

江苏省泰兴地区 300 例听力正常孕妇 药物性耳聋的基因筛查

肖颖¹, 吴玉璘², 赵永秀¹, 林宁²

(1. 江苏省泰兴市妇幼保健院 妇产科, 江苏 泰兴, 225400;

2. 江苏省卫生健康发展研究中心, 江苏 南京, 210000)

摘要: **目的** 分析江苏省泰兴地区 300 例听力正常孕妇的药物性耳聋基因筛查结果。**方法** 选取 300 例孕妇作为研究对象,应用荧光聚合酶链式反应(PCR)进行线粒体 DNA 12S rRNA 的 A1555G 和 C1494T 突变位点的筛查,对孕妇携带者子代进行相同的突变位点筛查。**结果** 300 例孕妇中,筛查出 A1555G 突变携带率 0.67% (2/300),未发现 C1494T 突变;2 例孕妇携带者的子代均携带 A1555G 突变,但均通过了新生儿听力筛查。**结论** 在江苏省泰兴地区开展孕妇药物性耳聋突变筛查具有重要的意义,可以为突变携带者及子代提供合理的用药指导、遗传咨询,降低药物性耳聋的发生率。

关键词: 药物性耳聋; 基因突变; 孕妇; 筛查; 线粒体

中图分类号: R 764.43; R 596.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)10-015-03 DOI: 10.7619/jcmp.20211697

Genetic screening of drug-induced deafness in 300 pregnant women with normal hearing in Taixing area of Jiangsu Province

XIAO Ying¹, WU Yulin², ZHAO Yongxiu¹, LIN Ning²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Taixing City Maternal and Child Health Care Hospital of Jiangsu Province, Taixing, Jiangsu, 225400; 2. Jiangsu Provincial Health Development Research Center, Nanjing, Jiangsu, 210000)

Abstract: Objective To analyze the genetic screening result of drug-induced deafness in 300 pregnant women with normal hearing in Taixing area of Jiangsu Province. **Methods** Totally 300 pregnant women were selected as research subjects. The A1555G and C1494T mutation sites of mitochondrial DNA 12S rRNA were screened by fluorescent polymerase chain reaction (PCR), and the same mutation sites were also screened in the offspring of carriers of pregnant women. **Results** Among 300 pregnant women, the carrying rate of A1555G mutation was 0.67% (2/300), and the C1494T mutation was not found. The neonates of the two carriers of pregnant women had A1555G mutation, but they all passed the neonatal hearing screening. **Conclusion** It is of great significance to carry out mutation screening of drug-induced deafness in pregnant women in Taixing area of Jiangsu Province, which can provide reasonable medication guidance and genetic counseling for mutation carriers and their offspring, and reduce the incidence of drug-induced deafness.

Key words: drug-induced deafness; gene mutation; pregnant woman; screening; mitochondrion

耳聋是较为常见的感觉神经系统缺陷性疾病,研究^[1]统计约 2/3 的听力损害是由遗传缺陷所致,其中线粒体遗传是一种母系遗传,而线粒体 DNA 12S rRNA 是氨基糖苷类抗生素诱导的非综合征性耳聋研究中的热点区域^[2],其中 A1555G

和 C1494T 这 2 个位点的突变是目前公认的与药物性耳聋密切相关的致病性突变,可引起突变携带者对氨基糖苷类抗生素表现出高度敏感^[3-5]。目前,江苏省泰兴地区孕妇药物性耳聋基因筛查知识普及率较低,有关药物性耳聋基因的突变率

等基础数据及相关研究报道较少。本研究对孕妇进行 A1555G、C1494T 基因突变筛查,早期发现药物性耳聋敏感个体、迟发型遗传性耳聋个体,为药物性耳聋遗传咨询及预防提供理论依据和干预措施,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 5 月—2020 年 6 月江苏省泰兴市妇幼保健院定期参加产前检查的孕妇 300 例,筛查前均详细告知线粒体 DNA 12S rRNA 基因突变筛查相关知识和风险,所有研究对象均自愿签订知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集:收集所有研究对象的基本信息,包括耳聋家族史、耳聋发病原因等资料。

1.2.2 样本采集:抽取研究对象的外周静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,样本保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻备用。

1.2.3 药物性耳聋基因筛查:应用药物性耳聋基因检测试剂盒(山东英盛生物技术有限公司,货号 191201),采用碱基突变全血检测法,在 1.5 mL 离心管中分别加入抗凝血液 200.0 μL ;加纯水 600.0 μL ,震荡混匀,室温放置 10 min;12 000 转/min 离心 5 min 后弃上清;加纯水 600.0 μL ,震荡混匀,室温放置 5 min,期间混匀 1 次,12 000 转/min 离心 5 min 后吸弃上清;加 200.0 μL DNA 提取液,100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 8 min;短暂震荡,12 000 转/min 离心 5 min,取上清用于检测。在 96 孔板上摆放 2 套八连管,标记检测位点(1555A > G、1494C > T)、样本编号、阴性/阳性质控;每管分装 23.0 μL 待测位点的聚合酶链式反应(PCR)的反应液于 PCR 反应管内;确认离心好的样本、阴性/阳性质控品与 PCR 反应管的排列顺序一致;向分装好试剂的 PCR 管内分别加入 2.0 μL 待测 DNA 模板、阴性/阳性质控。开启 ABI7500 荧光 PCR 仪,设置 PCR 扩增参数,并设定 FAM、HEX(VIC)检测通道;核对扩增程序及扩增体积 25.0 μL 无误,按顺序放入待扩增样本,开始扩增。最后根据“反应孔信息表”项目下仪器自动读取的 Ct 值进行结果判读。

1.2.4 子代听力筛查:采用丹麦 MADSEN 耳声发射仪和自动听性脑干反应筛查仪,对出生 48 h 至出院前的新生儿进行听力筛查。

1.3 评估指标

统计 300 例孕妇药物性耳聋基因筛查突变率;对突变基因携带者提供科学用药指导,对子代进行药物性耳聋基因筛查,对子代进行听力筛查并随访跟踪。

2 结果

300 例孕妇中,298 例通过了药物性耳聋基因筛查,A1555G 基因突变携带率为 0.67%(2/300),未发现 C1494T 基因突变。子代耳聋基因筛查结果显示,未通过筛查的 2 例孕妇子代均为 A155G 携带者。2 例 A1555G 基因突变携带者的子代均通过了新生儿听力筛查。

3 讨论

药物性耳聋是指使用某些药物引起的位听神经系统中毒性损害而诱发的一种非综合征性耳聋,具有遗传易感性^[6-7]。线粒体 DNA 12S rRNA 突变是其主要致病机制,A1555G 和 C1494T 是较为常见的突变位点。研究^[8-10]报道,线粒体 DNA 12S rRNA 突变携带者出生时听力正常,若使用氨基糖苷类抗生素可出现感应神经性耳聋。氨基糖苷类抗生素具有较强的毒副作用,对听觉、前庭系统都会造成不可逆的损伤^[11],因其具有抗菌谱广、临床起效快等特点,目前仍广泛应用于临床,导致氨基糖苷类抗生素诱发致聋成为新发耳聋的主要原因。

本研究对 300 例孕妇进行药物性耳聋基因筛查,研究对象均为首次就诊,说明泰兴地区的孕妇及家属对耳聋基因筛查的重要性认知不足,因此需要加强专业卫生人员相关培训,大力宣传孕妇耳聋基因筛查的重要性。本研究采用 PCR 法检测出孕妇线粒体 DNA 12S rRNA 的 A1555G 携带率为 0.67%,子代线粒体 DNA 中 A1555G 携带率也为 0.67%,因线粒体基因具有母系遗传特点,故突变位点在母体与子代中的携带率并无差异。

线粒体 12S rRNA 突变可导致氨基糖苷类抗生素耳聋^[12]。在中国,线粒体 DNA 12S rRNA 基因以 A1555G 突变为主,C1494T 突变概率较低^[13-14]。本研究共检出 2 例 A1555G 基因突变,说明携带者应避免使用氨基糖苷类药物,防止药物性耳聋的发生。本研究孕妇 A1555G 突变率仅为 0.67%,且未检测到 C1494T 突变,低于研究^[13-14]报道的突变率,可能与本研究样本量较

少、各地区间存在差异等因素有关。本研究孕妇线粒体 DNA 12S rRNA 中 A1555G 突变 2 例, 突变率为 0.67%, 原因可能为本研究仅筛查了线粒体 DNA 12S rRNA 的 2 个热点区域, 即 A155G 和 T1494T, 而线粒体 DNA 上其他位点突变造成的药物性耳聋存在漏筛。因此, 需进一步完善本研究中线粒体 DNA 其他位点上的筛查。

综上所述, 在江苏省泰兴地区对孕妇人群开展药物性耳聋基因突变筛查, 不仅可指导携带者合理用药, 为携带者家庭揭示分子病因, 避免孕期药物性耳聋的发生, 还可对孕妇产子代进行跟踪随访, 进行专项管理, 及早干预并构建完整的药物性耳聋防控体系。

参考文献

[1] 王旭东, 洪拥军, 陈艺文, 等. 厦门地区遗传性耳聋流行病学调查[J]. 中华耳科学杂志, 2016, 14(6): 753-758.

[2] ZHAO H, LI R H, WANG Q J, *et al.* Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family[J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 74(1): 139-152.

[3] 唐燕青, 文春秀, 何升, 等. 21386 例新生儿听力筛查与聋病易感基因联合筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(10): 66-67, 102.

[4] 温晓君, 颜善活, 胡伟群, 等. 高分辨率熔解曲线法检测药物性耳聋相关线粒体 12S rRNA 突变[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(1): 1-4.

[5] 丁禹, 卓广超, 郑辉, 等. 一种药物性耳聋相关的线粒体

A1555G 或 C1494T 突变快速检测的方法研究[J]. 中华全科医学, 2017, 15(7): 1210-1212, 1222.

[6] MARCOLLA A, BOUCHETEMBLE P, LEROSEY Y, *et al.* Genetic deafness [J]. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*, 2006, 123(3): 143-147.

[7] 叶林可, 陈茜, 戴显宁, 等. 6714 例新生儿脐血线粒体 DNA 12S rRNA 基因筛查的价值分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(17): 3246-3249.

[8] HILGERT N, SMITH R J H, VAN CAMP G. Forty-six genes causing nonsyndromic hearing impairment: which ones should be analyzed in DNA diagnostics[J]. *Mutat Res*, 2009, 681(2/3): 189-196.

[9] HOBBIIE S N, BRUELL C M, AKSHAY S, *et al.* Mitochondrial deafness alleles confer misreading of the genetic code[J]. *PNAS*, 2008, 105(9): 3244-3249.

[10] PREZANT T R, AGAPIAN J V, BOHLMAN M C, *et al.* Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness[J]. *Nat Genet*, 1993, 4(3): 289-294.

[11] 侯小娟, 丁伟, 张伦, 等. 新疆地区 795 例非综合征性耳聋患者 A1555G 和 C1494T 突变分析[J]. 实用预防医学, 2019, 26(3): 333-335.

[12] 吴燕珍, 洪颖颖, 周丽丽. 线粒体 m. 1555A > G 突变致聋家系临床异质性的遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(4): 11-13.

[13] FU Y L, ZHA S W, LÜN, *et al.* Carrier frequencies of hearing loss variants in newborns of China: a meta-analysis[J]. *J Evid Based Med*, 2019, 12(1): 40-50.

[14] 李孟兰, 林宁, 石慧, 等. 江苏地区人群线粒体 DNA 12S rRNA A1555G 和 C1494T 位点突变分析[J]. 中国医药导报, 2021, 18(1): 27-30.

(本文编辑: 梁琥)

(上接第 14 面)

[10] 余占娟, 王月霞, 吕豪, 等. 乙型肝炎病毒核酸检测降低输血感染残余风险的初步评估[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2017, 31(6): 534-536.

[11] 钱江, 蔡隽, 华重千, 等. ELISA 与 NAT 检测在血液 HBV 筛查中的关系研究[J]. 浙江医学, 2019, 41(12): 1322-1324.

[12] 蔡丽娜, 朱绍汶, 周春, 等. 2010—2013 年中国南京地区无偿献血人群 HBV、HCV、HIV 感染情况分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(4): 1089-1093.

[13] 夏传友, 刘志泉, 陈永飞, 等. 佛山市顺德区无偿献血者核酸检测情况分析[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(8): 935-937.

[14] 古醒辉, 叶贤林, 杜鹏, 等. 深圳市无偿献血人群 HBsAg

筛查阳性的血清学特性检测分析[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(4): 375-378.

[15] 周豪杰, 李然, 游冉冉. HBsAg(+) / NAT(-) 献血者 HBsAg 定量检测及血清学特征[J]. 中国热带医学, 2017, 17(6): 581-584.

[16] 陈显, 胡文佳, 黄成垠, 等. 献血者 ELISA 检测为灰区标本的确证试验与核酸检测情况分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(2): 198-199.

[17] 王立林, 卢亮, 聂冬梅, 等. 2 种核酸筛查系统对血清学阳性献血者检测结果的分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(9): 1090-1093.

(本文编辑: 陆文娟)