

新生儿遗传性耳聋基因筛查及JB2基因c.109G>A(p.V37I)位点纯合突变与耳聋临床表型的相关性

巫朝霞^{1,3}, 梁丽笙^{1,3}, 袁贵龙², 覃桂锋², 毛中英^{1,3*}, 吕丽吟³, 戴其强⁴ (广东省佛山市南海区妇幼保健院 1. 妇产科; 2. 新生儿科; 3. 产前诊断中心, 广东佛山 528200; 4. 广州达安临床检验中心有限公司, 广东广州 510000)

摘要: 目的 分析新生儿耳聋基因筛查数据, 并对JB2基因c.109G>A(p.V37I)位点纯合突变新生儿听力临床表型进行追踪, 探讨耳聋基因筛查及c.109G>A纯合突变的临床意义。方法 对符合纳入标准的新生儿5 304例进行耳聋基因筛查, 对检出c.109G>A位点纯合突变的新生儿均进行包括听觉脑干诱发反应、多频稳态和声导抗等的听力学检测, 并定期跟踪至2岁, 分析c.109G>A位点纯合突变儿童的临床听力学特点。结果 共检出GJB2基因突变1 242例, 检出率23.416%, 其中c.109G>A位点突变频率为11.586%, 检出c.109G>A位点纯合突变72例, 检出率为1.357%。后续进行听力检测, 定期跟踪至2岁, 以<26dBHL为标准, 0、1、2岁听力检测通过率分别为95.2%、77.2%、65.4%; 以<41dBHL为标准, 0、1、2岁听力检测通过率分别为97.6%、85.0%、72.4%, 未发现重度听力损失, 显示随着年龄增长, 听力损失逐渐出现, 且以轻中度听力损失为主。结论 GJB2基因c.109G>A位点突变频率高, c.109G>A位点纯合突变可能与迟发性听力损失相关, 可作为人群针对性的耳聋基因检测, 临床应予以重视。

关键词: 遗传性耳聋; GJB2基因; 纯合突变; 听力损失

中图分类号: R 764

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)06-0680-04

Screening of hereditary deafness gene in newborns and correlation between homozygous mutation of c.109G>A (p.V37I) in JB2 gene and clinical phenotype of deafness

WU Zhao-xia^{1,3}, LIANG Li-sheng^{1,3}, YUAN Gui-long², QIN Gui-feng², MAO Zhong-ying^{1,3*}, LV Li-yin³, DAI Qi-qiang⁴ (1.Obstetrics and Gynecology Department; 2. Neonatology Department; 3.Prenatal Diagnostic Center, Nanhai Maternal and Child Health Care Hospital, Foshan 528200, China; 4.Da'an Clinical Laboratory Center, Guangzhou 510000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the screening data of hereditary deafness gene in newborns, trace the clinical phenotype of hearing of newborns with homozygous mutation of c.109G>A (p.V37I) in JB2 gene and investigate the clinical significance of screening of deafness gene and homozygous mutation of c.109G>A. **Methods** Screening of deafness gene was performed on 5 304 newborns who met the inclusion criteria. Audiological examinations including auditory brainstem response, auditory steady-state response and acoustic immittance were performed on newborns with homozygous mutation of c.109G>A, who were regularly followed up to age 2. The clinical audiological characteristics of children with homozygous mutation of c.109G>A were analyzed. **Results** A total of 1 242 (23.416%) newborns were identified with GJB2 mutation. The frequency of c.109G>A mutation was 11.586%. A total of 72 cases were detected to have homozygous mutation of c.109G>A, with the detection rate of 1.357%. The newborns received hearing test subsequently and regularly followed up until the age of 2. Taking <26dBHL as the criteria, the passing rate in hearing test at the age of 0, 1 and 2 was 95.2%, 77.2%, and 65.4%, respectively; Taking <41dBHL as the criteria, the passing rate in hearing test at the age of 0, 1 and 2 was 97.6%, 85.0%, and 72.4%, respectively, and no severe hearing loss was identified, which indicated that hearing loss gradually appears with the age and mainly manifests as mild and moderate hearing loss. **Conclusion** The frequency of c.109G>A in GJB2 gene was high. The homozygous mutation of c.109G>A may be associated with late-onset hearing loss. It may be taken as a deafness gene test and

基金项目: 佛山市自筹经费类科技计划项目(No. 2017AB000212)

收稿日期: 2020-06-05; 修订日期: 2020-09-16

作者简介: 巫朝霞(1969-), 女, 硕士, 主任医师

通信作者: 毛中英, 女, 硕士, E-mail: 892663701@qq.com

should be paid attention in clinical practice.

Key words: hereditary deafness; GJB2 gene; homozygous mutation; hearing loss

耳聋在我国耳聋的发病率约为1‰~3‰, 每年新增耳聋儿达6万人, 由遗传因素引起的约占60%^[1]; 同时常染色体隐性遗传约占80%, 常染色体显性遗传约占10%^[2]。1997年Kelsell等^[3]首次提出GJB2基因与遗传性非综合征型聋相关。GJB2基因突变表现为常染色体隐性遗传突变。新生儿听力筛查是医院儿童保健中常规的听力筛查措施, 可以早期发现听力损失并早期干预; 然而新生儿听力筛查的局限性在于不能及时发现药物性耳聋、迟发性耳聋及部分性先天性耳聋等^[4], 容易错过语前聋患者的早期干预时机。随着聋病分子生物学研究的深入, 新生儿遗传性耳聋基因筛查有了技术保障, 耳聋易感基因检测可以弥补听力筛查的不足。本文通过分析新生儿耳聋基因筛查数据, 并对JB2基因c.109G>A(p.V37I)位点纯合突变新生儿听力临床表型进行追踪, 了解耳聋基因筛查及c.109G>A纯合突变的临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择2017年6月-2018年6月在我院建卡产检的新生儿5 304例, 均符合以下纳入标准: (1)新生儿母亲在我院建卡定期产前检查, 检查期间资料记录完整; (2)签署耳聋基因检测知情同意书, 愿意跟踪随访复查者。

1.2 方法

对5 304例新生儿应用Luminex Magpix液体悬浮芯片法进行遗传性耳聋基因筛查, GJB2基因突变位点分型使用实时荧光定量PCR法(Quantitative Real-time PCR, qPCR): 对GJB2基因不同位点突变率进行统计; 检出c.109G>A位点纯合突变的新生儿均接受听力学检测, 包括听觉脑干诱发反应、多频稳态和声导抗等检测, 定期跟踪至2岁, 分析c.109G>A位点纯合突变的儿童临床听力学特点。听力损伤分度按WHO(1997年)制定的标准, 26~40 dBHL为轻度, 41~60 dBHL为中度, 61~80 dBHL为重度, 81 dBHL以上为极重度^[5]。

2 结果

2.1 耳聋基因筛查结果

5 304例新生儿耳聋基因筛查检出GJB2基因突变

1 242例, 检出率23.416%, 其具体突变位点和检出率如表1所示, 其中c.109G>A位点突变频率为11.586%。

表1 GJB2基因不同突变位点及检出情况

GJB2基因突变位点	检出例数(%)
c.109G>A纯合突变	72(1.357)
c.109G>A杂合突变	1071(20.192)
c.109G>A杂合突变, 176_191del16杂合突变	1(0.002)
c.109G>A杂合突变, 235delC杂合突变	11(0.020)
176_191del16杂合突变	2(0.004)
235delC纯合突变	1(0.002)
235delC杂合突变	67(1.263)
299_300delAT纯合突变	0
299_300delAT杂合突变	8(0.151)
299_300delAT杂合突变, c.109G>A杂合突变	1(0.002)
299delAT杂合突变	1(0.002)
35delG杂合突变	1(0.002)
512insAACG杂合突变	5(0.094)
512insAACG杂合突变, c.109G>A杂合突变	1(0.002)

2.2 JB2基因c.109G>A位点纯合突变与耳聋临床表型的相关性随访结果

共检出c.109G>A位点纯合突变72例, 定期跟踪至2岁, 以<26 dBHL为标准, 0、1、2岁听力检测通过率分别为95.2%、77.2%、65.4%; 以<41dBHL为标准, 0、1、2岁听力检测通过率分别为97.6%、85.0%、72.4%, 未发现重度听力损失。

3 讨论

传统的新生儿听力筛查仅反映出生时的听觉功能状态, 无法发现迟发性耳聋患儿, 而迟发性耳聋患儿如果未能及时有效干预, 有很大的可能造成永久性听力损失^[6]。对于迟发性耳聋基因携带患儿, 早期查找病因, 及时干预指导, 是降低耳聋发生的有效途径。

目前耳聋基因突变多数为人们所了解的单基因孟德尔式遗传模式, 致病性较为明确, 听力表型外

显率接近100%，在遗传咨询过程中较易判读和发现。近年来随着基因芯片技术的发展，某些具有听力障碍遗传易感性的基因突变逐渐被发现和认识，部分耳聋基因的携带者并不会在出生时就表现为耳聋，而基因芯片检测技术可以早期发现新生儿听力筛查时遗漏的潜在耳聋，可以达到早期预防的目的，其中GJB2基因是重要的检测对象^[7]。GJB2基因在内耳中的正常表达是内耳感觉细胞和支持细胞间进行离子和信息传递的基础，对内耳发育和听觉形成至关重要。不同种族的人群基因突变携带率及谱系不同，在我国GJB2基因突变可引起21%~27%的学语前聋^[8]，汉族人群中GJB2基因突变杂合携带率高达12%，纯合携带率接近0.004%，是目前已报道的与耳聋相关的最常见突变，为中国遗传性耳聋的最重要遗传因素。但该突变具显著的不完全外显性，据间接推测计算18岁前出现听力障碍的外显率为17%左右^[9-10]。崔庆佳等^[11]的研究结果表明，GJB2基因突变耳聋患儿中不同发病年龄组的听力损失程度比较，发病年龄主要分布在婴儿期和幼儿期，随发病年龄增大，极重度听力损失比例逐渐减少。近期研究发现，GJB2基因c.109G>A突变在亚洲的携带率也很高，与迟发性听力损失密切相关^[12-13]。Xiang等^[14]报道在506例非综合征性感音神经性聋患者中，c.109G>A等位基因频率为3.26%，认为c.109G>A突变具有致病性，可导致从轻度到重度的各种表型的听力损失。李幼瑾等^[15]认为c.109G>A突变是致病突变，其具体的致病性仍需大量样本流行病学研究。更有研究表明，c.109G>A纯合突变及复合杂合突变在轻中度耳聋及迟发性耳聋人群中的出现比率显著高于正常听力对照人群，其中亚洲c.109G>A突变与轻度耳聋相关，属于典型的遗传易感性突变^[16]。

本文的GJB2基因突变检出率及c.109G>A位点突变频率与广东其他地区的平均水平基本吻合^[17]，对GJB2基因109位点纯合突变儿童的听力随访结果表明，随着年龄增长，听力损失逐渐出现，且以轻中度听力损失为主，GJB2基因c.109G>A位点纯合突变可能与迟发性听力损失相关。有研究结果表明：GJB2基因突变的耳聋患者耳蜗听神经有正常的神经末端，听觉中枢可以正常接收刺激，因此人工耳蜗植入术效果良好^[18]。基因突变的早检出可以使患儿更早进行手术、缩短术后康复时间。GJB2基因c.109G>A位点纯合突变新生儿听力的持续随访，可防止该类人群在成长过程中因出现听力问题出现无方向的盲目就诊。因此在新生儿中进行耳聋基因检

测有一定临床意义，应作为区域内的耳聋基因防控重点加以重视；也可作为早期分子标识在新生儿中进行普遍性筛查，结合后期听力跟踪随访以提高迟发性耳聋及轻中度耳聋的早期发现率和干预率。

参考文献：

- [1] 王雪超, 李雨雨, 崔玉晗, 等. 6060例新生儿遗传性耳聋基因筛查结果分析[J]. 山东医药, 2020, 60(20): 76-79.
- [2] 牛志杰, 冯永, 梅凌云, 等. 非综合征型X连锁隐性遗传耳聋家系临床表型及遗传学特征分析[J]. 中华耳科学杂志, 2017, 15(2): 195-200.
- [3] KELSELL D P, DUNLOP J, STEVENS H P, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness[J]. Nature, 1997, 387(6628): 80-83.
- [4] 章雪芹, 魏澄, 王栋, 等. 遗传性耳聋基因筛查在新生儿听力筛查中应用研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 32(3): 273-275.
- [5] 卜行宽, 刘铤. 世界卫生组织预防聋和听力减退工作情况介绍[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 35(3): 237-239.
- [6] 潘蕾, 刘宏彦, 刘瑾, 等. 天津市81929例新生儿听力和聋病易感基因联合筛查情况分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(4): 754-756.
- [7] 常亮, 柯嘉, 张珂, 等. 微阵列基因芯片在新生儿遗传性耳聋筛查中的应用研究[J]. 中国全科医学, 2020, 23(17): 2102-2104.
- [8] WU H, FENG Y, JIANG L, et al. Application of a new genetic deafness microarray for detecting mutations in the deaf in China[J]. PLoS One. 2016, 2016, 11(3): e0151909.
- [9] CHAI Y, CHEN D, SUN L, et al. The homozygous p.V371 variant of GJB2 is associated with diverse hearing phenotypes[J]. Clin Genet, 2015, 87(4): 350-355.
- [10] 方炳雄, 蔡勉珊, 张俊贤, 等. 粤东地区1430例新生儿遗传性耳聋基因筛查结果分析[J]. 广东医科大学学报, 2019, 37(1): 12-15.
- [11] 崔庆佳, 王国建, 黄莎莎, 等. GJB2基因、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.
- [12] TANIGUCHI M, MATSUO H, SHIMIZU S, et al. Carrier frequency of the GJB2 mutations that cause hereditary hearing loss in the Japanese population[J]. J Hum Genet, 2015, 60(10): 613-617.
- [13] PAN J, XU P, TANG W, et al. Mutation analysis of common GJB2, SCL26A4 and 12S rRNA genes among 380 deafness patients in northern China[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2017, 98: 39-42.

- [14] XIANG Y B, TANG S H, Li H Z, et al. Mutation analysis of common deafness-causing genes among 506 patients with nonsyndromic hearing loss from Wenzhou city, China[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2019, 122: 185-190.
- [15] 李幼瑾, 杨军, 杨涛, 等. 先天性内耳畸形与GJB2基因相关性分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 27(16): 881-889.
- [16] LI L, LU J, TAO Z, et al. The p.V371 exclusive genotype of GJB2: a genetic risk-indicator of postnatal permanent childhood hearing impairment[J]. PloS One, 2012, 7(5): e36621.
- [17] ZOU Y, DAI Q Q, TAO W J, et al. Suspension array-based deafness genetic screening in 53,033 Chinese newborns identifies high prevalence of 109 G>A in GJB2[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2019, 126: 109630.
- [18] 李倩倩, 陈文丽, 苗艳, 等. 遗传性耳聋基因芯片检测在孕妇携带者筛查中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(6): 108-110.

粤西地区慢性丙型肝炎患者病毒基因型分布特征

莫 凡¹, 李耀才², 洪永孟³, 韩焕钦¹ (1. 广东医科大学附属医院感染内科, 广东湛江 524001; 2. 广东省茂名市人民医院感染科, 广东茂名 525000; 3. 广东省阳江公共卫生医院感染一科, 广东阳江 529500)

摘要: **目的** 了解粤西地区丙型肝炎(丙肝)患者病毒基因型分布及其与感染途径的关系。**方法** 采用PCR-反向斑点杂交法检测521例丙肝患者血清丙肝病毒基因型, 并分析112例患者的病毒基因型与传播途径关系。**结果** 共检测出6种基因型, 其中6a型224例、1b型130例、3b型108例、3a型32例、1a型14例、2a型13例。 ≥ 60 岁老年患者中1b和2a亚型检出率明显高于青中年($P < 0.01$ 或 0.05)。112例有明确传播途径患者中, 通过静脉吸毒感染最多, 以6a、3b型为主(77.1%); 其次是输血传播, 以1b型为主(83.3%)。**结论** 粤西地区丙肝患者以6a亚型为主, 静脉吸毒可能是主要传播途径; 老年和输血传播患者以1b型为主。

关键词: 丙型肝炎病毒; 基因型; 感染途径

中图分类号: R 446

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)06-0683-03

Genotyping of hepatitis c virus in patients with chronic hepatitis C in western Guangdong

MO Fan¹, LI Yao-cai², HONG Yong-yu³, HAN Huan-qin¹ (1. Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China; 2. Department of Infectious Diseases, Maoming People's Hospital, Maoming 525000, China; 3. Department I of Infectious Diseases, Yangjiang Public Health Hospital, Yangjiang 529500, China)

Abstract: **Objective** To investigate the genotyping distribution of hepatitis C virus (HCV) and its relation to infection routes in patients with chronic hepatitis C (CHC) in western Guangdong. **Methods** The genotyping of serum HCV in 521 CHC patients was performed using PCR-reverse dot blot hybridization. The relationship between HCV genotyping and infection routes was also analyzed in 112 CHC patients. **Results** Six genotypes were detected, of which 6a, 1b, 3b, 3a, 1a, and 2a occurred in 224, 130, 108, 32, 14, and 13 cases, respectively. Genotypes 1b and 2a were more common in older patients aged ≥ 60 years compared with young and middle-aged ones ($P < 0.01$ or 0.05). Among 112 patients with definite transmission routes, intravenous drug was the most common, with prominent genotypes of 6a and 3b (77.1%); and blood transfusion was next, with major genotype of 1b (83.3%). **Conclusion** Genotype 6a of HCC is predominant, and intravenous drug may be the main infection route in CHC patients in western Guangdong. Genotype 1b is common in older patients and transfusion-infected patients.

Key words: hepatitis C virus; genotype; infection route

收稿日期: 2020-04-09; 修订日期: 2020-08-12

作者简介: 莫 凡(1962-), 男, 学士, 主任医师