳性率为 14.61%;SLC26A4 突变基因 33 例,阳性率为 18.54%;线粒体 DNA 12S rRNA 突变基因 2 例,阳性率为 1.12%;GJB3 突变基因 1 例,阳性率为 0.56%。8 例直系亲属进行耳聋基因测序,有 5 人检测出病理性耳聋基因突变,包括 GJB2、SLC26A4 两个基因的 3 个位点(235delC、IVS7-2A>G、1299C>T),其中 2 例为 GJB2 杂合突变,3 例为 SLC26A4 杂合突变,且 4 组家庭中父母听力均无明显下降。不同性别、遗传史、各地区检出阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同民族检出阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 辽西地区非综合征性耳聋所占比例较高,其中最常见突变基因为 SLC26A4,IVS7-2A>G 为其最主要的突变位点,其次为 GJB2 基因,235delC 为其最常见的突变位点。

关键词:非综合征性耳聋;基因突变;基因芯片

中图分类号:R764.3

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.11.038

文章编号:1006-1959(2020)11-0122-04

Analysis of Common Deafness Gene Detection Results in Non-syndromic Deafness Patients and Their Relatives in Western Liaoning

WU Si,XING Wei-wei

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery,the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000,Liaoning,China)

Abstract:Objective To analyze the detection results of deafness gene mutations in patients with nonsyndromic deafness and their immediate family members in western Liaoning, to understand the common genetic genes of non-syndromic deafness in the region distribution characteristics.Methods A total of 178 sensorineural hearing loss patients (170 patients,8 relatives) registered in the outpatient clinic of the first affiliated hospital of Jinzhou Medical University and the deaf and mute school of western Liaoning Province and the local disabled association were collected on April 2018 and April 2019.The peripheral blood samples of the direct relatives of the patients and some of the deafness patients were collected, and 13 mutation sites of 4 common deafness genes were screened by genetic deafness gene chip technology.Results Among the 178 subjects, the deafness detection rate was 34.83%, and the non-syndromic deafness detection rate was 33.53%. 26 cases of GJB2 mutant gene, the positive rate was 14.61%; 33 cases of SLC26A4 mutant gene, the positive rate was 18.54%; 2 cases of mitochondrial DNA 12S rRNA mutant gene, the positive rate was 1.12%; 1 case of GJB3 mutant gene, the positive rate was 0.56%. 8 immediate family members performed deafness gene sequencing, and five persons detected pathological deafness gene mutations, including three sites of two genes of GJB2 and SLC26A4 (235delC, IVS7-2A> G, 1299C> T), of which 2 cases GJB2 heterozygous mutations,3 cases were SLC26A4 heterozygous mutations, and there was no significant decrease in parents' hearing in the 4 groups of families.There was no statistically significant difference in the positive rates of different genders, genetic history, and regions($P>0.05$).Compared with the positive rate of different nationalities, the difference was statistically significant ($P<0.05$).Conclusion The proportion of non-syndromic deafness in western Liaoning is relatively high. The most common mutation gene is SLC26A4, IVS7-2A> G is the most important mutation site, followed by the GJB2 gene, and 235delC is the most common mutation site.

Key words: Non-syndromic deafness;Gene mutation;Gene chip

耳聋(hearing impairment)是常见的致残因素,可降低患者认知水平及沟通交流能力,世界范围内儿童的发病率约为 1%^[1]。据报道^[2],耳聋在我国是第一大致残因素,听力残疾人数占全部残疾人总数的 27%,约 2800 万,每年新生的先天性听力下降患儿约 3.5 万例,加上药物性耳聋及环境因素造成听力下降的患者,听力障碍儿童的增长速度将超过 6 万人/年。导致听力残疾的病因非常复杂,40%左右与

环境因素有关,如感染、长期接触噪声、震爆伤或其他不明原因等,而遗传因素所致的耳聋约占 60%^[3]。遗传性耳聋分为综合征性耳聋(SHI)和非综合征性耳聋(NSHI)。NSHI 是指仅出现耳聋症状而不伴有全身其他系统的疾病,多为双耳对称性中重度至极重度感音神经性耳聋,约占遗传性耳聋的 70%。流行病学调查显示^[4],与我国非综合征性耳聋最为密切相关的基因为 GJB2、SLC26A4、GJB3、线粒体 12S rRNA,但不同地区和不同人群中 NSHI 患者基因的突变方式、突变频率和突变位点并不相同^[5]。现阶段我国关于耳聋致病基因的研究报道不断深入,耳聋

作者简介:吴思(1991.6-),男,辽宁辽阳人,硕士研究生,住院医师,主要从事遗传性耳聋相关研究

通讯作者:邢巍巍(1967.11-),女,辽宁葫芦岛人,硕士,主任医师,教授,硕士生导师,从事耳科疾病的相关研究

基因及其突变热点数据已经通过大规模的筛查获得,这些数据及成果对明确诊断耳聋具有重要的意义。致病基因的筛查不仅有助于了解耳聋患者具有遗传因素的比例,为分子流行病学研究提供依据,还能了解耳聋的分子病因,确定主要致病基因的类型和了解分布趋势。基于此,本研究通过对 2018 年 4 月~2019 年 4 月辽西地区非综合征性耳聋患者及其直系亲属耳聋基因突变检测结果进行分析,以期对辽西地区防聋治聋工作提供一定的参考依据,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2018 年 4 月~2019 年 4 月就诊于锦州医科大学附属第一医院门诊和辽西地区聋哑学校及当地残联注册的感音神经性耳聋患者及其直系亲属共 178 例(患者 170 例,亲属 8 例),年龄 0~53 岁,平均年龄(14.52±7.95)岁;男性 96 例,女性 82 例;汉族 113 例,满族 44 例,回族 11 例,蒙古族 8 例,哈尼族 1 例,锡伯族 1 例;明确存在耳聋家族史患者 22 例,未明确存在耳聋家族遗传史患者 156 例;语前聋患者 93 例,语后聋患者 77 例;中度聋 9 例,中重度聋 15 例,重度聋 107 例,极重度聋 39 例;无明显听力下降的患者亲属 8 例。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:①均为辽西地区常住人口;②听力检测证实为中度~极重度感音神经性耳聋患者;③发病前有或无氨基糖苷类抗生素使用史;④有或无耳聋家族遗传史。排除标准:①曾患有或确诊为急、慢性化脓性中耳炎所导致的听力下降,或有中耳手术史者;②其他疾病史,明确可引起听力下降(包括颅面部外伤、脑膜炎、迷路感染等)者;③有外耳、中耳畸形,引起传导性听力下降者;④有明确的爆震伤,噪音接触史导致听力下降者;⑤使用过大剂量的非氨基糖苷类药物导致听力下降者;⑥伴有脑瘫、智力发育障碍、因为全身其他疾病影响听力检查效果者;⑦综合征性耳聋患者。

1.3 方法 收集所有研究对象的听力学检查及基因检测结果。

1.3.1 听力学检查 ①纯音测听:对>6 岁儿童和成人测试听阈,根据 WHO(1997 年,0.5、1、2、4 kHz 的平均气导听阈)标准,听力损失程度分级:正常听力:≤25 dBHL;轻度听力损失:26~40 dBHL;中度听力损失:41~55 dBHL;中重度听力损失:56~70 dBHL;重度听力损失:71~90 dBHL;极重度听力损失:>90 dBHL^[6]。②声导抗检查:鼓室图分为(根据 Lidén-Jerger 分型):A 型(包括 As 和 Ad 两个亚型)、B 型和 C 型。③听性脑干反应检测(ABR):<6 岁的儿童使用脑干诱发电位仪,于符合国家标准电屏蔽隔声室进行常规检测。④颞骨 CT 检查:对基因检测显示

SLC26A4 基因突变阳性者均进行颞骨 CT 检查;前庭导水管扩大的 CT 诊断标准:前庭导水管或内淋巴管(内淋巴囊)外口与总脚连线的中点直径>1.5 mm^[7]。

1.3.2 基因检测 采集受试者 5 ml 外周静脉血置于 EDTA 抗凝真空采血管中编号后保存于 4 ℃冰箱中,送至我院分子检测中心进行检测。使用基因组 DNA 提取试剂盒对样本进行核酸提取、质检、PCR 扩增、上机前 PCR 及产物纯化、毛细管电泳测序、数据分析、出具报告。检测样本 4 个基因的 13 个常见突变位点 GJB2 (235delG、155~158delTCTG、176~191del16bp、235delC 及 299delAT),SLC26A4(IVS7-2A>G、2168A>G、1229C>T),线粒体 DNA 12S rRNA (1555A>G、1494C>T、7445A>G、12201T>C)和 GJB3 (538C>T)。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)进行表述,计数资料以[n(%)]进行描述,比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 耳聋突变基因检出情况 共 178 例受检者(患者 170 例,亲属 8 例)中,耳聋检出率为 34.83%(62/178),其中非综合征性耳聋检出率为 33.53%(57/170)。GJB2 突变基因 26 例,阳性率为 14.61%;SLC26A4 突变基因 33 例,阳性率为 18.54%;线粒体 DNA 12S rRNA 突变基因 2 例,阳性率为 1.12%;GJB3 突变基因 1 例,阳性率为 0.56%,见表 1。

2.2 非综合征性耳聋患者及直系亲属听阈及突变基因测序结果 8 例直系亲属进行耳聋基因测序,有 5 人检测出病理性耳聋基因突变,包括 GJB2、SLC26A4 两个基因的 3 个位点(235delC、IVS7-2A>G、1299C>T)。其中 2 例为 GJB2 杂合突变,3 例为 SLC26A4 杂合突变。4 组家庭中父母听力均无明显下降,见表 2。

2.3 辽西地区各城市非综合征性耳聋分布情况 辽西地区中葫芦岛市非综合征性耳聋患者检出率最高为 40.91%。辽西各城市之间非综合征性耳聋患者的检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.4 不同性别、民族、遗传史检出阳性率比较 男性检出 34 例(阳性率 35.42%,34/96),女性检出 28 例(阳性率 34.15%,28/82),不同性别检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);汉族检出 57 例(阳性率 50.44%,57/113),少数民族 5 例(阳性率 7.69%,5/65),不同民族检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);具有遗传病史的患者检出 9 例携带耳聋基因(阳性率 40.91%,9/22),未明确遗传病史的患者检出 53 例(阳性率 33.97%,53/156),不同遗传史检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 辽西地区 NSHI 常见耳聋突变基因检出情况[n(%)]

序号	基因	位点	突变类型	占比
1	GJB2	235delC	纯合突变	9(5.06)
		299delAT	纯合突变	3(1.69)
		176del16	纯合突变	2(1.12)
		235delC 与 299delAT	复合杂合突变	5(2.81)
		175del16 与 235delC	单杂合突变	3(1.69)
		235delC	单杂合突变	4(2.25)
2	SLC26A4	IVS7-2A>G	纯合突变	9(5.06)
		2168A>G	纯合突变	6(3.37)
		IVS7-2A>G	单杂合突变	14(7.87)
		1299C>T	单杂合突变	2(1.12)
		2168A>G	单杂合突变	1(0.56)
		IVS7-2A>G 与 2168A>G	复合杂合突变	1(0.56)
3	mtDNA 12S rRNA	1555A>G	均质突变	2(1.12)
4	GJB3	538C>T	单杂合突变	1(0.56)

表 2 非综合征性耳聋患者及直系亲属听阈及突变基因测序结果

家族	姓名	性别	年龄	听阈*(左耳/右耳)	突变基因
1	先证者	女	9	50/67	SLC26A4:IVS7-2A>G 单杂合突变
	父亲	男	38	23/21	SLC26A4:IVS7-2A>G 单杂合突变
	母亲	女	37	19/20	/
2	先证者	男	11	>90/>90	GJB2:235delC 纯合突变
	父亲	男	40	20/20	GJB2:235delC 单杂合突变
	母亲	女	40	26/23	GJB2:235delC 单杂合突变
3	先证者	女	9	90/87	SLC26A4:IVS7-2A>G 单杂合突变
	父亲	男	35	31/23	SLC26A4:IVS7-2A>G 单杂合突变
	母亲	女	36	19/27	/
4	先证者	女	13	90/>90	SLC26A4:1299C>T 单杂合突变
	父亲	男	40	30/26	/
	母亲	女	39	24/25	SLC26A4:1299C>T 单杂合突变

注:*表示 0.5、1.0、2.0、4.0 kHz 纯音测听的平均听阈

表 3 辽西地区各城市非综合征性耳聋分布情况(n)

城市	锦州市	盘锦市	朝阳市	葫芦岛市	阜新市	总数
阳性	16	10	11	18	7	62
阴性	26	20	20	26	24	116
总数	42	30	31	44	31	178

3 讨论

耳聋是最常见的感觉缺陷性疾病之一,可以由遗传、环境因素或两者相互作用所导致,其中遗传因素是耳聋发生最重要的病因。流行病学调查显示,我国常见的耳聋基因有 GJB2、GJB3、SLC26A4 和 12S rRNA^[6],其中 21%的耳聋患者携带 GJB2 基因突变,14%的耳聋患者携带 SLC26A4 基因突变,4.4%的耳聋患者携带线粒体 DNA 12S rRNA 基因突变^[6]。非综合征性耳聋基因的突变形式在不同的国家、民族以及不同地域间存在差异。辽西地区除汉族外,还有满族、蒙古族等多个少数民族,掌握本地区遗传性耳

聋常见基因的分布特点及比例,可对辽西地区各个城市非综合征性耳聋的诊断、治疗及其阻断致病基因的传递提供有价值的资料。

GJB2 基因突变是我国遗传性耳聋的第 1 大病因,且 GJB2 基因具有明显的种族差异性,东亚人群中以 235delC 位点最为多见,而在白种人群和阿拉伯人群中则以 35delIG 位点为最常见的突变类型^[6]。本研究结果显示,辽西地区携带 GJB2 基因突变患者 26 例(14.61%),为本地区检出率第 2 高的基因;GJB2 总检出位点频率由高到低依次为 235delC、235delC 与 299delAT、299delAT、175del16 与 235delC、175del16,其中 235delC 位点为本地区 GJB2 基因的突变热点,符合东亚人群中 GJB2 基因的突变热点,但 GJB2 并非本地区阳性率最高的基因,表明辽西地区 GJB2 基因分布可能与其他地域存在差异,但也存在检测位点受限及样本量少的可能性。由于 GJB2 基因相

关耳聋患者的螺旋神经节细胞数量正常,如能尽早进行人工耳蜗植入术,可使该类患者获得较为理想的听觉效果和语言理解能力,基本能够融入正常的社会活动。因此,早期明确病因对患者治疗和预后具有重要价值。

SLC26A4 基因又称 PDS 基因,编码 Pendrin 蛋白,该基因位点突变可造成 Pendrin 蛋白功能障碍,导致大前庭导水管综合征和 Pendred 综合征,是我国突变率第 2 位的基因,其中最常见的位点是 IVS7-2A>G。Tsukada K 等^[10]研究报道,在东亚地区该基因突变检出率为 5.5%~12.6%,法国为 40.0%、美国为 20.0%,各国之间差异存在差异。国内研究显示^[1],97.9%的前庭导水管扩大患者携带有 SLC26A4 基因突变,IVS7-2A>G 为最常见的突变位点。大前庭导水管综合征的患儿出生时可能并无明显的听力下降,发病或病情加重多与感冒、头部外伤、潜水、举重等引起颅内压升高的因素相关,因此其发病诱因、听力损失程度、特点、性质和听力曲线等方面可能表现出明显的个体差异性,如早期确诊,此类患者多可以通过针对性的指导、治疗和严格的活动限制措施避免听力损失的进一步加重,降低重度、极重度耳聋的发病率。本研究中 33 例检测到携带 SLC26A4 基因突变,阳性率为 18.54%,为本地区出现总数最多的基因,其中 IVS7-2A>G 为其突变热点(纯合子 9 例,杂合子 14 例),表明 SLC26A4 基因突变在辽西地区可能处于高发水平,其中 IVS7-2A>G 为本地 SLC26A4 基因的突变热点,应引起足够重视,作为本地区 NSHI 基因筛查的重点目标。

Prezant TR 等^[12]首次证实使用氨基糖苷类药物导致听力下降的患者携带线粒体 DNA 12S rRNA 基因突变,1555A>G、1494C>T 为常见的突变位点。本研究中 2 例患者为均质性突变。带有线粒体 DNA 12S rRNA 基因突变的人群有很大风险在使用氨基糖苷类药物时造不可逆的听力损失。由于该基因为母系遗传,应对患者及其母系亲属进行药物宣教,终生禁止使用氨基糖苷类药物,降低药物性耳聋发生的可能性。GJB3 基因为常染色体显性遗传,通常引起患者高频听力损失。GJB3 基因在国内未见相关的大规模筛查报道,本研究中仅有 1 例患者发现 GJB3 基因突变(0.56%),提示该基因突变也是辽西地区遗传性耳聋的病因之一,但整体突变率较低。

本研究对 4 个耳聋患儿的家庭基因筛查结果显示,听力正常的直系亲属中 5 例检测到携带病理性基因突变,涉及 GJB2 和 SLC26A4 基因的 3 个突变位点,表明先证者的听力下降可能均与耳聋基因突变相关。如果夫妻双方携带同一基因的同突变位

点或同一个基因的不同突变位点,下一代出现遗传性耳聋的风险将非常高,同时也说明了在听力正常的普通人群中进行婚前或孕前耳聋基因检测是非常必要的。目前,听力筛查已纳入新生儿常规检查项目,但新生儿听力筛查还存在一定的局限性,部分 NSHI 患儿在出生时没有出现听力下降的症状,无法进行及时的诊断和治疗。如果发现耳聋基因杂合突变伴随听力下降者,并不排除环境或其他未知因素对听力造成影响的可能性,建议进一步行基因测序检查,排除其他罕见位点突变的可能性。

综上所述,辽西地区非综合征性耳聋所占比例较高,其中最常见突变基因为 SLC26A4,IVS7-2A>G 为其最主要的突变位点,其次为 GJB2 基因,235delC 为其最常见的突变位点。

参考文献:

- [1]Morton CC,Nance WE.Newborn hearing screening—a silent revolution[J].N Engl J Med,2006,354(20):2151-2164.
- [2]周永安,王湘,马云霞,等.遗传性非综合征性常见耳聋基因诊断的研究[J].中国优生与遗传杂志,2011,19(7):27-30,39.
- [3]刘闯,胥亮,刘水霞,等.广西地区 222 例感音神经性聋患者常见耳聋基因筛查结果分析[J].听力学及言语疾病杂志,2017,25(1):5-8.
- [4]王屹,陈蕾,刘志忠,等.318 例中国汉族非综合征性耳聋患者基因突变谱分析[J].中国康复理论与实践,2016,22(12):1119-1221,1135.
- [5]刘璟,牟书瑜,付敏,等.常见耳聋基因在大连地区语前聋患者与耳聋高危人群中的检测分析[J].听力学及言语疾病杂志,2016,24(6):545-548.
- [6]王国建,袁永一,李荣,等.不同听力学表型人群中常见耳聋基因突变检出率的分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2011,25(10):446.
- [7]徐才良,张劲.先天性内耳畸形研究进展[J].新疆医学,2018,48(7):780-783.
- [8]李焜怡.339 例非综合征型耳聋患者致病基因突变分析[J].中华医学杂志,2019,17(6):910-915.
- [9]陆小梅.非综合征型遗传性耳聋常见基因突变及检测方法的研究进展[J].国际儿科学杂志,2016,43(2):109-112.
- [10]Tsukada K,Nishio SY,Hattiri 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): 61S-76S.
- [11]赵雷雷,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.
- [12]Prezant TR,Agopian JV,Bohlman MC,et al.Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness[J].J Nat Genet,1993(4):289-294.

收稿日期:2019-12-17;修回日期:2020-04-01

编辑/杜帆