

新生儿耳聋基因筛查纯合突变婴幼儿的听力评估 及随访研究^{*}

刘清明¹ 田野¹ 於娟娟¹ 何庆庆¹ 彭玲¹ 郭晓青¹ 李东英¹ 陈田¹ 王芳¹

[摘要] 目的:分析珠海市部分耳聋基因筛查纯合突变婴幼儿的听力评估特点和随访情况。方法:回顾性分析耳聋基因筛查纯合突变转至珠海市妇幼保健院 28 例新生儿的临床资料,所有患儿均进行听力筛查,听力学诊断和 1~3 年的行为测听随访,分析不同基因位点纯合突变患儿的听力特点及长期随访结果。结果:14 例 GJB2 c.109G>A 纯合突变患儿中,11 例新生儿听力筛查通过,听力学诊断正常,1~3 年行为测听随访正常;3 例新生儿听力筛查未通过,听力学诊断单或双耳轻中度异常,1 000 Hz 无峰,确诊为中耳病变,治愈后 1~3 年行为测听随访正常。8 例 GJB2 c.235del C 纯合突变患儿,均未通过新生儿听力筛查,其中 5 例听力学诊断为双耳听力重度极重度损伤,3 例为双耳轻中度听力损失,随访 1~3 年行为测听随访均未通过。1 例 GJB3 547G>A 纯合突变患儿,新生儿听力筛查通过,听力学诊断正常,随访 1~3 年行为测听随访通过。4 例 SLC26A4 IVS7-2A>G,1 例 SLC26A4 1229C>T 纯合突变患儿,均未通过新生儿听力筛查,听力学诊断均为双耳听力重度损伤,随访 1~3 年行为测听随访均未通过。结论:本次随访发现 GJB2 C.235del C、SLC26A4 IVS7-2A>G 位点纯合突变婴幼儿出生后听力障碍较重,1~3 年随访无改变,建议尽早干预及遗传咨询。GJB2 C.109G A 纯合突变婴幼儿听力正常,建议密切随访。对 GJB2 C.109G A 纯合突变婴幼儿家长给予正确、合理的遗传咨询非常重要,避免引起不必要恐慌。

[关键词] 新生儿听力筛查;耳聋基因筛查;随访

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.11.020

[中图分类号] R764 **[文献标志码]** A

Hearing assessment and follow-up study of neonatal deafness gene screening homozygous mutation infants

LIU Qingming TIAN Ye YU Juanjuan HE Qingqing PENG Ling

GUO Xiaoqing LI Dongying CHEN Tian WANG Fang

(Department of Otorhinolaryngology, Zhuhai Maternal and Child Health Care Hospital, Zhuhai, 519001, China)

Corresponding author: LIU Qingming, E-mail:1678026588@qq.com

Abstract Objective: To analyze the hearing assessment characteristics and follow-up of some deafness gene screening homozygous infants in Zhuhai. **Method:** The clinical data of 28 newborns with homozygous mutations transferred to Zhuhai Maternal and Child Health Hospital from Feb. 1, 2015 to Oct. 25, 2018 in hospitals of Zhuhai City were retrospectively analyzed. All the children were screened for hearing. The hearing characteristics and long-term follow-up results of homozygous mutations at different gene sites were analyzed by auditory diagnosis and behavioral follow-up from 1 to 3 years. **Result:** Fourteen cases of GJB2 c.109G>A with a homozygous mutation, 11 cases passed the hearing screening, the audiological diagnosis was normal, and the behavior test and follow-up were normal from 1 to 3 years. Hearing screening was not passed in 3 newborns, mild to moderate abnormalities of single or bilateral ears were diagnosed by audiology, 1 000 Hz without positive, and middle ear lesions were diagnosed. Eight cases of GJB2 c.235del C homozygous mutation were followed up by behavioral audiometry and follow-up from 1 to 3 years after cure. Among them, 5 cases were diagnosed as severe hearing impairment of bilateral ears and 3 cases as mild and moderate hearing impairment. One case of GJB3 547G>A homozygous mutation was followed up for 1-3 years, and all of them failed to pass the follow-up of behavioral audiometry and follow-up. Four cases of SLC26A4 IVS7-2A>G, 1 case of SLC26A4 1229C>T homozygous mutation, all of them failed to pass the neonatal hearing screening. All the patients were diagnosed as severe hearing impairment of binaural hearing, and the follow-up of 1-3 years follow-up did not pass the follow-up tests. **Conclusion:** GJB2 C.235del C, SLC26A4 IVS7-2A>G locus homozygous mutation infant hearing impairment was mainly severe hearing impairment in bilateral ears, and there was no change in 1-3 years follow-up. GJB2 C.109G A homozygous mutant infants had normal hearing, and it was suggested that they should be followed up closely. It is very

^{*}基金项目:珠海市医疗卫生科技计划项目[珠科创函(2019)111号]

¹珠海市妇幼保健院耳鼻咽喉科(广东珠海,519000)

通信作者:刘清明, E-mail:1678026588@qq.com

important to give correct and reasonable genetic counseling to parents with GJB2 C. 109G A homozygous mutation without unnecessary panic.

Key words neonatal hearing screening; deafness gene screening; follow-up investigation

随着新生儿听力和耳聋基因联合筛查开展^[1-4],出现一定比例的耳聋基因筛查纯合突变患儿,这部分患儿听力筛查通过或不通过,听力学诊断异常或正常,对这部分患儿的听力学评估特点和随访情况是这几年遇到的新问题,也给临床医师对上述结果的解读带来困扰。本研究对珠海市妇幼保健院近 4 年来门诊收治珠海市部分医院出生的耳聋基因筛查纯合突变婴幼儿的临床资料、听力学评估和临床随访情况进行分析,结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2015-02—2018-10 珠海市妇幼保健院门诊收治的耳聋基因纯合突变的 28 例新生儿,其中男 15 例,女 13 例,正常新生儿 23 例,定义听力损失高危因素^[5]≥1 条高危新生儿 5 例符合《新生儿听力筛查技术规范》。家属知情同意后,在新生儿出院前进行耳聋易感基因和听力筛查。

1.2 耳聋基因筛查方法

在新生儿出生 1~3 d,采集新生儿足跟末梢血,送深圳华大基因检测中心,应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术对常见 4 个耳聋易感基因的 9~20 个位点进行检测(各单位检测位点略有不同)^[6-8],包括:GJB2(c. 235del C、c. 167del T、c. 35del G、c. 299_300del AT、c. 176_191del 16 bp、c. 109G>A),GJB3(c. 547G>A、c. 538C>T),SLC26A4(IVS7-2A>G、1174A>T、2168A>G、281C>T、1229C>T、589G>A、2027T>A、1226G>A、1975G>C、2162C>T、IVS15+5G>A),线粒体 12SrRNA(1494C>T、1555A>G)。

1.3 听力筛查方法

正常新生儿采用耳声发射法(TEOAE)筛查,高危新生儿采用自动听觉诱发电位(AABR)+耳声发射法(TEOAE)联合筛查。

1.4 听力诊断方法

珠海市妇幼保健院对 28 例耳聋基因纯合突变患儿在 3 月龄进行听觉诱发电位(ABR)、诊断型耳声发射(DPOAE)、1 000 Hz 声导抗和多频稳态诱发电位(ASSR)等系列听力学诊断,若异常 6 月龄再次确诊。应用测听仪进行听力诊断,测试在电屏蔽隔音室进行,记录电极置于前额正中发际处,参考电极置于双侧乳突,地级置于鼻根部,对于不合作的婴幼儿,给予 10% 水合氯醛 0.5 ml/kg 灌肠,耳机为 TIP50 插入式耳机,刺激声为短声,叠加次数为 1024 次,最大刺激声为 97 dB nHL,极间电阻<5 kΩ,常规进行 ABR、DPOAE、1 000 Hz 导抗和

ASSR 测试记录。

1.5 听力学诊断标准

ABR 正常标准为各波潜伏期及波间期无异常,各波波分化良好,重复性好。根据 ABR 气导阈值将听力分为:≤30 dB nHL 为正常;31~50 dB nHL 轻度异常;51~70 dB nHL 中度异常;71~90 dB nHL 重度异常;≥91 dB nHL 极重度异常^[9]。ASSR 正常标准为 500、1 000、2 000 和 4 000 Hz 平均反应阈≤40 dB HL,如果双耳听力损失不同,以听力损失较轻耳计算^[10]。鼓室导抗 6 月龄以下行 1 000 Hz 探测音,鼓室导抗图正峰,峰值>0.1 mm-ho 为正常,其他情况判定为异常;6 个月以上行 226 Hz 探测音,A 曲线为正常,C、B 曲线为异常。

1.6 随访方法

珠海市妇幼保健院对 28 例患儿在 8 月龄、1~3 岁每半年进行 1 次行为测听随访,选用测听仪,测试在本底噪声<30 dB 的隔声室中进行,刺激声为啞音,先建立条件反射,后给予 500、1 000、2 000、4 000 Hz 30 dB 啞音,如果反应灵敏,一次性随访通过。对无反应的患儿采用升 10 dB 降 5 dB 的方法,35 dB 没有反应或反应不灵敏算行为测听不通过,具体测听方法根据受试者的年龄和配合情况选择视觉强化测听或者游戏测听法^[11]。

2 结果

28 例耳聋基因筛查纯合突变新生儿中,GJB2 c. 109G>A 纯合突变 14 例,GJB2 c. 235del C 纯合突变 8 例。GJB3 547G>A 纯合突变 1 例。SLC26A4 IVS7-2A>G 纯合突变 4 例,SLC26A4 1229C>T 纯合突 1 例(表 1)。

表 1 新生儿先天性耳聋基因筛查纯合突变类型和例数

基因	纯合突变位点	例数
GJB2 c.	109G>A	14
	235del C	8
GJB3 c.	547G>A	1
SLC26A4	IVS7-2A>G	4
	1229C>T	1

14 例 GJB2 c. 109G>A 纯合突变患儿中,11 例新生儿听力筛查通过,听力学诊断正常,1~3 年行为测听随访正常;3 例新生儿听力筛查未通过,听力学诊断单或双耳轻中度异常,1 000 Hz 无峰,确诊为中耳病变,治愈后 1~3 年行为测听随访正常(图 1)。

8 例 GJB2 c. 235del C 纯合突变患儿,均未通

过新生儿听力筛查,其中 5 例听力学诊断为双耳听力重度极重度损伤,3 例为双耳轻中度听力损失,随访 1~3 年行为测听随访均未通过(图 2)。

1 例 GJB3 547G>A 纯合突变患儿,新生儿听力筛查通过,听力学诊断正常,随访 1~3 年行为测

听随访通过。4 例 SLC26A4 IVS7-2A>G、1 例 SLC26A4 1229C>T 纯合突变患儿,均未通过新生儿听力筛查,听力学诊断均为双耳听力重度损伤,随访 1~3 年行为测听随访均未通过(图 3)。

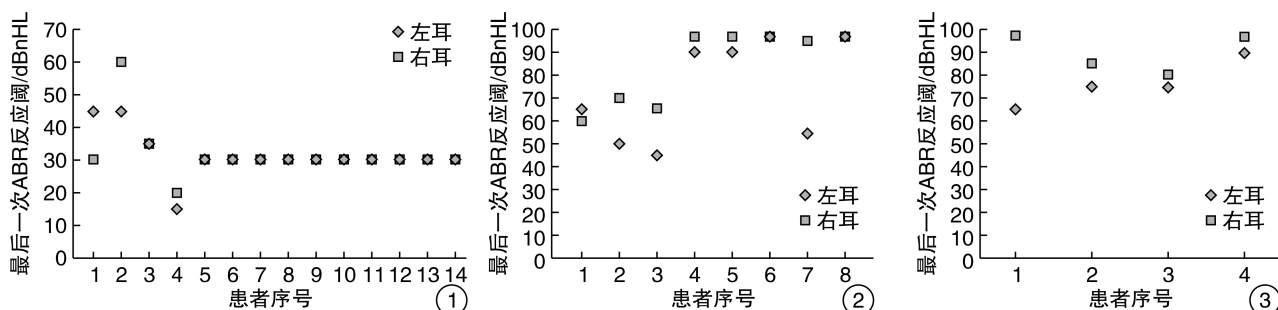


图 1 14 例新生儿先天性聋基因 GJB2 c.109G>A 纯合突变听力诊断情况; 图 2 8 例新生儿先天性聋基因 GJB2 c.235delC 纯合突变听力诊断情况; 图 3 例新生儿先天性聋基因 SLC26A4 IVS7-2A>G 纯合突变听力诊断情况

3 讨论

3.1 GJB2 纯合突变患儿听力评估特点及随访情况

在目前耳聋基因筛查中,GJB2 基因纯合突变是主要的致病原因之一,且大多数突变位于 GJB2 基因的编码区,致聋主要以重度极重度听力损失为主^[12]。本研究发现 GJB2 基因 c.235delC 纯合突变 8 例,其中 5 例为重度极重度耳聋,随访 1~3 年均无改变,患儿均在 1~3 岁,在珠海市残联对口帮扶下转诊到省级定点医疗机构植入电子耳蜗并免费康复;另外 3 例双耳轻中度听力损失患儿均在珠海市残联免费获得助听器救助并康复。c.235delC 纯合突变会导致从第 78 个氨基酸起连续插入 2 个错误氨基酸,并在第 81 个氨基酸提前终止翻译,最终合成一个截短没有生物活性 CX26 蛋白,从而导致重度感音神经性聋。对 GJB2 c.235delC 基因纯合突变患儿随访研究发现,该类患儿均无法恢复,佩戴助听器效果有限,应该尽早通过植入人工耳蜗进行治疗。本研究发现 GJB2 基因 c.109G A 纯合突变 14 例,其中 3 例确诊中耳炎引起听力下降经过治愈后,全部 1~3 年听力随访正常。GJB2 c.109G>A 纯合突变致病性,目前在临床上为携带争议位点。GJB2 基因 c.109G>A 纯合突变所致表型的可变范围较大,且受修饰基因影响^[13]。Huculak 等^[14] 检查了 15 个 GJB2 基因 c.109G>A 纯合突变患者的听力情况,发现他们均有轻中度耳聋,因此他认为该突变可导致聋,只是发病晚,病程慢而已,对该突变相关功能研究也支持上述观点^[15]。GJB2 纯合突变患儿可能在出生时耳聋,也可能是迟发性聋,1~3 岁可以大致正常,以后慢慢出现耳聋症状。本研究中 c.109G>A 纯合突变患

儿 1~3 年未发现听力下降情况,可能是 109G>A 突变暂未致病,或者致病时间晚,建议密切长期随访。同时对有二胎生育计划家庭提供家长给予正确、合理的遗传咨询非常重要,避免引起不必要恐慌。

3.2 GJB3 纯合突变患儿听力评估特点及随访情况

GJB3 基因可以引起常染色体显性或隐性遗传性非综合征性耳聋,该基因是夏家辉教授报道的我国第一个耳聋相关基因,被认为与语后高频听力下降有关^[16]。本次 GJB3 基因纯合突变检出 1 例,c.547 G>A 位点纯合突变患儿 1~3 年听力随访正常,GJB3 基因突变在本次随访中携带率低,建议对该新生儿定期随访,我们在遗传咨询中建议携带者对其听力加以随访。

3.3 SLC26A4 纯合突变患儿听力评估特点及随访情况

SLC26A4 基因属于跨膜阴离子转运蛋白,该基因纯合突变会导致编码蛋白滞留在内质网或不能正确锚定在细胞膜上,影响内耳中内淋巴液的回收循环,造成前庭导水管扩大^[17]。本研究发现 SLC26A4 基因纯合突变 5 例,包括 IVS7-2 A>G 4 例,c.1229 C>T 1 例,均表现为重度耳聋,随访 1~3 年均无改变,患儿均转到珠海市残联获得免费助听器救助并康复,其中 1 例 SLC26A4 IVS7-2 A>G 纯合突变患儿,因为听力进行性加重转诊到省级定点医疗机构植入电子耳蜗。SLC26A4 IVS7-2 A>G 或 c.1229 C>T 纯合突变所致的耳聋,程度重,如果不早期干预可严重影响患儿言语发育,建议尽早助听器或人工耳蜗干预,以免影响患儿语言、心理和社会认知发育。

3.4 重视婴幼儿长期听力随访

婴幼儿行为测听技术能够反映出听觉器官对声音的传导与感知,感觉与运动神经的传导,大脑中枢神经系统对声音的整合以及效应器官的反应等全过程,因此被认为是真正意义上的听力检测。行为测听技术有其独特的优势,有着电生理测听技术不可替代的作用,在临床听力学特别是儿童听力随访、诊断和干预中不可替代作用。

本研究调取近 4 年来“新生儿听力筛查资料管理和随访系统”^[18]里 28 例耳聋基因筛查纯合突变资料完整患儿,给予 8 月龄、1~3 岁患儿每半年 1 次行为测听随访。14 例 GJB2 c.109G A 纯合突变患儿 1~3 年随访中均通过,言语发育正常。GJB2 c.235del C、SLC26A4 IVS7-2 A>G/c.1229 C>T 纯合突变 13 例患儿,1~3 年均未通过行为测听随访,均建议转诊上级医院给予相应的干预措施。本次研究对于耳聋基因筛查纯合突变的患儿随访,例数较少,随访时间短,上述随访结果需要谨慎对待,我们会在以后的工作中密切随访,以了解患儿听力变化情况。在随访中告知家长密切观察患儿在日常生活中的反应,建议定期听力检测和提醒生活中注意事项。同时应该注意和预防婴幼儿生长发育过程中的中耳炎,及时发现及时治疗,保障患儿能够健康成长。

参考文献

- [1] 韩冰,李倩,纵亮,等.新生儿听力及基因联合筛查临床实践及筛查模式研究[J].中华耳科学杂志,2013,11(3):380-383.
- [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,2014,12(3):463-466.
- [3] 李振安,梁淑贞,余凤慈,等.佛山市 10238 例新生儿听力与耳聋易感基因联合筛查分析[J].听力学及言语疾病杂志,2014,22(6):585-588.
- [4] 潘丽,苏文,林道彬,等.珠海地区 9775 例新生儿常见耳聋基因突变筛查结果分析[J].广东医学 2017,38(9):2684-2687.
- [5] Assachusetts Universal Newborn Hearing Screening Program[R]. 2004 Annual Report.
- [6] BROWNSTEIN Z, FRIEDMAN L M, SHAHIN H, et al. Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in Middle Eastern families[J]. Genome Biol, 2011, 12: R89.
- [7] YANG T, WEI X, CHAI Y, et al. Genetic etiology study of the non-syndromic deafness in Chinese Hans by targeted next-generation sequencing[J]. Orphanet J Rare Dis, 2013, 8: 85.
- [8] TEKIN D, YAN D, BADEMCI G, et al. A next-generation sequencing gene panel (MiamiOtoGenes) for comprehensive analysis of deafness genes[J]. Hear Res, 2016, 333: 179-184.
- [9] 黄丽辉,韩德民,刘莎,等.未通过听力筛查的婴幼儿听力追踪分析[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2005, 40(9): 643-646.
- [10] 王海涛,周枫,黄以乐.正常青年人多频稳态听觉诱发反应测试[J].临床耳鼻咽喉科杂志, 2004, 18(1): 30-32.
- [11] JCIH Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs Joint Committee on Infant Hearing. www.asha.org/policy.
- [12] LUCOTTE G, DIÉTERLEN F. The 35delG mutation in the connexin 26 gene (GJB2) associated with congenital deafness: European carrier frequencies and evidence for its origin in ancient Greece[J]. Genet Test, 2005, 9: 20-25.
- [13] HUANG S, HUANG B, WANG G, et al. The Relationship between the p. V37I Mutation in GJB2 and Hearing Phenotypes in Chinese Individuals[J]. PLoS One, 2015, 10: e0129662.
- [14] HUCULAK C, BRUYERE H, NELSON TN, et al. V37I connexin 26 allele in patients with sensorineural hearing loss: evidence of its pathogenicity[J]. Am J Med Genet A, 2006, 140: 2394-2400.
- [15] ABE S, USAMI S, SHINKAWA S, et al. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese[J]. J Med Genet, 2000, 37: 41-43.
- [16] 孙捷,陈俞,张华,等.新疆喀什地区 629 例非综合征型耳聋患者常见耳聋基因调查研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 30(8): 619-622.
- [17] WANG Q J, ZHAO Y L, RAO S Q, et al. Newborn hearing concurrent gene screening can improve care for hearing loss: a study on 14,913 Chinese newborns[J]. Int J Pediatr otorhinolaryngol, 2011, 75: 535-542.
- [18] 刘清明,王山杉,李东英,等.新生儿听力筛查资料管理和随访系统介绍[J].听力学及言语疾病杂志, 2009, 17(1): 15-17.

(收稿日期:2019-03-24)