

· 临床诊疗圆桌论坛 ·

(编者按:随着现代科学技术的飞速发展,临床诊疗技术和方法不断发展和完善。本专栏的开辟旨在创建一个学术交流平台,针对本学科临床工作中的热点和难点,邀请在相关领域做出大量工作并颇有建树的专家和教授,介绍他们的见解和经验,以飨读者。圆桌论坛为个人意见不具共识性。)

遗传性耳聋临床诊疗研究进展*

Research progress in diagnosis and treatment of hereditary hearing loss

主持人:王秋菊教授 中国人民解放军总医院

特邀专家:(按姓氏笔画排序)

王秋菊	中国人民解放军总医院
王洪阳	中国人民解放军总医院
卢伟	郑州大学第一附属医院
冯永	南华大学附属长沙中心医院
关静	中国人民解放军总医院
孙珊	复旦大学附属眼耳鼻喉科医院
孙宇	华中科技大学同济医学院附属协和医院
刘海红	首都医科大学附属北京儿童医院
刘玉和	首都医科大学附属北京友谊医院
陈晓巍	北京协和医院
李文妍	复旦大学附属眼耳鼻喉科医院
张娇	中国人民解放军总医院
杨涛	上海交通大学医学院附属第九人民医院
梅凌云	中南大学湘雅医院
查定军	第四军医大学西京医院
贺祖宏	武汉大学中南医院
袁慧军	四川大学华西医院罕见病研究院
袁永一	中国人民解放军总医院
柴人杰	东南大学生命科学与技术学院
郭维维	中国人民解放军总医院
索利敏	山西医科大学第二医院
高媛	山东大学生殖医学研究中心
舒易来	复旦大学附属眼耳鼻喉科医院

组稿人:王洪阳、关静、张娇(中国人民解放军总医院)

[关键词] 遗传性耳聋;基因鉴定;三级预防

Key words hereditary hearing loss; genetic identification; third level prevention

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2024.01.002

[中图分类号] R764.43 [文献标志码] C

王秋菊:

随着基因组学研究的不断深入,遗传咨询需求

的不断增多,基因编辑技术的飞速发展,我国耳科学者近年来对遗传性耳聋的致病机制、遗传咨询和临床应用方面取得了许多重要的突破和可喜的进展。为进一步深化遗传性耳聋的最新理念和诊疗模式,我们邀请了国内耳科领域在遗传性耳聋方面

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:82350005、82222016、82271189、82271171、82171130)

通信作者:王秋菊,E-mail:wqcr301@vip.sina.com

引用本文:王秋菊,王洪阳,卢伟,等.遗传性耳聋临床诊疗研究进展[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2024,38(1):8-17. DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2024.01.002.

卓有建树的专家围绕遗传性耳聋临床诊疗研究进展主题,就遗传性耳聋基因鉴定与功能研究、遗传性耳聋临床遗传咨询与报告解读以及遗传性耳聋三级预防临床进展与应用的相关问题进行圆桌讨论,以期为临床科研工作提供前沿的信息和重要的启示。

1 遗传性耳聋基因鉴定与功能研究

袁慧军:

遗传性耳聋致病基因的鉴定,一方面需要以临床病例为切入点,通过高通量基因检测和数据分析,建立明确的基因型表型关联,另一方面要能够在致病机制上证实基因的致病性。已经鉴定的孟德尔遗传耳聋基因有数百个,通过耳聋大队列表型数据和基因检测结果的分析 and 挖掘,可以发现不同基因型与临床表型之间的关联和异质性,从中揭示基因致病性的病理机制,同时也能通过数据积累去伪存真,避免年龄、种族等采样偏倚造成的假阳性结论。基于大数据可以探索新的研究策略,鉴定已知耳聋基因新的突变类型,例如非编码区变异、可移动插入元件等,也能够针对散发病例和小家系等传统遗传学无法解决的研究对象,探索新的研究方法,为新基因的鉴定拓展更广泛的路径。遗传学分析结合高通量体外实验、动物模型数据库、蛋白结构数据库等大数据资源,可以进一步进行复杂的网络分析和通路研究,揭示基因在细胞信号转导和生物通路中的相互作用,充分阐释基因的致病机制。耳聋基因大数据研究能够提供足够的样本量来识别和验证罕见变异的致病性,建立基因型与表型异质性的复杂关联,在此基础上探索耳聋非孟德尔遗传底层机制,揭示老年性聋、噪声性聋等多因素疾病的关键基因和通路。

杨涛:

世界卫生组织最新听力报告显示,新生儿期之后出现的迟发性听力障碍约占中度及以上听力障碍的95%,但其遗传因素的分子流行病学构成尚不明确。既往研究多集中于单基因遗传模式的致病基因探索,如很多显性遗传性耳聋,部分SLC26A4隐性突变病例等。在过去的10余年里,我们研究团队关注到在中国人群中具有较高携带率的GJB2基因p. V37I(c. 109G>A)突变与轻中度及迟发性耳聋具有显著关联,其双等位基因突变(纯合及复合杂合突变,占中国汉族人群的0.5%以上)可导致迟发性耳聋的患病风险提高50余倍。该类型突变具有不完全外显性,携带者呈多样性听力表型,个体差异较大,受遗传及环境因素的综合

影响。我们最新的一项横断面研究显示,85%的p. V37I双等位基因突变携带者在新生儿阶段可通过听力筛查,但后期随年龄增大患轻中度听力障碍的风险会逐步提高,在学龄(7~15岁)、青中年期(20~40岁)、中老年期(40~60岁)和老年期(60~85岁)的外显率分别为9.5%,23.1%,59.4%和80.0%,是我国重要的年龄相关性听力障碍遗传易感因素。

冯永:

耳聋的病因主要包括遗传因素和环境因素,其中约60%与遗传因素有关。导致遗传性耳聋的致病基因众多,遗传异质性强。随着基因诊断技术的发展,耳聋基因检测技术在临床上得到广泛应用,目前使用较多的方法为基因芯片、Sanger测序、二代测序、荧光PCR和反向点杂交等技术。

根据现阶段检测技术的进展、患者的经济条件及临床单位的可操作性,推荐使用梯级遗传分析法进行遗传性耳聋基因诊断。梯级遗传分析法是以表型-基因型及家系分析为核心,分步骤鉴定遗传性耳聋致病基因的诊断流程。具体步骤为:①依据具体表型对耳聋先证者进行临床诊断;如EVA等综合征型耳聋可以通过典型临床表型推测患者致聋基因,直接对患者检测候选致病基因,然后在家系中验证以确定该家系的遗传病因。②如无法从表型推断致病基因,则先进行常见耳聋基因筛查,得到阳性结果的患者在家系中验证,明确致病基因。③对常见耳聋基因筛查阴性患者,再行目标耳聋基因靶向捕获测序检测,如发现候选变异则进一步在家系中验证;如仍未发现致病变异,则通过全外显子测序(必要时结合连锁分析)寻找新的致病基因。随着生物信息学和耳聋基因知识库的不断发展和检测成本的降低,基于高通量测序的已知基因突变的诊断及未知基因的鉴定是今后的发展方向。此外,目前临床上仍有部分患者致病基因未检出,但随着科研工作的不断深入及转录组测序、全基因组测序、三代测序等新技术的应用,这些致病因素终将被发现。

刘玉和:

遗传性耳聋是一组临床表型与基因型都表现为高度异质性的罕见病,同时也是发病率最高的出生缺陷之一。无论是临床诊断、病因分析还是治疗干预与预防,遗传性聋的相关基因鉴定即基因诊断都是十分必要和有效的。随着新一代高通量测序技术的发展和推广、人工智能大数据处理技术的临床应用、以及耳聋相关基因的不断认识,越来越多

的遗传性聋通过基因检测明确了致病基因突变。然而,仍有相当数量的具有显著遗传特征的耳聋家系和高度可疑遗传性聋的患者没能通过目前已有的诊断工具或数据库明确致病基因突变。目前临床基因诊断主要依据美国遗传变异 ACMG 指南确定基因变异的致病性,对于临床意义未明的基因变异,需要深入研究基因变异对基因功能的影响。对基因变异的致病鉴定既包括无义突变、移码突变、剪切突变、错义突变以及基因重排外,也包括 siRNA 以及基因表达调控片段等。对基因变异的功能研究既包含基因表达质与量,也包含基因表达时空和基因调控功能。在研究技术上,随诊生物信息学、分子生物学、蛋白组学等发展,更多的技术手段应用于基因变异的功能研究,同时也需要从果蝇、斑马鱼等低等动物到鼠、猪与猴等高等动物对基因变异的致病性进行验证。另外,对基因变异中目前已认定的 SNP 对耳聋发生风险的影响也值得关注,从而能更好地阐释基因保守性与进化性。总之,临床上应以审慎的态度对待基因变异的致病性结论。

王洪阳:

自上世纪 80 年代以来,聋病的分子遗传病因为学研究取得了巨大进展,140 余个非综合征型耳聋相关基因被鉴定,部分基因的功能和分子机制也得到了详细的诠释,聋病的遗传学研究有效解析了外周听觉系统、耳蜗及其传入听觉神经元发育的分子机制。然而,聋病的遗传图谱有待进一步深入挖掘,目前已鉴定的耳聋基因多为周围听觉系统相关基因,中枢听觉系统遗传机制仍缺乏深入认知,内在听觉中枢缺陷与外周听觉缺陷同时存在时,前者往往被后者掩盖,临床难以区分。由外周性耳聋致病基因编码的蛋白质在中枢听觉系统中发挥直接或内在的作用,其缺陷也导致了内在的中枢听觉障碍。现有超过 34 个基因在调控外周和中枢听觉系统中发挥重要作用,其编码产物从转录因子到离子通道,在听觉系统发挥重要作用,其中 KCNQ4 是第一个被确定在外周听觉系统中起关键作用,并可能参与中枢听觉通路的基因。此外,外周系统听觉障碍可能伴发中枢听觉缺陷,限制了仅针对外周基因进行治疗的效果。迫切需要探索遗传机制在中枢听觉系统的作用,明确相关基因在听觉系统的多效性影响机制,挖掘中枢性听觉障碍的多样性、遗传病因和可能机制。

李文妍:

为了进一步明确新发现耳聋基因的致病性,我们常常需要开展一系列基于细胞和动物模型的基

因功能研究。通过原位杂交或者免疫荧光技术明确该基因或蛋白在内耳发育和听觉形成各阶段的细胞及亚细胞定位,结合已知的内耳基因表达图谱和功能网络,初步判断其可能的功能和信号调控网络,并利用细胞系进行体外验证,在此基础上建立基因敲除/点突变的小鼠模型,重现听力障碍的临床表型,进而明确该耳聋基因的致病性和作用机制。但我们也要意识到现有研究手段的局限性,尽管小鼠的内耳结构以及基因表达谱与人类有很多的相似之处,但是物种之间固有的差异,为动物模型模拟人类疾病带来重要的挑战,近年来人源性内耳微器官的建立有望为耳聋基因的功能研究提供新的可靠模型。

查定军:

临床上中重度听力障碍以上的遗传性耳聋患者主要通过使用助听器和人工耳蜗植入进行听力补偿或重建。但并不能从根本上治疗耳聋。基因治疗是遗传性耳聋最具潜力的治疗方法。开发针对病因的基因治疗方法,研制稳定、安全和高效的基因药物,则有望从基因层面消除和纠正致病因子,从而实现遗传性聋的治疗。随着 *OTOF* 基因递送治疗非综合征型听神经病的临床试验取得突破性进展,基因药将成为下一代药物的重点研究方向。*OTOF* 相关的基因疗法,要点在于以正常的基因弥补缺陷的基因,在内毛细胞中重新表达 *Otoferlin* 蛋白。这是我国学者在国际上率先做出的尝试,一次给药从根本上恢复或改善听力。研发者利用双 AAV 系统,将 *OTOF* 切分为 2 个片段递送进入内毛细胞,在体内利用同源重组实现全长 *OTOF* 表达。是否可以寻找合适的载体,既能突破包装量的限制,同时又具有安全性高和免疫原性低等优势,这将是我们的下一步的研究方向。

郭维维:

近年来大动物模型在遗传性耳聋机制探索方面也取得了突破性进展。在耳科学领域,常用的动物模型啮齿类动物因其体型及内耳体积较小,发育成熟较晚,解剖结构与人类相差甚远,因此阻碍了此动物模型在耳科领域的进一步应用。非人类灵长类动物与人类亲缘关系近,是最好的人类疾病动物模型,但存在实验费用昂贵、实验技术复杂、动物资源匮乏和伦理等问题。因此早在十多年前我就有一个想法,能否寻找到一种适合耳鼻咽喉头颈外科研究的理想动物模型,并建立起中国独有的动物模型体系。经过十几年的不懈努力,我们团队终于取得了突破性进展,在国际上率先提出并通过研究

证实了小型猪是目前耳科疾病和听力学研究的最为理想的实验动物。根据我团队前期研究奠定的基础,我们以小型猪为动物模型开展了各种聋病模型及聋病机制研究,通过噪声暴露方法、化学诱变方法和基因编辑技术构建了小型猪噪声性聋、Mondini 畸形、单侧聋、MITF 突变、大前庭水管综合征等一系列小型猪模型,为研究噪声性耳聋及遗传性耳聋发病机制奠定了基础。

舒易来:

随着测序技术的快速发展和普及,大量致聋基因突变位点被发现和鉴定,然而目前临床尚无治疗遗传性耳聋药物。基因治疗是指将正常功能的基因或有治疗作用的基因通过一定方式导入靶细胞内,以纠正、替代基因缺陷或者异常,实现治疗疾病的方法。因此,基因治疗有望根治遗传性耳聋。在耳聋基因治疗领域中,常用的手段主要包括通过 AAV 介导的基因替换策略,以及基于 CRISPR-Cas9 基因编辑技术的 DNA 敲除、同源重组、DNA 编辑、RNA 敲低、RNA 编辑等策略,以及 ASO 治疗等。OTOF 基因是被研究最多的干预靶点之一。在中国人群中,王秋菊教授团队发现婴幼儿听神经病中 OTOF 突变比例高达 41%。

我们团队以 OTOF 为研究对象,联合多方合作,历经多年探索,开发出我国首款 OTOF 遗传性耳聋基因治疗候选药物,并解决患者内耳精准药物递送问题,成功开展了全球首个取得疗效的遗传性耳聋基因治疗临床试验,现有结果表明药物耐受性和安全性好,患儿听力可得到显著改善,经言语康复后,患者可恢复正常对话和交流。这项研究开启了遗传性耳聋的治疗新时代。随着国内外科研人员 and 临床医生的共同努力,相信将有更多耳聋基因治疗药物被研发出来,可使更多患者受益。

优点:遗传性耳聋现有临床干预手段主要是人工耳蜗、助听器,极大改善了患者的听力。然而,这些干预手段仍不足,包括音乐或噪声环境下感知能力不佳等,另外也并非适用于所有遗传性耳聋。基因治疗是在病因的分子水平对致病基因的纠正,所以理论上治疗后患者可恢复“自然声”。利用腺相关病毒(AAV)载体介导的基因治疗体系,有望实现一次治疗长期有效。另外,鉴于基因药物治疗无需外置机,所以对于患者而言,接受度更高。

不足:尽管基因治疗药物在遗传性耳聋治疗表现出显著疗效,但仍存在许多需要攻克的难题。现已鉴定出超 150 个致聋基因,目前仅 OTOF 靶点的基因治疗药物初步成功。GJB2、SLC26A4、TMC1 等常见致聋基因的药物仍需研发。现有基

因治疗药物研发、生产等投入成本巨大、周期长,有限的患者人群限制了药物的研发,因此,需要产学研、医保以及各项政策等国家和社会各方面力量一道努力,共同推进遗传性耳聋等治疗药物的研发和落地。

未来发展:基因治疗药物是一个复杂的体系,其包括基因递送载体、转基因、启动子等核心元件,每个元件都与疗效、安全性密切相关。AAV 是目前内耳基因治疗最常用的递送载体,多个血清型及变体可高效感染毛细胞,高效感染其他细胞的载体仍有限,且其特异性有待提高。启动子是影响转基因表达量及特异性的关键因素,内耳特异性启动子的开发是当下的研发重点。明确致聋基因的功能及致病机制,是开发合适、高效的基因治疗策略的基础,但现有致聋基因的分子机制研究仍不足。现有内耳基因治疗策略主要包括基因置换及基因编辑治疗策略,其中基因置换策略主要适用于隐性遗传性耳聋或单倍剂量不足的显性遗传性耳聋。基因编辑在显性遗传性耳聋治疗上具有优势,如何提升基因编辑工具在内耳细胞中的纠正效率、降低脱靶是未来需要解决的难题。靶向的细胞存活是基因治疗药物发挥疗效的基础,倘若毛细胞丢失了,基因治疗策略难以纠正,因此干细胞、毛细胞再生等细胞治疗策略也是耳聋生物治疗领域的重点,某些耳聋可能要结合毛细胞再生及基因治疗共同作用,才能实现听力纠正。另外,由于内耳组织结构复杂且所处位置较深,建立安全、有效的规范化基因治疗给药术式也是研究重点。最后,尽管遗传性耳聋基因治疗研究领域仍有很多问题亟需解决,相信随着生命科学技术以及对耳聋发病机制的不断深入了解,基因治疗将在耳聋药物治疗领域中发挥越来越重要的作用,期待基因治疗药物惠及更多患者。

柴人杰:

绝大多数遗传性听力障碍与基因结构或功能障碍导致的内耳发育异常有关。对受损的细胞进行基因修复或再生替代是治疗遗传性耳聋的潜在方法。基因治疗是实现两种治疗的方法学基础。约 70% 的遗传性耳聋患者为非综合征型,适于进行基因治疗。大多数遗传性耳聋基因表达于毛细胞、支持细胞和血管纹等。基因替代是最常见的基因疗法,已被广泛应用于治疗隐性遗传性耳聋的研究中。此外还有基因抑制、基因编辑等方法。在进行治疗的研究时,要充分考虑所有载体的类型、特异性、安全性、有效性、容量等限制因素,也要关注治疗的时间窗和效果。基于内耳干细胞的再生医

学是治疗耳聋的另一种潜在方法。内耳干细胞的发现开启了毛细胞再生的研究。目前,如何实现原位功能性毛细胞再生一直是领域的研究重点和难点。建立内耳发育的时空基因表达谱能为功能性毛细胞再生提供线索。毛细胞再生受多种信号调控,多基因协同调控是使之功能性再生的一种方式,如小分子药物的鸡尾酒疗法和 AAV 基因治疗联用这种将毛细胞再生与基因治疗结合的方法,是目前的研究热点。相信随着新的信号分子组合策略的开发,加之递送技术的日益成熟,二者可能最终实现完美结合,内耳干细胞再生医学会有更为广泛的应用前景。

2 遗传性耳聋临床遗传咨询与报告解读

王秋菊:

耳聋遗传咨询是一个包含病史采集、遗传检测、遗传诊断、结果解读,明确疾病诊断、给予治疗和预后的评估和建议、预测遗传风险、提供适当建议和必要的社会心理支持的交流沟通过程。目前高通量测序技术和高通量微阵列技术的发展及基因检测成本降低,已逐渐成为聋病遗传诊断和风险预测性筛查的重要工具。正确的基因检测报告是进行遗传咨询的基础,而正确的检测报告来自于可靠的数据分析。但与传统医疗报告相比,基因检测结果复杂且难以理解,没有适当的遗传咨询可能会给受检者带来极大的困惑。目前基因检测报告中对于检测到的相关变异是以“致病”、“可疑致病”、“意义不明确”、“可能良性”、“良性”等五类分级描述。对于能够明确致病性诊断的病例,临床医生尽量用通俗易懂的语言进行遗传咨询,针对受检者基因报告提供准确的解释及相关疾病知识的科普。对于接诊耳聋遗传咨询的临床医生,作为解读咨询者基因密码的专业人员,应具备遗传学的专业知识并接受遗传咨询的专业培训,了解检测方法及其局限性、知晓预期结果和可能的风险,并知悉数据及样本相关处理等内容。遗传咨询过程重点应该围绕受检者基因型是否可以明确解释表型、携带的致病基因的遗传模式、生育子代发生疾病风险及是否存在其他系统受累的可能、疾病相关的研究进展、必要的预防性措施及预后情况,给予随访观察计划等咨询建议。

关静:

遗传咨询在耳聋的病因学诊断与决策中起到越来越重要的作用,医生对于基因检测报告的准确解读和合理性分析是临床决策的关键。但随着高通量基因测序技术覆盖的基因数目增加,检测发现

基因的新变异越来越多,且部分新变异与疾病的相关性还缺乏足够的文献及生物信息数据库支持,从而也为开展聋病遗传咨询带来挑战。美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)制定了关于序列变异解读的系列指南,也为聋病基因诊断和遗传咨询提供了重要的依据。在进行基因检测结果解读时,对于基因报告中列出的变异为“致病”,通常表明受检者的临床信息(包括家族史、遗传方式等)与变异基因相关的疾病表型高度相符,或是已有该变异致病性的相关报道。致病性变异具有较明确的临床指导意义,因此可以根据该基因变异的相关遗传模式及表型特征来开展聋病遗传咨询工作。对于“疑似致病变异”,通常是用来说明一个具有大于 90% 可能引起致病的变异,是要求有较强的致病证据,这类变异可能有助于解释临床,或是具有潜在临床指导意义的变异。但要确定检出的变异是致病性之前,需要将全部的证据汇集在一起,包括所有已报道的案例分析,最后谨慎得出分类结论。对于基因检测报告中的“意义不明确”、“可能良性”、“良性”变异等不宜用于临床决策。

卢伟:

遗传性耳聋可以影响到各个年龄段的人群,也受到环境因素和修饰基因的影响。基因检测已经广泛应用于语前聋患儿,但在轻中度的听力损失,特别是迟发性、渐进性的听力损失中,往往未受重视。随着耳聋遗传学研究的进展,对于病因不明的成年耳聋患者进行基因检测显得非常重要,明确病因诊断,基于潜在的病理生理学基础进行预后判断,有助于制订最优化的康复治疗策略。对于一时未明确病因的病例,要重视数据的重新分析,不能贸然否认遗传问题。随着基因检测范围的扩大及新的耳聋基因的报道,需要定期对未明确诊断病例的数据进行重分析,以期能对患者进行明确的分子诊断。有 1 例以高频听力损失为主诉的患者,当时基因检测报告为阴性,近期我们要求检测机构重新分析,发现了一个新的 *ATP2B2* 基因变异,经家系验证后为新发变异,患者表型与之前的病例报道基本一致。明确的分子诊断为先证者父母的再生育指导提供了依据。要重视耳聋患者基因检测前及检测后表型的完善,不能“只见树木,不见森林”。部分综合征型耳聋患者常以听力下降为主诉,其他特征比较隐匿。应根据基因检测发现的疑似致病基因,及时完善相关临床检查。1 例以听力下降为主诉的患者经全外显子组测序后,疑似为 *LARS2* 基因复合杂合变异导致的 Perrault 综合征,后经临床检查确定有卵巢早衰表现,确诊为 Perrault 综合

征 4 型。由此可见,基因诊断和遗传咨询在临床医学诊断中的重要性。

梅凌云:

遗传咨询是联合人类基因组技术和人类遗传学知识,为人类开展遗传咨询、基因诊断、遗传病治疗等相关医学服务和常规的健康服务。开展遗传性耳聋遗传咨询的人员,除了应具有国家认证的医师资格证书和执业证书,并接受过耳聋基因筛查与诊断相关理论知识的培训的临床医师之外,还应是具备医学遗传学或临床遗传学专业背景的遗传咨询从业者,与临床医师配合针对检测结果进行解读并对患者进行遗传咨询。目前我国医疗机构的耳聋遗传咨询工作由临床医生担任,没有专业的遗传咨询师。应当加强医学遗传学专业队伍的建设,开放遗传咨询联合门诊,建立规范化、程序化的遗传咨询流程。对于检测报告的解读,坚持严谨的态度,避免简单的肯定诊断和泛化的解读,避免把变异粗暴地解读为突变,尤其是面对散发病例时。我们要明确耳聋致病基因与疾病相关性时,应结合家系共分离证据进行分析。无论相关性是“Strong”还是“Moderate”,要明确基因变异,特别是隐性致病基因的复合杂合变异是否是真正的致病变异,都应有家系共分离的证据,至少应有变异分别来自父母亲的共分离证据。此外,报告内容中应包含所使用的检测方法的局限性,比如,说明“本检测不能排除上述基因其他位点的基因突变和其他耳聋基因的基因突变”等。

贺祖宏:

遗传性耳聋是人类常见的出生缺陷之一,中国约有 3000 万耳聋患者,其中 50% 以上是由遗传因素引起的。中国遗传性耳聋热点基因筛查项目基本上是以汉族为重点设计的,然而少数民族的好发基因筛查也需要提起重视。例如新疆维吾尔族 GJB2 35delG 突变携带率明显高于汉族,东乡族 GJB2 c. 299_300delAT 频率明显高于汉族,藏族 GJB2 c. 235delC 和 c. 109 G > A 为突变热点,黔东南州少数民族地区新生儿则主要为 GJB2 235delC 和 c. 299_300delAT、SLC26A4 IVS7 - 2A>G、GJB3 538C>T 和 547G>A 位点突变。另外,常染色体显性非综合征性听力损失(ADNSHL)与相关基因特异性有密切关系。近期有研究对 2175 例 KCNQ4、GSDME、WFS1、COCH 基因相关的 ADNSHL 的 5 年听力追踪数据进行了分析,发现 KCNQ4 相关的听力年平均恶化率为 0.72 dB/年,在 45~50 岁时恶化最明显;GSDME 相关

的听力年平均恶化率为 0.94 dB/年,在 5~10 岁时恶化最明显;WFS1 相关的听力年平均恶化率为 0.53 dB/年,在 40~45 岁时恶化最明显;COCH 相关的听力年平均恶化率为 1.41 dB/年,在 50~55 岁时恶化最明显。明确相关基因导致听力快速下降的年龄段有助于疾病管理和治疗策略的适时制定。因此,需建立针对少数迟发性耳聋患者的听力档案,并注意避免外伤、剧烈运动及耳毒性药物的使用,从而延缓或避免其耳聋的发生。与此同时,一些新的方法如 AlphaFold2 可从蛋白质结构层面对耳聋基因突变的致病性进行预测,在耳聋的早期诊断及防治中体现了重要的医学价值。在迟发遗传性耳聋的诊断和听力损失症状出现之间存在较长的窗口期,因此早期诊断和预防性治疗显得至关重要。研究表明,基因治疗或许是遗传性耳聋的有效治疗办法,目前已有多种基因治疗的策略被制定并部分应用于临床。近年来,中国学者的相关研究成果引人注目,说明遗传性耳聋的预防性治疗有着巨大的潜力待发掘,同时也提示我们应加快推进和深入开展耳聋遗传学咨询、产前诊断和个体化医学干预等相关工作和研究。

孙珊:

临床遗传咨询可以帮助患者选择检测方法、理解检测结果并制定健康管理方案。遗传性聋具有高度的基因异质性和表型异质性,这两个特征为其临床遗传咨询带来了挑战。60% 以上的语前聋病例是遗传因素导致的。这些病例大多数都是非综合征型聋,这意味着听力损失是基因突变的唯一影响。然而,小部分患者是综合征型聋,这意味着听力损失只是基突变的一个影响,患者还可能还有其他系统,如眼、心脏、肾脏等部位的疾病。即使对非综合征型聋,患者的表型差异也包括发病年龄、进展快慢、影响的频率、前庭受累、内耳形态等。这就要求临床医生/遗传咨询师详细了解患者多个方面的临床表现,综合考虑多系统疾病的可能,必要时还可以进行多学科联合会诊或转诊至其他科室。目前已知的非综合征型聋基因超过 100 个,据推测综合征型聋基因超过 300 个。每个耳聋基因都有与之对应的遗传模式、突变特点和致病机制,且部分基因可表现出多种遗传模式,或导致多种疾病(如既导致非综合征型聋,也导致综合征型聋;既有隐性遗传突变,也有显性遗传突变)。因此,在临床遗传咨询需要熟悉各种遗传模式的代际传递特点,对于患者的听力进展和可能的其他系统疾病做出预测和解释,定期复查并及早干预。另外,大多数出生时患有听力损失的患儿父母听力正常,并且没

有听力损失家族史。所以对于遗传知识的科普可以消除困惑,减轻患者的羞耻和负罪感。

索利敏:

在进行临床咨询与报告解读时,一定注意严格一医一患,保护患者隐私,双方建立互信关系,确保遗传咨询顺利进行。收集受检者临床信息尽量完善。在进行基因检测时,确定受检者的年龄、性别、发病年龄、具体症状、详细家族史等相关信息,必要时可收集受检者父母及其他亲属样本进行家系测序分析,以便获取更详实的检测结果,更准确地进行数据分析与临床咨询。分析测序数据分析要全面,采用多重方法多角度评估突变位点与受检者症状之间的关系,同时要考虑到遗传方式、外显率、遗传异质性、受检者人种、民族等因素的影响,方能给出一个全面而准确的咨询。将检测结果与受检者及其亲属进行沟通交流,解答有关遗传问题的疑问,并给予适当的建议和指导,帮助他们更好地理解 and 应对检查结果及后续的治疗和随访。需要注意的是,基因检测并不是 100% 准确的,受到技术限制和个体差异等因素的影响,结果可能存在一定的误差。因此,必须全面考虑并综合判断,并建立随访。进行遗传咨询的医生是代表团队进行工作,既要关注各个环节的质量控制和科学规范,又要做好对受检者及其家人的支持和服务工作,还要注意加强学习,更新知识,才能保证工作成果的可靠性和有效性。

袁永一:

针对检测报告的遗传咨询,需要咨询师充分了解检测者的表型,结合报告内容做出明确的遗传性耳聋诊断,或明确受检者是否为耳聋基因变异携带者或线粒体遗传相关药物性耳聋敏感个体,或明确受检者表型与遗传无相关性。进一步,根据做出的基因诊断对患者的病情预后发展等进行评估,制定治疗及随访观察计划;根据遗传规律评估先证者的下一代的耳聋风险、先证者父母的再生育风险,并进行相应的再生育指导;评估家族内其他成员的患病或携带风险;告知咨询者疾病的研究进展信息;必要时还要对患者和家属提供心理干预或社会救助资源和渠道。报告中的意外发现和次要发现,虽然一方面为检测者提供了有用的遗传信息,但同时也会不同程度地增加受检者的精神压力和心理负担,因此,咨询师要考虑相关基因致病的严重性、外显率、可及的治疗模式对患者的影响和/或负担、对其筛查的可实施性等,谨慎传递咨询信息。目前已知的多数遗传性耳聋致病基因突变表现为典型的

单基因病,传递方式遵循孟德尔遗传定律,具有相对固定的基因型—表型对应关系和较高的临床表型外显率。需要注意的是,以 GJB2 基因 p. V37I (c. 109G>A) 隐性突变为代表的部分耳聋遗传易感性基因型虽可导致以轻中度为主的听力障碍,但具有明显的不完全外显性,建议相关耳聋遗传咨询与其他案例有所区别。此外,在极少数情况下,同一遗传性耳聋患者可携带多个耳聋基因的致病变异,即由多个致病原因致聋,针对仅包含常见耳聋基因的检测报告进行遗传咨询时,要考虑到因检测和报告的信息不充足导致遗传病因分析不全面的可能。

3 遗传性耳聋三级预防临床进展与应用

高媛:

耳聋一级预防能将遗传性耳聋的预防提前至生育前,可从根本上阻断遗传性耳聋的发生,成功的一级预防具有明显的社会效益。目前,遗传性耳聋的一级预防主要有以下进展和应用:①正常人群和高危人群耳聋基因筛查及遗传咨询。②胚胎植入前遗传学检测 (preimplantation genetic testing, PGT)。PGT 是一项先进的生殖医学技术,可以在胚胎植入子宫之前对胚胎进行遗传学检测,选择未见异常的胚胎移植入宫腔,从而有效减少遗传性疾病的发生。针对耳聋的致病变异类型,PGT 可以采用不同的相关技术进行检测和筛查。目前,已有 GJB2、SLC26A4、OTOF 等多个耳聋致病基因的胚胎植入前遗传学检测成功案例报道,同时,大多数生殖中心可实现 PGT 检测耳聋致病基因的同时,完成胚胎的染色体非整倍体检测,可避免或减少因染色体非整倍体造成的妊娠失败、早期流产及染色体非整倍体患儿的出生。而线粒体变异所引发的耳聋的 PGT 也已在临床有所探索,比如常规 PGT 基础上,选择线粒体变异负荷更低的胚胎植入;而核质转换技术从技术层面上来讲已不存在障碍,只是在伦理方面还需要政策层面的准入。

另外,随着技术的不断进步,一些新兴的遗传学检测技术也逐渐应用于 PGT 领域。例如,三代测序技术可以实现对胚胎基因组的全面测序,包括染色体缺失、重复、倒位、平衡易位等结构变异导致的耳聋,这类结构异常是目前常规高通量测序技术所不能很好覆盖的变异。三代测序技术如 Nano-Pore、PacBio 及 BioNano 的 OGM 则可以更全面地检测上述变异的遗传信息,为 PGT 的筛查和选择提供更多的可靠依据。此外,作为一种新兴的 PGT 技术,一体化 PGT 可以在一次检测中完成染色体非整倍体、单基因的单碱基变异、染色体结构变异等多种变异类型的检测,可以提高复杂类型

PGT 的效率和成功率,如单碱基变异合并染色体平衡易位的耳聋家系可以考虑使用一体化 PGT 技术进行胚胎筛选,既降低了成本又缩短了检测周期的时长,是不错的选择。

随着技术的不断进步和研究的深入,包括遗传性耳聋在内的越来越多的遗传性疾病的一级预防均可通过胚胎植入学遗传检测阻断垂直传递,相信 PGT 技术将在未来为耳聋的预防做出更大的贡献。然而,新技术的应用和推广仍面临一些挑战和争议,需要在技术应用的同时,加强伦理和法律规范,确保技术的合理和可持续发展。

关静:

遗传性耳聋是来自父母的遗传物质传递给后代引起的听力损失,是耳聋发生的常见病因。胚胎植入前遗传学检测(PGT)成为实现遗传性耳聋出生缺陷一级预防的有效手段。2015 年王秋菊教授与陈子江教授联合将产前基因诊断、妊娠期外周血筛查及新生儿听力筛查的三级防控融入围产保健,首次实现孕前阻断 *GJB2* 基因突变导致的极重度耳聋垂直传递的一级预防,诞生了我国首例遗传性耳聋基因阻断的听力正常试管婴儿,建立了可复制的孕前阻断遗传性耳聋的技术流程和模式。目前遗传性耳聋 PGT 主要应用于曾经生育过聋儿的常染色体隐性遗传家庭,因此在接受 PGT 家庭中必然存在女方生育高龄(>35 岁)的常见临床特征。如果女方生育高龄,由于卵巢储备逐渐下降、对外源性促性腺激素的反应能力下降、获卵数目减少、卵母细胞质量(如非整倍体、染色体异常等)下降、优质胚胎率下降等原因,导致 PGT 过程中失败风险高。此外,在进入 PGT 周期中还存在遗传物质扩增失败、等位基因脱扣(Allele drop-out, ADO)和胚胎嵌合等问题,这些问题的存在也影响基因诊断的准确性和植入胚胎的选择。

已有数据表明耳聋 PGT 的临床妊娠率约为 64%,因此临床科研中还需要探索新的胚胎评估手段以实现最佳植入胚胎的选择。总之,在遗传性耳聋中应用 PGT 技术是一个系统工作,需要多学科协作,更需要家庭的充分信任和积极配合,最终实现遗传性出生缺陷的孕前主动预防。

舒易来:

为预防聋儿出生,在孕期进行的耳聋基因筛查和产前诊断属于二级预防的范畴,从而实现耳聋防控关口前移。目前二级预防以耳聋高危家庭为重点人群,主要分为孕期夫妇耳聋基因筛查和产前诊断。对于隐性遗传方式的耳聋,若通过筛查发现夫

妇双方携带同一耳聋致病基因的变异时,胎儿有 25% 的概率会发生耳聋,可进一步通过产前诊断有效减少耳聋患儿的出生。由于孕期筛查周期较长可能会影响产前诊断的最佳孕周,以及易引起孕妇焦虑等心理状态,因此,目前针对普通人群的孕期耳聋基因筛查尚未在全国范围内大规模开展。

产前诊断主要为明确致病基因的先证者家庭对胎儿进行遗传学诊断并预测胎儿未来听力表型和发展趋势。选择产前诊断前需明确胎儿父母的基因型,且变异经过遗传学评估为致病或可能致病的等级。目前侵入性产前诊断为“金标准”,即在适当的孕周通过穿刺取材绒毛(孕 11~13⁺⁶周)、羊水(孕 18~23⁺⁶周)或脐血(孕≥24 周),使用测序等技术明确胎儿基因型。但该技术存在一定的流产和感染风险。近些年,无创产前检测技术诊断单基因病的方法逐渐应用于临床。该技术通过单倍型分析等对孕妇外周血中胎儿游离 DNA 进行检测和分析,可将检测时期提前至怀孕 7 周左右,且因其无创的取材方式可避免因侵入性技术引起的流产等风险,降低孕妇的心理负担。该技术目前仅对 *GJB2* 和 *SLC26A4* 等少数耳聋基因开展临床检测。随着无创诊断准确性逐步提高,其在耳聋预防中将具有极大前景。此外,部分综合征型耳聋在孕期也可借助产前超声等影像学技术提高诊断率。

遗传咨询在二级预防中至关重要。产前筛查和诊断过程中,根据基因和变异情况提供可行的方案供有生育耳聋后代风险的家庭知情选择,对于临床意义不明的变异应进行详细的评估及风险告知。此外,除了提供合理的遗传咨询和指导外,还应关注孕妇的心理状态。根据二级预防策略,结合产前诊断和遗传咨询,将遗传性耳聋的诊断提前至胎后期,减少耳聋患儿的出生,可有效降低我国聋病发生率。

陈晓巍:

耳聋在全球范围内均是最为常见的感觉障碍性疾病。听力损失未经干预将会影响患儿的听觉感知、言语发育和正常社会角色的扮演,并给家庭和社会带来沉重的经济负担。遗传性耳聋是耳聋最为常见的病因,随着临床基因检测技术的发展,60% 的耳聋患者可以明确其分子病因。我国遗传性耳聋的三级预防体系已建设完善,二级防控具体工作目标为孕期减少缺陷儿出生率,工作内容主要包括产前耳聋基因筛查、产前诊断。

有婚配生育需求的听力正常个体及有耳聋家族史者可选择在孕早期进行耳聋基因筛查(婚前孕前的耳聋基因检测也非常推荐)。夫妻可同时或依次进行筛查。以产科进行常规产检的孕妇举例,如

经检测明确其为常染色体隐性遗传耳聋基因致病变异携带者,建议其配偶尽早进行相关基因诊断;如夫妻双方基因型冲突(携带有同一隐性遗传基因上相同/不同致病变异),后代有 25% 的概率为致聋基因型从而出现不用程度的听力损失。这种情况下,要经过专业遗传咨询,在充分了解该遗传性耳聋临床表现、现有诊疗体系及治疗效果后考虑最适合家庭的生育选择,如自然孕产程关注新生儿听力,如有异常应积极助听从而保障听觉感知和言语发育与同龄儿持平;或夫妻双方知情同意前提下,也可考虑产前诊断或胚胎植入前诊断。

需特别提请关注的是针对个别表型差异度较大、外显程度不同(如 *GJB2* 基因 p. V37I)或高通量测序获得的临床意义不明变异(VUS)需要更为个性化的遗传咨询,是否产前诊断要更为谨慎,必要时可考虑选择没有疾病相关基因型的胚胎移植入子宫,即使用范围更广、避免终止妊娠风险的胚胎植入前诊断。此外,如孕妇夫妻有耳聋患者,或有明确的耳聋家族史,建议进行更为全面的耳聋基因诊断,以防止家族内致聋基因未能被常规筛查检测范围覆盖从而无法科学全面地评估生育风险。

目前国内遗传性耳聋二级预防手段已广泛应用,在耳鼻喉科、产科、检测团队、临床咨询团队以及科普工作者的共同努力下,必将服务于更大的群体,真正助力于我国出生缺陷的防控大计。

张娇:

耳聋三级预防体系的建立与实践是耳聋防控的关键。孕期耳聋基因筛查作为二级预防的重要环节,曾面临过孕期筛查时间紧,结果解读需求精,孕妇家庭期望高,干预手段有限等难题。但是将耳聋预防关口前移,在孕期进行常见耳聋基因筛查,结合遗传咨询和产前诊断,是减少耳聋出生缺陷的重要举措。因此,为规范和推广孕期耳聋基因筛查的临床实践,由解放军总医院王秋菊教授牵头成立了《孕期耳聋基因筛查专家共识》专家组,与河北省卫生健康委员会、中国医疗保健国际交流促进会耳内科分会以及我国遗传学、检验医学、产科、产前诊断、耳科、生殖医学、儿科及医学伦理等相关领域专家,共同制定了《孕期耳聋基因筛查专家共识》。随后,以解放军总医院王秋菊教授为首席专家的河北省孕妇耳聋基因免费筛查项目技术专家组经过多轮反复论证讨论,制定了《河北省孕妇耳聋基因免费筛查项目实施方案》和《河北省孕妇耳聋基因免费筛查项目技术规范》。由此,在前期充分酝酿和综合能力富集及准备的基础上,2019年9月河北省启动了全国第一个以全省联动模式开展的孕妇

耳聋基因免费筛查民生项目。项目以人民政府牵头,多部门协调参与,从总体规划、实施方案、实施流程、组织协调、技术保障、资金投入、督查考核、数据管理、随访调查等各个方面快速推进。该项目覆盖了全省 11 个地市,173 个项目县,所有参与机构均采用统一流程开展规模化免费筛查工作,目前已完成 1 152 273 例次筛查,发现 68 262 例携带者,并给予相应的遗传咨询指导,使项目转诊率及遗传咨询率达到 62.00%。同时开展了河北省孕期耳聋基因筛查项目满意度调查,发现项目整体孕妇满意度达 99.52%。该项目率先建立了以政府为主导、专家组指导技术下沉、大数据支撑优化的覆盖全省的耳聋基因筛查新模式,也为其他地区开展大规模大范围协同联动的耳聋二级预防工作提供了可资借鉴的“河北模式”。

新生儿听力筛查作为耳聋三级预防的重要环节,于 1999 年开始纳入我国妇幼保健的常规检查项目,在早期发现耳聋方面取得了很好的成效。然而,随着筛查工作的广泛开展和临床经验的积累,逐渐发现单纯听力筛查不能发现迟发型遗传性耳聋和有缺陷基因的新生儿。基于对国内外广泛开展的新生儿听力筛查的结果与现状的研究与分析,2007 年解放军总医院王秋菊教授建议在广泛的新生儿听力筛查的基础上融入聋病易感基因分子水平筛查,提出“新生儿听力与基因联合筛查”的双筛理念与模式,基于百万新生儿的联合实践证实了新生儿听力与基因联合筛查较单纯的新生儿听力筛查具有明显的优势。目前基于 300 万新生儿听力与基因联合筛查数据的研究发现耳聋基因变异在世界不同人群中具有明显的等位基因频率差异,且具有一定的种族特异性,为未来适合不同种族人群的优势筛查策略提供了理论依据。自 2007 年新生儿听力与基因联合筛查理念的提出与实践以来,我国以北京、天津为代表的多个省市在应用新生儿听力与基因联合筛查技术实现听力障碍的早期发现领域做出大量成绩,为耳聋精准防控提供了重要的理论和实践依据。未来,随着基因组学研究的不断深入,测序技术的不断提升,基于扩大的个性化的耳聋基因筛查 panel 的新生儿听力与基因联合筛查的研究将进一步提高聋病的筛查效能,助力耳聋的早期防控,在健康中国行动的道路上,做出更多的贡献。

刘海红:

近年来分子诊断技术的发展和运用,使得遗传性耳聋的精准诊治及遗传咨询取得了突破性进展,推进了聋病三级防控体系的建设和实施。全外显

子组测序(Whole-Exome Sequencing, WES)是其中一项重要技术,是应用目标序列捕获技术将全基因组的外显子区域捕获富集后进行高通量测序。人类拥有约18万个外显子(蛋白质编码序列),外显子组序列约占全基因组序列的1%,高达85%的疾病相关变异位于外显子区。因此,与全基因组测序相比,WES只需针对外显子组区域进行测序,具有覆盖度更深、通量更高、准确性更好的优势,更为经济高效。为极端异质性遗传病例如遗传性耳聋及耳聋综合症的基因检测提供了前所未有的机会。

首都医科大学附属北京儿童医院对59例诊断为感音神经性听力损失的儿童小家系开展基于WES的分子病因学诊断,其中31例明确了致病基因,病因诊断率达到52.54%;①GJB2和SLC26A4基因突变分别12例,占到全部先证者的40.68%(24/59,40.68%);②GJB2基因c.148G>A变异和GATA3基因c.1327delA变异各1例,上述变异在人群中的频率极低;③HARS2、USH2A、MITF基因突变各1例,MYO15A基因突变2例;④28例未检出与临床表型(部分)相关/可能致病的变异。

WES在单核苷酸变异和小片段插入缺失变异的检测具有全面高效经济的优势,但对于长片段插入缺失和拷贝数变异(copy number variations, CNVs)等结构变异的检测具有局限性,例如:WES用于CNV检测时,在杂交捕获过程中,由于各个外显子的杂交效率不同,不同外显子的覆盖率差异较大。当出现阳性结果时,无法判断是由于杂交未捕获到,还是由于缺失,因此WES检测CNV容易出现假阳性结果。此外,在对目标区域进行捕获时,存在捕获不均、覆盖到非编码区较少、测序的GC偏好程度造成的偏移,会给CNV检测带来较大误差。可以通过增加测序深度和优化生信算法,以尽可能校正上述偏差。

综上,借助WES技术,已实现对耳聋临床诊断、分子诊断的有机结合,对聋病的个性化诊治、防控等得以更加高效、精准的开展,未来基因测序技术必将对聋病防控发挥更加重大的价值。

孙宇:

由于遗传性耳聋大多数为常染色体隐性遗传,

ACMG指出新生儿听力筛查发现的95%的听力损失患儿其父母听力正常,因此对于遗传性耳聋,预防其首发比再发更为重要,备孕期及孕早期是预防的最佳时机。

目前在聋人群体中开展的普遍性基因筛查显示,将耳聋基因检测时间从聋人生育前移至婚配前,可以降低聋人同症婚配情况下的生育风险。我们的工作将全人群耳聋基因的检测关口移至孕前或产前,避免遗传性耳聋头胎出生。我们之前的一项携带者筛查多中心研究显示,在纳入筛查的5957例中,常染色体隐性耳聋1A型的携带率为2.72%,常染色体隐性耳聋4型的携带率为2.50%。对3058对听力正常的夫妇的统计显示,6对夫妇携带遗传性耳聋基因,携带率为0.2%。4例为常染色体隐性耳聋4型的夫妇中,3例接受了产前诊断,产诊阳性率为67%,1例选择产后留脐血进行验证;2例为常染色体隐性耳聋1A型的夫妇中,1例接受了产前诊断,产诊阳性率为50%。在孕前或怀孕早期进行遗传性耳聋的筛查,有利于那些接受筛查的人能够了解自身的生殖风险,促进更多的生育选择,从而可以从根本上降低新生儿遗传性耳聋的发生率。

国内解放军总医院王秋菊教授率先提出遗传性耳聋三级预防策略并进行推广,随后我们在孔维佳教授领导下建立了华中先天性耳聋大数据研究中心推动了区域三级预防体系的建立,建立了先天性聋MDT团队,通过湖北省耳鼻喉科医疗质量控制中心及湖北省防聋治聋技术指导专家组建立遗传性耳聋三级防控体系,新生儿推广建立耳聋基因筛查联合新生儿听力筛查,基因筛查阳性或听力筛查未通过患儿,转诊行听力学诊断联合已知耳聋基因二代测序明确致病基因。对遗传性耳聋高危人群一级预防推荐行胚胎移植前基因诊断(PGD),或二级预防行孕期基因诊断(绒毛膜活检,羊水穿刺,脐静脉穿刺)阻断遗传性耳聋。通过建立遗传性耳聋三级防控体系和三级预防策略有效阻断了部分遗传性耳聋的发生,进一步明确了湖北地区遗传性耳聋的分子流行病学规律,推动了湖北地区遗传性耳聋“促、防、诊、控、治、康”全链条工作。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

(收稿日期:2023-11-30)