

综合征性耳聋的诊断与治疗策略*

刘梦婷¹ 张天虹^{1△}

[关键词] 综合征性耳聋;分子诊断技术;治疗
DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2021.03.022
[中图分类号] R764.43 [文献标志码] A

A review of diagnosis and treatment of syndromic hearing loss

Summary Hereditary deafness is divided into syndromic hearing loss and non-syndromic hearing loss according to whether it is accompanied by other system dysfunction. The early identification and diagnosis of syndromic hearing loss is very important, including clinical and molecular diagnosis. Early diagnosis can predict the progress of hearing loss, other systemic disorders and guide treatment. Thus otolaryngologists are likely to become the first doctors to treat children with syndromic hearing loss, it is more necessary to master the clinical and molecular diagnosis methods of common syndromic hearing loss, and cooperate with doctors of other relevant departments for early intervention and treatment. Therefore, this article reviewed the common features, molecular diagnostic methods and treatment strategies for syndromic hearing loss.

Key words syndromic hearing loss; molecular diagnostic techniques; therapy

据 2006 年全国第 2 次残疾人抽样调查结果分析显示,我国共有听力残疾人数 2780 万,占总残疾人数的 33%,已成为仅次于肢体残疾的第 2 大致残原因^[1]。其中遗传是引起耳聋的最主要因素,占 50%~70%^[2]。遗传性耳聋又可根据是否存在其他系统的病变分为综合征性耳聋(syndromic hearing loss,SHL)和非综合征性耳聋,分别占 30%和 70%^[3]。SHL 除具有耳聋的临床表现外,还存在其他器官或系统的异常,临床中比较常见的有视网膜色素变性(Usher 综合征),眼底病变、肾功能减退(Alport 综合征)等,现已报道的 SHL 有 400 余种,大部分 SHL 遗传方式为常染色体显性遗传^[4]。

对 SHL 的早期识别和诊断是非常关键的,其中包括临床诊断和分子诊断。早期诊断可以预测听力损失的进程及其他系统障碍并指导治疗。随着我国新生儿听力筛查体系不断完善,新生儿听力障碍的早期诊断也不断完善^[5]。由于 SHL 除有听力障碍外还伴有其他系统的异常,诊断时还需要其

他相关科室医生的参与,而耳鼻喉科医生很有可能成为接诊 SHL 患儿的首诊医生,因此更需要掌握常见的 SHL 临床诊断及分子诊断方法,并联合其他相关科室对 SHL 患儿进行早期干预及治疗。本文就常见的 SHL 特点、遗传性耳聋分子诊断的常用方法、SHL 的治疗策略 3 个方面进行阐述。

1 常见 SHL

1.1 Waardenburg 综合征

Waardenburg 综合征是最常见的显性遗传性 SHL^[6],约 71% 患者存在感音神经性听力损失(sensorineural hearing loss,SNHL),是 Waardenburg 综合征最常见的临床表现^[7]。除耳聋外,Waardenburg 综合征患者一般还表现为虹膜、皮肤色素分布异常^[6]。根据临床表现不同,Waardenburg 综合征分为四型,其中 SNHL 仍然是其中最常见临床表现(I 型 52.3%,II 型 91.6%,III 型 57.1%,IV 型 83.5%),除此之外,I 型特征性表现为蓝眼睛,白发,内眦外移,鼻根宽阔,并眉;II 型除无内眦外移外与 I 型表现类似;III 型除 I 型表现外还合并颜面、肌肉或骨骼的异常;IV 型除 I 型表现外还合并先天性巨结肠^[8]。现已发现的与 Waardenburg 综合征相关的基因有 6 个,分别为 SOX10、PAX3、MITF、SNAI2、EDNRB 和 EDN3^[9]。

* 基金项目:哈医大一院科研创新基金-留学归国基金(No:2018L008)

¹ 哈尔滨医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科(哈尔滨,150001)

△ 审校者

通信作者:张天虹,E-mail:zth3856@126.com

[37] Adamchic I, Toth T, Hauptmann C, et al. Reversing pathologically increased EEG power by acoustic coordinated reset neuromodulation[J]. Hum Brain Mapp, 2014,35(5):2099-2118.

[38] Engineer ND, Riley JR, Seale JD, et al. Reversing pathological neural activity using targeted plasticity[J]. Nature,2011,470(7332):101-104.

[39] Vanneste S, Martin J, Rennaker RL, 2nd, et al. Pairing sound with vagus nerve stimulation modulates cortical synchrony and phase coherence in tinnitus: An exploratory retrospective study[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 17345.

(收稿日期:2020-02-27)

1.2 鳃耳肾综合征

鳃耳肾综合征(branchio-oto-renal syndrome, BORS)是以听力下降、鳃裂发育异常、肾脏畸形为主要临床特征的 SHL^[8]。BORS 是引起 SHL 的第二大病因,70%~93%的 BORS 患者存在中度、重度 SNHL^[6]。现被普遍认可的 BORS 临床诊断标准由 Chang 等^[10]在 2004 年提出,标准分为主要临床表现(鳃裂瘻管或囊肿、耳聋、耳前瘻管、肾脏畸形)和次要临床表现[外耳异常、中耳畸形、内耳异常、其他:面部不对称和(或)味觉异常]。凡符合至少 3 项主要表现,或有 2 项主要表现加上 2 项次要表现,或有 1 项主要表现加上至少 1 个一级亲属中有 BORS 谱系患者,可在临床上诊断为 BORS。现已发现的与 BORS 相关的耳聋基因有 5 个: EYA1, EYA2, EYA3, SIX1, SIX5, 其中 EYA1 基因突变在 BORS 中最常见,约占 40%,研究表明 EYA1 和 SIX1 基因产物共同作用促进内耳神经细胞的发育,并可诱导神经元干细胞向内耳毛细胞的转化^[11]。

1.3 Pendred 综合征

Pendred 综合征是常见的隐性遗传性 SHL, 主要临床表现为 SNHL 和甲状腺肿大^[12]。Pendred 综合征患者多数存在内耳畸形,其中以前庭导水管开大较为多见^[13],还有一些表现为 Mondini 畸形,即耳蜗只有一圈半的转数。Pendred 综合征患者甲状腺肿大程度可不一,重者可表现为肿大的甲状腺压迫气管而引起重度呼吸困难^[14],普遍认为引起甲状腺肿大的原因是由于甲状腺内碘有机化合障碍导致^[15]。

研究表明,SLA26A4 基因是引起 Pendred 综合征最主要的致病基因。它位于第 7 号染色体,由 21 个外显子组成,编码含有 780 个氨基酸残基的蛋白质 pendrin,而 pendrin 蛋白在甲状腺、内耳和肾脏中高表达^[16],当 pendrin 蛋白合成障碍时会引起相应的症状。

2 SHL 常用分子诊断技术

2.1 连锁分析

连锁分析是单基因病经典研究方法。基因在染色体上是线性排列的,连锁分析是利用不同基因互相连锁成连锁群的原理,即利用被定位的基因与同一染色体上的另一种基因或者遗传标记相连锁从而进行致病基因定位。但连锁分析亦存在一定的局限性,其一是不适用难以分离的小家系的突变定位,其二是连锁分析在染色体上的定位通常是 cM 级别的,即百万个碱基对,其中包含成百上千的基因,不能对疾病进行精准定位^[17]。为了弥补连锁分析的不足,基因芯片技术应运而生。

2.2 基因芯片技术

近年来,基因芯片技术得到了迅猛发展,其不

仅局限于对 DNA 的检测,在非编码 RNA、表达谱、甲基化等领域亦被广泛应用。在遗传性耳聋方面,临床上主要应用寡聚核糖核酸芯片杂交检测法,通过多重 PCR 扩增、芯片杂交和结果扫描 3 个步骤对人群耳聋热点基因进行检测。耳聋基因芯片技术具有通量大、准确性高、成本低等优点而广泛应用于临床。北京博奥生物有限公司和解放军总医院研发的晶芯[®]九项遗传性耳聋基因试剂盒,针对中国人群中 4 个热点耳聋基因的变异: 35delG, 176-191del16, 235delC, 299-300delAT (GJB2); 538C>T (GJB3), 1555A>G; 1494C>T (mtDNA); 2168A>G, IVS7-2A>G (SLC26A4)^[18]。基因芯片技术同样存在不足,它只能对已知的致病基因和位点进行检测,不能发现新突变;同时在不显著增加检测时间和成本的前提下,能检测的突变数量有限。

2.3 Sanger 测序

Sanger 测序又被称为“一代测序”,是在 20 世纪 70 年代末由英国科学家 Frederick Sanger 发明。其原理是利用一种 DNA 聚合酶来延伸结合在待定序列模板上的引物,直到掺入一种荧光标记的双脱氧核苷酸使聚合反应停止,从而得到长短不一的 DNA 片段,最后经过毛细管电泳对 DNA 片段的碱基进行判读。Sanger 测序具有准确度高的优点,但由于其读长短、成本高、通量低等弊端,现已逐渐被高通量测序技术所取代。

2.4 高通量测序技术

高通量测序技术又被称为“下一代”测序技术。它的诞生对人类基因组学具有里程碑式的意义,使人类基因组计划的成本和时间大大缩减,现已在临床和科研中广泛应用。

高通量测序技术平台比较有代表性的是 Roche 公司生产的 454 焦磷酸测序平台、ABI 公司生产的 SOLiD 连续法测序平台和 Illumina 公司生产的 Solexa 合成测序平台。它们各具优势,占据二代测序主要的市场份额。这 3 个测序平台虽然在检测方法上有所差异,但最突出的共性就是同时对几十万到几百万条 DNA 进行序列测定,在短时间内产生极高通量的 DNA 序列数据,较一代测序大大削减了检测时间和检测成本。

虽然外显子组仅占基因组的 1%~2%,但却含有 85%的已知致病突变。相对于整个基因组测序而言,全外显子组测序(whole exome sequencing, WES),即针对全基因组外显子区域 DNA 进行捕获和富集后的高通量测序,是一种更为高效的基因诊断策略^[19]。WES 在耳聋基因诊断和发现新耳聋基因和发现已知耳聋基因新的致病位点方面有着重要价值。我国学者在这方面取得了显著的成绩,2007 年上海交通大学团队利用 WES 和连

锁分析在一中国非综合征耳聋大家系中发现新的耳聋致病基因 DMXL2^[20], 同年上海复旦大学团队等利用 WES 技术发现 Usher 综合征新的致病基因 CEP78^[21]。2013 年王秋菊等利用 WES 和连锁分析的方法在一中国大家系中定位了一个 Y 连锁遗传性耳聋基因^[22], 这是国际上首次发现的 Y-连锁遗传性耳聋, 也是人类遗传学中第一个 Y 连锁遗传性疾病。此外, 应用 WES 至少发现了 43 个遗传性 SHL 或伴有耳聋的复杂性疾病的致病基因^[23]。

3 SHL 的治疗策略与国内外进展

3.1 SHL 的助听器干预

SHL 患者多表现为中度到极重度 SNHL, 对于中度和部分重度耳聋的患者, 助听器补偿有效。但对于无残余听力的极重度耳聋患者则无法从助听器中受益, 需要选择不依赖患者残余听力的人工耳蜗植入手术。

3.2 SHL 的人工耳蜗植入

迄今, 人工耳蜗植入技术是治疗助听器干预无效的重度 SNHL 及极重度 SNHL 里程碑式的进步, 人工耳蜗植入后不仅大大改善了患者的生活质量并很大程度上减轻了患者家庭和社会的负担^[24]。而综合征耳聋的患者一般会有不同程度的内耳畸形并合并其他系统障碍, 使麻醉和手术的挑战增大, 因此术前精准诊断对于 SHL 的人工耳蜗植入十分关键, 必要时术前还要请相关科室会诊评估手术风险^[25]。尽管如此, 已有很多报道显示人工耳蜗植入在 Waardenburg 综合征、Usher 综合征、Pendred 综合征的患者中取得了满意疗效^[26-27]。Van Nierop 等^[28]将 Pendred 综合征患者与仅有前庭水管扩大的患者人工耳蜗植入 1 年和 3 年后言语识别和生活质量等多因素对比, 发现两者没有明显统计学差异。Hoshino 等^[26]研究发现, 对于一些 SHL, 在综合评估麻醉风险的同时人工耳蜗植入年龄越小对患者术后康复越有利。如 Usher 综合征患者同时伴有渐进性视网膜色素变性, 早期患者可以通过手语交流, 随着视力不断减退, 患者的交流更依赖于听力的恢复, 早期的植入会对术后言语康复带来更大益处。

人工耳蜗植入虽能在一定程度上补偿听力, 但却不能从根本上解决毛细胞受损后的恢复和再生问题。对此人们一直在探索能使遗传性耳聋患者听力恢复接近自然水平的方法。耳聋的基因治疗逐渐成为遗传性耳聋的热点话题。

3.3 耳聋的基因治疗与国内外进展

近些年, 随着基因编辑等基因工程技术的发展, 遗传性耳聋的基因治疗已经在动物模型中获得了显著的效果, 其中包括很多 SHL^[29]。

遗传性耳聋中的大部分致聋基因在内耳的发

育、结构和功能中起着关键的作用, 其中一些在动物模型中证实是基因治疗合适的靶点。2012 年, Akil 等^[30]利用腺相关病毒 1 型(AAV1)转运体, 将囊泡谷氨酸转运蛋白 3 (VGLUT3) 转到 VGLUT3 缺乏导致的先天性耳聋小鼠中, 经过两周后发现小鼠的听力有显著的提高, 并发现小鼠内毛细胞突触处有部分形态学的逆转, 此研究证实了通过基因置换可以恢复小鼠听力, 是人类耳聋基因治疗的一个重要进展。2018 年, 哈佛大学 David Liu 教授团队利用 Cas9 蛋白和 sgRNA 在贝多芬老鼠模型的耳蜗里对突变的 Tmc1 Bth 蛋白进行特异性敲除。实验证明, 在注射了 Cas9 蛋白和 sgRNA 的 4 周和 8 周后, 老鼠的听力相比较对照组在很多频率上有保存, 且耳蜗毛细胞亦得到了很大程度的保存^[31]。这个研究为应用基因编辑对遗传性耳聋提供了非常重要的第一步的研究。此外, 经过基因治疗, Whirlin、Ush1c、USH3A 突变小鼠的听力均有一定程度的提高^[32]。

3.4 SHL 基因治疗

首次成功的动物模型耳聋基因治疗是将外源性基因导入缺乏 VGLUT3 小鼠内毛细胞, 使 VGLUT3 在小鼠内毛细胞中持续表达, 小鼠的听力部分恢复并可产生惊吓反应, 该研究的成功为人类耳聋基因治疗带来了希望。

目前, 将上述动物模型中的成功案例转化为治疗人类遗传性耳聋的临床实验尚未开始。然而, 一些针对 SHL 在其他系统中的基因治疗试验已经开始^[19]。如 Usher 综合征, 除先天性耳聋外, 还表现为失明、平衡障碍以及心血管疾病、颅面发育和神经系统疾病, 其中基因治疗在视网膜疾病的治疗已经取得了成功, 患者的视力在逐渐恢复。此外, 基因治疗还在人类血友病 B 中获得了满意的效果, 患者的症状逐渐改善。从这些其他系统的基因治疗中汲取的经验教训, 可为 SHL 基因治疗的设计和 implement 提供参考。新出现的内耳基因治疗领域应注重从其他更先进的基因治疗领域吸取的经验教训^[29, 32]。

综上所述, 遗传是导致耳聋的最主要因素, 其中有一部分表现为 SHL。SHL 有特征性的临床表现需要多学科的协作, 掌握 SHL 的临床特征, 精准检测致聋基因等将有助于预测听力损失的进程和指导耳聋治疗, 其中基因治疗在 SHL 中有良好的前景, 但将动物模型中的成功案例转化为临床应用仍需要更多的科研投入和多学科协作。

参考文献

- [1] 孙喜斌, 魏志云, 于丽玫, 等. 中国听力残疾人群现状 & 致残原因分析[J]. 中华流行病学杂志, 2008, 29(7): 643-646.
- [2] Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening—a

- silent revolution[J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(20): 2151-2164.
- [3] 袁永一,戴朴. 遗传性聋的精准医疗[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(1):1-5.
- [4] 李淑娟,刘晓雯,陈兴健,等. 常见综合征型耳聋临床表型及相关基因研究进展[J]. *中华耳科学杂志*, 2018, 16(3):375-381.
- [5] Wake M, Ching TYC, Wirth K, et al. Population Outcomes of Three Approaches to Detection of Congenital Hearing Loss [J]. *Pediatrics*, 2016, 137(1): e20151722.
- [6] Cohen M, Phillips JA. Genetic approach to evaluation of hearing loss[J]. *Otolaryngol Clin North Am*, 2012, 45(1):25-39.
- [7] Song J, Feng Y, Acke FR, et al. Hearing loss in Waardenburg syndrome; a systematic review[J]. *Clin Genet*, 2016, 89(4):416-425.
- [8] Huang BY, Zdanski C, Castillo M. Pediatric sensorineural hearing loss, part 2: syndromic and acquired causes[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2012, 33(3):399-406.
- [9] Zazo Seco C, Serrão de Castro L, W van Nierop J, et al. Allelic Mutations of KITLG, Encoding KIT Ligand, Cause Asymmetric and Unilateral Hearing Loss and Waardenburg Syndrome Type 2[J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 97(5):647-660.
- [10] Chang EH, Menezes M, Meyer NC, et al. Branchio-oto-renal syndrome: the mutation spectrum in EYA1 and its phenotypic consequences [J]. *Hum Mutat*, 2004, 23(6):582-589.
- [11] Gettelfinger JD, Dahl JP. Syndromic Hearing Loss: A Brief Review of Common Presentations and Genetics [J]. *J Pediatr Genet*, 2018, 7(1):1-8.
- [12] Van Hauwe P, Everett LA, Coucke P, et al. Two frequent missense mutations in Pendred syndrome[J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7(7):1099-1104.
- [13] Fugazzola L, Mannavola D, Cerutti n, et al. Molecular analysis of the Pendred's syndrome gene and magnetic resonance imaging studies of the inner ear are essential for the diagnosis of true Pendred's syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(7):2469-2475.
- [14] Fraser GR. ASSOCIATION OF CONGENITAL DEAFNESS WITH GOITRE (PENDRED'S SYNDROME) A STUDY OF 207 FAMILIES [J]. *Ann Hum Genet*, 1965, 28:201-249.
- [15] Royaux IE, Suzuki K, Mori A, et al. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene(PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(2):839-845.
- [16] Bizhanova A, Kopp P. Genetics and phenomics of Pendred syndrome[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 322(1/2):83-90.
- [17] Duncan E, Brown M, Shore EM. The revolution in human monogenic disease mapping [J]. *Genes (Basel)*, 2014, 5(3):792-803.
- [18] 刘亚兰, 桑树山, 刘学忠. 遗传性聋基因诊断策略进展 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2018, 26(6):666-672.
- [19] Ginn SL, Alexander IE, Edelstein ML, et al. Gene therapy clinical trials worldwide to 2012-an update [J]. *J Gene Med*, 2013, 15(2):65-77.
- [20] Chen DY, Liu XF, Lin XJ, et al. A dominant variant in DMXL2 is linked to nonsyndromic hearing loss [J]. *Genet Med*, 2017, 19(5):553-558.
- [21] Fu Q, Xu M, Chen X, et al. CEP78 is mutated in a distinct type of Usher syndrome [J]. *J Med Genet*, 2017, 54(3):190-195.
- [22] Wang QJ, Xue Y, Zhang Y, et al. Genetic basis of Y-linked hearing impairment [J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 92(2):301-306.
- [23] 王翠翠, 袁慧军. 高通量测序技术在遗传性耳聋研究中的应用及研究进展 [J]. *遗传*, 2017, 39(3):208-219.
- [24] Zaidman-Zait A, Curle D, Jamieson JR, et al. Health-Related Quality of Life Among Young Children With Cochlear Implants and Developmental Disabilities [J]. *Ear Hear*, 2017, 38(4):399-408.
- [25] Eftekharian A, Mahani MH. Jervell and Lange-Nielsen syndrome in cochlear implanted patients: our experience and a review of literature [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2015, 79(9):1544-1547.
- [26] Hoshino ACH, Echegoyen A, et al. Outcomes of Late Implantation in Usher Syndrome Patients [J]. *Int Arch Otorhinolaryngol*, 2017, 21(2):140-143.
- [27] Mey K, Bille M, Cayé-Thomasen P. Cochlear implantation in Pendred syndrome and non-syndromic enlarged vestibular aqueduct-clinical challenges, surgical results, and complications [J]. *Acta Otolaryngol*, 2016, 136(10):1064-1068.
- [28] Van Nierop JWJ, Huinck WJ, Pennings RJE, et al. Patients with Pendred syndrome; is cochlear implantation beneficial? [J]. *Clin Otolaryngol*, 2016, 41(4):386-394.
- [29] 顾湘, 郭维维, 杨仕明. 基因治疗与遗传性耳聋 [J]. *中国听力语言康复科学杂志*, 2019, 17(4):275-279.
- [30] Akil O, Seal RP, Burke K, et al. Restoration of hearing in the VGLUT3 knockout mouse using virally mediated gene therapy [J]. *Neuron*, 2012, 75(2):283-293.
- [31] Gao X, Tao Y, Lamas V, et al. Treatment of autosomal dominant hearing loss by in vivo delivery of genome editing agents [J]. *Nature*, 2018, 553(7687):217-221.
- [32] Ahmed H, Shubina, Holt J. Emerging Gene Therapies for Genetic Hearing Loss [J]. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2017, 18(5):649-670.