

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00352

不同年龄段非综合征性耳聋常见基因检测及临床表型分析

张初琴¹, 陈波蓓¹, 陈迎迎¹ 刘学军¹, 郑静², 高金建¹, 黄赛瑜¹, 南奔宇¹,
章誉耀¹, 余啸¹, 管敏鑫^{2,3}

1. 温州医学院附属二院&附属育英儿童医院耳鼻喉科, 温州 325027;

2. 温州医学院浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325027;

3. 浙江大学生命科学学院, 杭州 310000

摘要: 为了探讨非综合征性耳聋易感基因检出率与年龄因素的相关性及其发病特点, 文章收集了 2006 年 4 月~2012 年 4 月在温州医学院附属第二医院就诊的 215 名非综合征性耳聋患者, 按就诊年龄和发病年龄分别分为成人组(>18 岁)及未成人组, 后者又分为婴幼儿组(0~3 岁)、学龄前组(3~6 岁)、学龄组(6~18 岁), 提取基因组 DNA, 然后进行 *GJB2* 和线粒体 DNA A1555G/C1494T 基因检测, 并对其阳性检出率及年龄构成比进行统计学分析。结果显示, *GJB2* 基因突变的检出率为 18.14%, 线粒体 DNA A1555G/C1494T 基因突变为 11.16%; 就诊年龄为成人组的 *GJB2* 基因突变检出率低于未成人组(分别是 5.26%, 22.36%), 线粒体 DNA A1555G/C1494T 基因突变则高于未成人组(分别是 31.48%, 4.97%), 组间有统计学差异(χ^2 分别为 7.108、20.852, P 分别为 0.008、0.000); 发病年龄为成人组及未成人组 *GJB2* 基因突变的阳性检出率分别为 0% 和 20.10%, 组间有统计学差异($\chi^2=5.157$, $P=0.023$), 而线粒体 DNA A1555G/C1494T 突变的阳性检出率分别为 14.29% 和 11.34%, 组间无统计学差异($\chi^2=0.160$, $P=0.698$); *GJB2* 基因突变的患者发病年龄多集中在 1 岁以内(66.67%); 线粒体 DNA A1555G/C1494T 突变在各个年龄段均可发病, 1 岁以内仅占 28.00%, 3 岁以后占 40.00%, 两者在年龄构成比上有统计学差异($\chi^2=11.035$, $P=0.004$); 采用不同耳聋分级标准判断携带线粒体 DNA A1555G/C1494T 基因突变者的听力损失程度, 结果有统计学差异。这表明 *GJB2* 基因突变主要表现为先天性耳聋; 线粒体 DNA A1555G/C1494T 基因突变不仅可表现为先天性耳聋, 也可表现为后天进行性耳聋, 氨基糖苷类抗生素在其各个年龄段均可诱发或加重耳聋, 对其进行听力检测要重视 4~8 kHz 频率段; 新生儿听力筛查联合基因筛查对早期发现遗传性耳聋具有重要的意义。

关键词: 非综合征性耳聋; *GJB2*; 线粒体 DNA; 突变; 基因诊断

收稿日期: 2012-07-05; 修回日期: 2012-08-07

基金项目: 浙江省自然科学基金课题(编号: LY12H130001)和浙江省计生委课题(编号: 200914)资助

作者简介: 张初琴, 硕士, 住院医师, 研究方向: 耳聋基因诊断。E-mail: zhangchuqin0579@163.com

陈迎迎, 硕士, 主治医师, 研究方向: 听力学。E-mail: yychen92@126.com

张初琴和陈迎迎同为第一作者。

通讯作者: 陈波蓓, 学士, 教授, 主任医师, 研究方向: 耳聋基因诊断和儿童喉乳头状瘤的免疫治疗。E-mail: wzbobei@126.com

网络出版时间: 2012-12-24 13:37:10

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20121224.1337.001.html>

Prevalence of common genetic mutations and clinical characteristics analysis in patients at different ages with nonsyndromic hearing impairment

ZHANG Chu-Qin¹, CHEN Bo-Bei¹, CHEN Ying-Ying¹, LIU XUE-Jun¹, ZHENG Jing², GAO Jin-Jian¹, HUANG Sai-Yu¹, NAN Ben-Yu¹, ZHANG Yu-Yao¹, YU Xiao¹, GUAN Min-Xin^{2,3}

1. Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;

2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;

3. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310000, China

Abstract: To evaluate the correlation between genetic mutations and the age in nonsyndromic hearing impairment (NSHI) and the clinical characteristics of NSHI, 215 patients with NSHI were enrolled between April 2006 and April 2012. All patients were divided into four groups according to ages of hearing loss onset and clinic presentation (0-3, 3-6, 6-18 and 18+ years). The mutations of *GJB2* and mitochondria DNA (mtDNA) 1555G/C1494T were screened from peripheral blood samples in each age group. The prevalence of mutations and the age ratio were obtained. The study showed that 18.14% of all patients were found to have *GJB2* mutations and 11.16% were found to have mtDNA A1555G/C1494T mutations. The prevalence of *GJB2* mutation in adult group (5.26%) was lower than juvenile group who sought medical attention at 0-18 years of age (22.36%), while the prevalence of mtDNA A1555G/C1494T in adult group (31.48%) was higher than juvenile group (4.97%). Significant differences in the prevalence of *GJB2* ($\chi^2=7.108$, $P=0.008$) and mtDNA A1555G/C1494T ($\chi^2=20.852$, $P=0.000$) were observed in both of two groups. The prevalence of *GJB2* mutations between adult and juvenile groups according to ages of hearing loss onset was statistically significant different (0%, 20.10%, respectively, and $P=0.023$), while the prevalence of mtDNA A1555G/C1494T mutations was not different (14.29%, 11.34%, respectively, and $P=0.698$). The onset age of 66.67% of patients with *GJB2* mutations was less than 1 year old, while the onset of patients with mtDNA A1555G/C1494T mutations could be found at any age group. Different standardizations of hearing loss could also show different results. These data strongly suggest that most of *GJB2* mutations are found in congenital deafness and mtDNA A1555G/C1494T mutations mainly represent acquired deafness, which can be induced or aggravated by aminoglycoside antibiotics in all age groups and should be tested mainly ranging from 4 kHz to 8 kHz. Both newborn hearing screening and genetic testing are important to find early deafness.

Keywords: nonsyndromic hearing impairment; *GJB2*; mtDNA; mutation; genetic testing

耳聋是语言学习及交流的最大障碍, 其中 50%~70%可能与遗传因素有关^[1]。遗传性耳聋按表型可分为综合征性耳聋(Syndromic hearing loss, SHL; 约占 30%)和非综合征性耳聋(Nonsyndromic hearing impairment, NSHI; 约占 70%)。NSHI是一种高度遗传异质性疾病, 至 2011 年 12 月, NSHI共定位了 167 个座位(<http://webh01.ua.ac.be/hhh/>), 其中常染色体显性遗传基因座位 64 个, 常染色体隐性遗传基因座位 95 个, X连锁座位 5 个, 修饰基因座位 2 个, Y连锁

座位 1 个。国内耳聋分子流行病学研究表明, 大部分 NSHI由 *GJB2* 和线粒体DNA(mtDNA) A1555G/C1494T基因突变引起^[2]。然而, 全国各地的检出率各不相同^[3], *GJB2* 235delC突变检出率为 6.59%~25.18%, 平均 18.16%, mtDNA A1555G突变检出率为 0~4.17%, 平均 2.83%。除了地区差异外, 年龄因素可能对此也有一定的影响。值得注意的是, 上述流行病学调查多以 6~18 岁的聋哑学生为研究对象, 在年龄上未能全面覆盖中国耳聋人群; 而对易感耳

聋基因突变携带率与年龄之间的关系在国内的文献很少,而这一数据对指导耳聋基因诊断有效地应用于临床很重要。本研究通过分析不同年龄段 NSHI 患者中 *GJB2* 和 mtDNA A1555G/C1494T 基因突变的检出率,探讨年龄因素与易感基因检出率的相关性及 NSHI 的临床表型特点。

1 材料和方法

1.1 研究对象

2006 年 4 月~2012 年 4 月期间就诊于温州医学院附属第二医院耳鼻喉科的 215 名 NSHI 耳聋患者,男 137 人,女 78 人,年龄 0.3~60 岁,平均年龄 12.17 岁,平均发病年龄 5.61 岁。按照温州医学院伦理委员会管理规定签署知情同意书,对其进行详细的病史调查和体格检查,除外综合征性耳聋患者以及合并急性或慢性中耳炎、晚期梅尼埃病、听神经瘤、脑膜脑炎、耳毒性药物、外伤等有明确原因致聋的患者。同时进行听力学检查包括纯音测听(Pure tone audiometer, PTA)和/或听觉脑干反应(Auditory brain-stem respons, ABR)、多频稳态反应(Auditory steady-state responses, ASSR)。本研究的耳聋表型分析判断标准参照《关于非综合征型遗传性聋家系遗传学及听力学描述术语建议案》^[4,5]: 根据语言发育阶段分为语前聋(0~3 岁)、语后聋(>3 岁); 根据听力损失的频率分为高频听力损失型(2~8 kHz 听力下降为主),中频听力损失型(0.5~2 kHz 听力下降为主),低频听力损失型(0.25~0.5 kHz 听力下降为主),全频听力损失型(0.25~8 kHz 听力下降); 听力损失程度按照两耳中听力较好一耳的平均听阈(0.5~4 kHz 听阈的平均值)评估:20~40 dB 为轻度听力损失,41~70 dB 为中度听力损失,71~95 dB 为重度听力损失,>95 dB 为极重度听力损失。

1.2 方法

1.2.1 分组

215 名 NSHI 耳聋患者按就诊及发病年龄均分为成人及未成人组,其中成人组>18 岁,为了与以往流行病学调查集中在 6~18 岁区别,我们把未成人组又分为 3 组:婴幼儿组 0~3 岁;学龄前组 3~6 岁;学龄组 6~18 岁。其中,发病年龄是患者或其父母发现其耳聋的时间,若无自觉听力下降,则以接受客观

听力检查的时间为准。

1.2.2 *GJB2* 基因突变分析

采集患者静脉外周血,使用 Universal DNA 分离试剂盒(购自宝生物工程(大连)有限公司)分离全血中的基因组 DNA,PCR 扩增含有整个编码区域的 *GJB2* 基因,所用引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。上游引物:5'-TATGACACTCCCCAGCACAG-3';下游引物:5'-GGGCAATGCTTAACTGGC-3'^[6]。测序方法同上,测序结果与野生型 *GJB2* 基因标准序列(GenBank 登录号:M86849)比对,确定是否含有与耳聋相关的突变位点。

1.2.3 线粒体全基因组突变分析

PCR 扩增包含整个线粒体 12S rRNA 基因片段,引物位于 mtDNA 618~635 和 1988~2007^[7]。对携带 A1555G/C1494T 突变的患者用 24 组引物对相互有部分片段重叠线粒体全基因组进行 PCR 扩增^[8]。PCR 产物纯化后,用 Big Dye 末端循环测序反应试剂盒在 ABI 3700 DNA 自动测序仪上直接测序,将测序结果与经过校正的剑桥标准序列(GenBank 登录号:NC_001807)进行比对^[9]。

1.3 统计学分析

使用 SPSS13.0 统计学软件,利用卡方检验分别对 *GJB2*、mtDNA A1555G/C1494T 基因突变在不同就诊及发病年龄组中的阳性检出率进行统计分析,并对阳性检出者的发病年龄及听力损失程度的构成比进行卡方检验,认为 $P \leq 0.05$ 有统计学差异。

2 结果与分析

2.1 病理性突变阳性检出率

在 215 例 NSHI 耳聋患者中,共检出 39 例携带 *GJB2* 基因突变,占 18.14%(39/215),其中纯合突变 26 例,复合杂合突变 5 例,单杂合突变 8 例,突变的类型有 235delC、299delAT、512insAACG 和 176del16bp。*GJB2* 基因最常见的突变为 235delC,其中纯合突变 26 例、杂合突变 8 例,共计 34 例,检出率为 15.81%(34/215),占 *GJB2* 基因突变患者的 87.18%(34/39),占携带明确的病理性突变患者的 53.13%(34/64),杂合突变中 5 例与 3 例 299delAT、2 例 512ins AACG 组成复合杂合突变;其次为 299delAT、512ins AACG

和 176del6bp, 均为杂合突变, 检出率依次为 2.33%、1.40%和 0.93%, 占 *GJB2* 基因突变的比例依次为 12.82%、7.69%和 5.13%。共检出 25 例携带明确的 mtDNA 基因突变, 占 11.63%(25/215), 其中 mtDNA A1555G 突变及 C1494T 突变检出率分别为 11.16%(24/215)、0.47%(1/215)。

2.2 不同就诊年龄组受检者的耳聋基因突变阳性检出率

215 例 NSHI 耳聋患者按就诊年龄分为成人组及未成人组, 未成人组又分为 3 组: 婴幼儿组、学龄前组、学龄组, 分别对每组患者的 *GJB2*、mtDNA A1555G/C1494T 突变阳性检出率进行统计分析(表 1)。结果显示成人组 *GJB2* 基因突变的阳性检出率为 5.26%, mtDNA A1555G/C1494T 突变的阳性检出率为 31.48%, 而未成人组分别为 22.36%和 4.97%, 组间有统计学差异(χ^2 分别为 7.690 和 27.661, P 分别为 0.006 和 0.000)。未成人组内 *GJB2* 和 mtDNA A1555G/C1494T 基因突变的阳性检出率依次为 23.73%、25.00%、18.97%和 1.69%、4.55%、8.62%, 组内均无统计学差异(χ^2 分别为 0.625 和 2.994, P 分别为 0.732 和 0.224)。

表 1 不同就诊年龄组间常见基因突变阳性率的比较

发病年龄	人数	<i>GJB2</i> 突变率	mtDNA A1555G/C1494T 突变率
成人组	54	3(5.56%)	17(31.48%)
未成人组	161	36(22.36%)	8(4.97%)
婴幼儿组	59	14(23.73%)	1(1.69%)
学龄前组	44	11(25.00%)	2(4.55%)
学龄组	58	11(18.97%)	5(8.62%)
合计	215	39(18.14%)	25(11.63%)

2.3 不同发病年龄组受检者的耳聋基因突变阳性检出率

215 例 NSHI 耳聋患者按发病年龄分为成人组及未成人组, 未成人组又分为 3 组: 婴幼儿组、学龄前组、学龄组, 分别对每组患者的 *GJB2*、mtDNA A1555G/C1494T 突变检出率进行统计分析(表 2)。结果显示成人组及未成人组 *GJB2* 基因突变的阳性检出率分别为 0%和 20.10%, 组间有统计学差异($\chi^2=5.157$, $P=0.023$); 成人组及未成人组 mtDNA A1555G/C1494T 突变的阳性检出率分别为 14.29%和 11.34%,

组间无统计学差异($\chi^2=0.160$, $P=0.698$)。未成人组内 *GJB2* 基因突变的阳性检出率在婴幼儿组中最高, 为 23.03%, 而 mtDNA A1555G/C1494T 则在学龄组中最高, 为 20.00%。婴幼儿组从发病上归为语前聋, 与语后聋(>3 岁)之间 *GJB2* 基因突变的阳性检出率有统计学差异($\chi^2=8.342$, $P=0.004$), 而 mtDNA A1555G/C1494T 基因突变的阳性检出率无统计学差异($\chi^2=1.563$, $P=0.211$)。

表 2 不同发病年龄组间常见基因突变阳性率的比较

发病年龄	人数	<i>GJB2</i> 突变率	mtDNA A1555G/C1494T 突变率
成人组	21	0	3(14.29%)
未成人组	194	39(20.10%)	22(11.34%)
婴幼儿组	152	35(23.03%)	15(9.87%)
学龄前组	17	2(11.76%)	2(11.76%)
学龄组	25	2(8.00%)	5(20.00%)
合计	215	39(18.14%)	25(11.63%)

2.3 *GJB2* 及 mtDNA 突变阳性检出者的年龄构成比

根据王国建等^[10]对发病年龄构成比的建议, *GJB2* 基因突变阳性检出者的发病年龄多集中在 1 岁以内(66.67%); 而 mtDNA A1555G/C1494T 突变在各个年龄段均可发病, 1 岁以内仅占 28.00%, 3 岁以后占 40.00%, 两者在年龄构成比上有统计学差异($\chi^2=11.035$, $P=0.004$) (表 3)。

表 3 *GJB2* 及 mtDNA 突变阳性检出者的年龄构成比

突变基因	阳性总人数	不同发病年龄的人数及构成比		
		≤1 岁	>1 岁, ≤3 岁	>3 岁
<i>GJB2</i>	39	26(66.67%)	9(23.08%)	4(10.25%)
mtDNA	25	7(28.00%)	8(32.00%)	10(40.00%)

2.4 *GJB2* 及 mtDNA 突变阳性检出者的听力损失

GJB2 基因突变阳性检出者的听力损失多为极重度聋(66.67%), 而 mtDNA A1555G/C1494T 阳性检出者的听力损失较轻, 极重度聋仅占 44.00%, 大多都有残余听力, 两者在构成比上(表 4)有统计学差异($\chi^2=15.876$, $P=0.001$)。18 例 mtDNA A1555G/C1494T 阳性检出者有完整的 PTA, 我们以建议案标准、ISO-1964 标准、ISO-1997 标准以及全频率段(0.25 ~ 8 kHz)、4 ~ 8 kHz、1 ~ 4 kHz 的平均听域为标准来重新判断受检者听力损失的程度(表 5), 其中以 4 ~ 8

kHz的平均听域为准,听力损失的程度 100%为重度或极重度聋。ISO-1964 标准与 4~8 kHz的平均听域有统计学差异($\chi^2=20.571$, $P=0.000$),与其他无显著性差异(χ^2 分别是 8.333、4.844、8.183, P 分别是 0.080、0.304、0.085)。

3 讨论

NSHI耳聋患者大多仅表现为听力损失,由于血液生化检查、影像学检查和听力学评估等检查的非特异性,临床医生很难准确地解释耳聋病因,而目前兴起的耳聋基因诊断可以为我国绝大多数遗传性耳聋患者确定病因。国内耳聋分子流行病学研究表明, *GJB2* 是核基因中最常见的致聋责任基因,而 A1555G/C1494T突变是mtDNA中的热点突变,尤以 A1555G突变最多,可导致部分人群对氨基糖甙类抗生素(Aminoglycoside antibiotics, AmAn)超敏感^[11]。然而,这些流行病学调查多集中在聋哑学校,研究对象多为6~18岁的学龄组儿童及青少年,即使对新生儿及人工耳蜗患儿的基因检测^[12-13],补充了0~3岁婴幼儿组的数据,但在年龄上仍未能全面覆盖中国耳聋人群。对易感耳聋基因突变携带率与年龄之间的关系在国内的文献很少,临床医生如了解其发病的年龄特点,将有助于预判最有可能获得耳聋基因诊断阳性结果的耳聋人群,从而使其在临床应用中更具针对性。

GJB2 编码缝隙连接蛋白 Connexin-26(Cx26),在信息传导和物质交换中起重要作用^[14]。其的突变位点多样,中国、日本等亚太地区主要是 233~

235delC^[15],可使遗传密码发生移码突变,产生无功能的缝隙连接蛋白,使钾离子回流进入内淋巴液的循环受到影响,导致Corti氏器的钾中毒,从而引起感音神经性聋^[16]。本研究中, *GJB2* 基因突变检出率为18.14%,处于全国平均水平,突变的类型有 235delC、299delAT、512insAACG和 176del6bp,其中 235delC最常见,占*GJB2* 基因突变患者的 87.18%。26例纯合突变均为 235delC 纯和突变,5例复合杂合突变为 235delC与 299delAT或 512insAACG复合存在的, *GJB2* 基因中有复合突变导致耳聋的报道^[17],由于两条等位基因同时存在突变位点时,将不能产生正常的缝隙连接蛋白,因此会导致重度或极重度感音感音性耳聋的发生。本研究中, *GJB2* 基因突变在发病和就诊的未成人组的检出率明显高于成人组,且发病年龄中检出率最高的是婴幼儿组(23.03%),即语前聋,与语后聋之间有显著性差异。本研究结果支持在中国人群中 23%~33%的语前聋患儿为*GJB2* 基因突变所致,其突变的主要方式为 235delC的结论^[18],也提示我们临床医师对未成年耳聋患者(就诊或发病时小于18岁),特别是小于3岁的婴幼儿,即使无耳聋家族史,也要常规进行*GJB2* 检测。*GJB2* 阳性检出者的发病年龄多集中在1岁以内(66.67%),因而,本研究结果在分子流行病学水平上支持携带*GJB2* 基因突变的耳聋为先天性耳聋的表型特点,也提示我们临床医师新生儿听力筛查联合基因筛查对早期发现遗传性耳聋具有重要的意义。

A1555G/C1494T突变是mtDNA中的热点突变,位于 12S rRNA基因高度保守的解码区^[10],当发生

表 4 *GJB2* 及 mtDNA 突变阳性检出者的听力损失程度构成比

突变基因	阳性总人数	不同听力损失程度的人数及构成比			
		轻度	中度	重度	极重度
<i>GJB2</i>	39	2(5.13%)	4(10.26%)	7(17.95%)	26(66.67%)
mtDNA	25	1(4.00%)	13(52.00%)	0(0.00%)	11(44.00%)

表 5 18例 mtDNA 突变阳性检出者的不同分级标准的听力损失程度构成比

分级标准	不同分级标准的听力损失程度构成比				
	轻度	中度	中重度	重度	极重度
建议案标准	1(5.56%)	9(50.00%)	/	2(11.11%)	6(33.33%)
ISO-1964 标准	4(22.22%)	5(27.78%)	4(22.22%)	1(5.56%)	4(22.22%)
ISO-1997 标准	1(5.56%)	7(38.89%)	/	4(22.22%)	6(33.33%)
全频率段	0	5(27.78%)	6(33.33%)	2(11.11%)	5(27.78%)
4000~8000 Hz	0	0	0	6(33.33%)	12(66.67%)
1000~4000 Hz	0	3(16.67%)	4(22.22%)	6(33.33%)	5(27.78%)

A1555G/C1494T突变时,线粒体核糖体A位形成了一个 1494-1555G-C或A-U碱基配对,使得线粒体12S rRNA基因与*E.coli* 16S rRNA相应解码区更加相似,增强了AmAn如巴龙霉素等在12S rRNA A位的结合力^[19,20]。因此,使用AmAn会导致或加重携带A1555G/C1494T突变个体的听力损害。本研究结果显示mtDNA A1555G/C1494T突变的检出率为13.64%,远远高于全国水平。不同于先期的流行病学是以6~18岁的学龄组儿童及青少年为基础,本研究入选的NSHI耳聋患者中就诊年龄>18岁的有54人,这是对流行病学在年龄上的重要补充,也提示我们临床医师要重视迟发性及渐进性听力减退患者的发现率。mtDNA A1555G/C1494T突变在各组间的阳性检出率没有明显统计学差异,提示AmAn在各个年龄段均可诱发或加重药物性聋。与携带*GJB2*突变患者发病多集中于1岁不同的,mtDNA A1555G/C1494T突变在各个年龄段均可发病,1岁以内仅占28.00%,3岁以后占40.00%,结果提示mtDNA A1555G/C1494T突变不仅可表现为先天性耳聋,也可表现为后天进行性耳聋。提示我们临床医师对母系家庭成员有耳聋病史的新生儿,不管听力正常与否,都要进行易感基因筛查。

215例NSHI耳聋患者,平均年龄12.17岁,平均发病年龄5.61岁,按就诊及发病年龄分为成人组及未成人组,其*GJB2*、mtDNA A1555G/C1494T突变阳性检出率是明显不同的。先期的流行病学很难判断患者的发病年龄,其结果有一定的局限性。本研究从不同的就诊及发病年龄来探讨年龄因素与易感基因接触率的相关性,结果提示我们临床医师要重视患者发病的时间,这将有助于预判最有可能获得阳性的易感耳聋基因诊断结果的耳聋人群,从而使其在临床应用中更具有针对性。

携带*GJB2*突变患者多表现为极重度聋(66.67%),而mtDNA A1555G/C1494T突变患者的听力损失较轻,极重度聋仅占44.00%,大多都有残余听力,两者在构成比上有统计学差异。结果提示mtDNA A1555G/C1494T相关耳聋存在进行性加重的特点。因此,对mtDNA A1555G/C1494T相关耳聋进行早期耳聋基因诊断有重要的临床意义,这将有助于通过用药指导,以保存患儿其母系成员现有听力,延缓听力下降,可以长时间维持较好的生存质量,从而获得更多受教育的机会。

很多研究表明当没有接触AmAn突变时,携带A1555G/C1494T突变的先证者及母系成员的耳聋表型也存在不同程度的差异,包括听力损失的严重程度、发病年龄、听力曲线及耳聋外显率等^[8,21~24]。本研究中18例mtDNA A1555G/C1494T阳性检出者完整的PTA,其听力曲线中有17例为斜坡型,以高频下降为主,特别是4~8 kHz,而低频及语频段大多正常或仅为轻度聋。目前,国内外文献普遍采用的耳聋分级为ISO-1964标准,是以0.5~2 kHz的平均听域为准,轻度聋26~40 dB,中度聋41~55 dB,中重度聋56~70 dB,重度聋71~90 dB,极重度聋>91 dB。1997年WHO日内瓦会议修订标准以0.5~4 kHz的平均听域为准,轻度聋26~40 dB,中度聋41~60 dB,重度聋61~80 dB,极重度聋>81 dB。我们考虑,若仅以ISO-1964标准来判断患者听力损失的程度,结果会偏轻,遂辅以全频率段(0.25~8 kHz)、4~8 kHz、1~4 kHz的平均听域为准,以及ISO-1997标准来重新判断听力损失的程度(表5),ISO-1964标准与4~8 kHz的平均听域标准有统计学差异,与其他之间则无显著性差异。其中以4~8 kHz的平均听域来判断听力损失的程度,更容易早期发现耳聋患者。临床上很多携带mtDNA A1555G/C1494T突变的母系成员,无自觉听力减退,仅在听力测试时发现高频下降,而低频及语频段大多正常或仅为轻度聋。李琦等研究发现*GJB2*单杂合突变携带者各年龄段4~8 kHz高频听力均下降^[25]。因而,提示临床医师在判断患者听力损失的程度时要重视4~8 kHz频率段,对高频听力下降者及早进行*GJB2*及mtDNA A1555G/C1494T基因检测。

综上所述,*GJB2*基因突变主要表型为先天性耳聋,而mtDNA A1555G/C1494T基因突变不仅可表现为先天性耳聋,也可表现为后天进行性耳聋,AmAn在各个年龄段均可诱发或加重药物性聋。新生儿听力和易感基因联合筛查对早期发现遗传性耳聋具有重要的意义。临床医师需要掌握*GJB2*基因和mtDNA A1555G/C1494T的发病规律和临床特点,从而做到早期诊断,早期干预。

参考文献(References):

- [1] Marcolla A, Bouchetemple P, Lerosey Y, Marie JP, Dehesdin D. Genetic deafness. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*, 2006, 123(3): 143-147. DOI

- [2] 刘学忠, 欧阳小梅, Yan D, 袁永一, 袁慧军. 中国人群遗传性耳聋研究进展. 中华耳科学杂志, 2006, 4(2): 81–89. DOI
- [3] 戴朴, 刘新, 于飞, 朱庆文, 袁永一, 杨淑芝, 孙勃, 袁慧军, 杨伟炎, 黄德亮, 韩东一. 18 个省市聋校学生非综合征性聋病分子流行病学研究(I) - GJB2 235delC 突变和线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变筛查报告. 中华耳科学杂志, 2006, 4(1): 1–5. DOI
- [4] 王秋菊, 顾瑞. 关于非综合征型遗传性听损伤家系遗传学及听力学描述术语建议案. 中华耳科学杂志, 2003, 1(4): 46–47, 67. DOI
- [5] 李征玥, 程静, 卢宇, 张旭, 金占国, 贾婧杰, 袁慧军. 进行性非综合征型聋家系临床表型及遗传学分析. 听力学及言语疾病杂志, 2012, 20(3): 201–205. DOI
- [6] Li R, Greinwald JH Jr, Yang L, Choo DI, Wenstrup RJ, Guan MX. Molecular analysis of the mitochondrial 12S rRNA and tRNA^{Ser(UCN)} genes in paediatric subjects with non-syndromic hearing loss. *J Med Genet*, 2004, 41(8): 615–620. DOI
- [7] Li R, Xing G, Yan M, Cao X, Liu XZ, Bu X, Guan MX. Cosegregation of C-insertion at position 961 with the A1555G mutation of the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family with maternally inherited hearing loss. *Am J Med Genet A*, 2004, 124A(2): 113–117. DOI
- [8] Chen BB, Sun DM, Yang L, Zhang CQ, Yang A, Zhu Y, Zhao JY, Chen YY, Guan MQ, Wang XJ, Li RH, Tang XW, Wang JD, Tao ZH, Lu JX, Guan MX. Mitochondrial ND5 T12338C, tRNA(Cys) T5802C, and tRNA(Thr) G15927A variants may have a modifying role in the phenotypic manifestation of deafness-associated 12S rRNA A1555G mutation in three Han Chinese pedigrees. *Am J Med Genet A*, 2008, 146A(10): 1248–1258. DOI
- [9] Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet*, 1999, 23(2): 147. DOI
- [10] 王国建, 袁永一, 韩冰, 黄莎莎, 康东洋, 张昕, 董敏, 韩东一, 戴朴. 不同年龄的重度耳聋患者常见耳聋基因突变的阳性率分析. 中华耳科学杂志, 2010, 8(4): 392–396. DOI
- [11] Guan MX. Mitochondrial 12S rRNA mutations associated with aminoglycoside ototoxicity. *Mitochondrion*, 2011, 11(2): 237–245. DOI
- [12] 胡书君, 历建强, 张鹏, 兰兰, 郑锦, 李娜, 宋杰, 王大勇, 田红霞, 丁海娜, 王嵩川, 王秋菊. 新生儿听力与聋病易感基因联合筛查的临床研究. 听力学及言语疾病杂志, 2010, 18(3): 222–224. DOI
- [13] 张初琴, 陈波蓓, 黄加云, 孙东梅, 陈迎迎, 项松洁, 管敏鑫. 人工耳蜗植入聋儿术前基因检测及家系分析. 遗传, 2008, 30(11): 1406–1410. DOI
- [14] Todt I, Hennies HC, Basta D, Ernst A. Vestibular dysfunction of patients with mutations of Connexin 26. *Neuroreport*, 2005, 16(11): 1179–1181. DOI
- [15] Ohtsuka A, Yuge I, Kimura S, Namba A, Abe S, Van Laer L, Van Camp G, Usami S. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation. *Hum Genet*, 2003, 112(4): 329–333. DOI
- [16] Lefebvre PP, Van De Water TR. Connexins, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin 26 gene. *Brain Res Brain Res Rev*, 2000, 32(1): 159–162. DOI
- [17] Hobertson NG, Lu L, Heller S, Merchant SN, Eavey RD, McKenna M, Nadol JB Jr, Miyamoto RT, Linthicum FH Jr, Lubianca Neto JF, Hudspeth AJ, Seidman CE, Morton CC, Seidman JG. Mutations in a novel cochlear gene cause DFNA9, a human nonsyndromic deafness with vestibular dysfunction. *Nat Genet*, 1998, 20(3): 299–303. DOI
- [18] 姜鸿, 陈晓巍. 耳聋基因诊断. 协和医学杂志, 2012, 3(2): 134–137. DOI
- [19] Qian YP, Guan MX. Interaction of aminoglycosides with human mitochondrial 12S rRNA carrying the deafness-associated mutation. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(11): 4612–4618. DOI
- [20] 郑斌娇, 彭光华, 陈波蓓, 方芳, 郑静, 伍越, 梁玲芝, 南奔宇, 唐霄雯, 朱翌, 吕建新, 管敏鑫. 浙江省非综合征型耳聋患者 12S rRNA 突变频谱分析. 遗传, 2012, 34(6): 695–704. DOI
- [21] 张婷, 陈波蓓, 郑静, 龚莎莎, 张初琴, 吕建新, 管敏鑫. 五个母系遗传非综合征性耳聋和药物性耳聋的中国汉族家系. 中华医学遗传学, 2011, 28(4): 367–373. DOI
- [22] Lu JX, Qian YP, Li ZY, Yang AF, Zhu Y, Li RH, Yang L, Tang XW, Chen BB, Ding Y, Li YY, You JY, Zheng J, Tao ZH, Zhao FX, Wang JD, Sun DM, Zhao JY, Meng YZ, Guan MX. Mitochondrial haplotypes may modulate the phenotypic manifestation of the deafness-associated 12S rRNA 1555A > G mutation. *Mitochondrion*, 2010, 10(1): 69–81. DOI
- [23] 杨爱芬, 郑静, 吕建新, 管敏鑫. 修饰因子对线粒体 DNA 突变致聋的影响. 中华医学遗传学杂志, 2010, 28(2): 165–171. DOI
- [24] Lu J, Li Z, Zhu Y, Yang A, Li R, Zheng J, Cai Q, Peng G, Zheng W, Tang X, Chen B, Chen J, Liao Z, Yang L, Li Y, You J, Ding Y, Yu H, Wang J, Sun D, Zhao J, Xue L, Wang J, Guan MX. Mitochondrial 12S rRNA variants in 1642 Han Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss. *Mitochondrion*, 2010, 10(4): 380–390. DOI
- [25] 李琦, 方如平, 王国建, 刘芳, 戴朴. GJB2 235 delC 单杂合突变携带者的纯音测听评估. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 46(7): 543–546. DOI