

非综合征性遗传性耳聋的基因诊断进展

丁红珂 综述 尹爱华 校审

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

【摘要】 非综合征性耳聋是感官缺陷中最常见的一类疾病。耳聋基因诊断正在经历从一代测序到各种高通量测序平台的技术变革, 针对不同人群有相应的检测手段。基因诊断对于早期发现、早期预防、耳毒性药物应用及生育风险评估有重要指导意义。

【关键词】 非综合征性耳聋; 基因诊断; 目标基因捕获; 高通量测序

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

耳聋是全球公共卫生非常关注的一类影响人类健康的疾病。在我国, 平均每年每 200 万的新生儿中就有 30 000 个婴儿罹患先天性耳聋^[1,2], 与各国统计的每 1000 个新生儿中有 1~3 个患儿^[3]的发病率相似。据估算, 我国每年增加药物性耳聋和迟发性耳聋导致儿童听力障碍的约 30 000 余人^[4]。耳聋已严重影响了我国人口素质, 增加了国民医疗负担。粗略估计大约有 50% 的学语前听力障碍都是由遗传性因素引起^[5]。由于在儿童早期缺乏适当的听觉刺激和充分的语言暴露感知, 中度及以上的听力障碍严重阻碍了语言能力的学习、认知的发展和心理机能的发育等^[4], 成为听障患者人际交流和融入社会的主要障碍^[6]。

为有效减少儿童听力语言障碍的发生, 新生儿听力筛查的推广可以实现早发现、早诊断、早干预和早康复的目的。但是听力筛查有诸多局限性, 初筛、复筛到最终确诊可因新生儿家长的拖延而延误, 另外对于线粒体基因突变引起的药物性耳聋也无法实现很好的预防目的^[4], 因此结合有效的常见致病基因突变筛查, 可以快速了解新生儿耳聋基因携带情况, 达到快速诊断的目的, 对发现的患儿进行学语前能力的早期干预或药物性耳聋携带者的用药指导意义重大。

近 90%~95% 的听力障碍和听力困难的患儿出生于听力正常的家庭^[7], 因此清楚地了解育龄期

妇女的耳聋突变携带率及相关致病基因的突变谱情况, 对于携带者的检出、配偶基因检测及准确的遗传咨询是很重要的^[8]。具有耳聋家族史的家庭, 需通过详细的遗传咨询了解先证者的情况, 有目的地进行基因诊断, 给家族中的育龄期夫妇提供准确的遗传信息。若夫妇双方均为同一耳聋基因的突变携带者时, 要适时地选择产前诊断来评估胎儿的发病风险。

1 遗传性耳聋概述

先天性耳聋的致病因素大致可以分为遗传性因素和非遗传性因素。遗传因素造成的耳聋约占 60%~70%, 其中约 30% 为综合征性耳聋 (syndromic hearing loss, SHL), 70% 为非综合征性耳聋 (non-syndromic hearing loss, NSHL)^[9]。NSHL 中 75%~80% 主要呈常染色体隐性遗传方式 (DFNB), 还有 20% 为常染色体显性遗传 (DFNA)、2%~5% 为 X 连锁遗传 (DFNX) 及 1% 的线粒体突变母系遗传^[10]。通常情况下, 常染色体隐性遗传的 NSHL 表现为学语前的、非进行性的 (稳定的) 而且是重度到极重度的耳聋^[11]; 常染色体显性遗传的 NSHL 主要表现为学语后的进行性耳聋^[12]。

基因型与表型之间的相关性一直是医学工作者和科学家们所感兴趣的, 来自基因突变对健康影响的丰富信息已经显著扩大了对遗传性疾病的一般理解^[13]。然而对于 NSHL 而言, 要充分理解这些相

关性具有很大的挑战性,因为 NSHL 的临床表型差异大而且遗传异质性非常强^[13]。同时 NSHL 的基因诊断工作也存在一定困难,除了遗传异质性,还由于①NSHL 突变种类繁多,如单核苷酸变异、插入缺失突变及拷贝数目变异等;②非再现性突变占有较高比例;③不同种族的人群突变频率有很大差异^[14]。到目前为止,已经发现的 NSHL 相关致病基因有近 100 个(<http://hereditaryhearingloss.org>)。

近年来的研究发现,*GJB2* (MIM 121011) 和 *SLC26A4* (MIM 605646) 基因是最主要的两个致聋基因^[15-17];线粒体 12S *rRNA* 基因是最常见的药物性致聋基因,与氨基糖苷类抗生素致聋密切相关^[18]; *GJB3* 基因与高频听力损失有关^[19]。以上 4 个基因在国内为耳聋病因检测的主要目标基因。

2 NSHL 主要诊断方法

NSHL 主要通过分子水平的基因诊断来确诊。聚合酶链反应(PCR)技术^[20]和 Sanger 测序法问世为 DNA 分子诊断奠定了基础^[21]。

2.1 早期 NSHL 致病基因研究 早些年 NSHL 致病基因的研究主要是全基因连锁分析结合 Sanger 测序法。首先通过对一个临床诊断相对明确的大家系进行全基因组连锁不平衡分析定位致病关键区域^[22],然后经定位克隆的方法确定致病基因。例如,1988 年通过连锁分析将 NSHL 首次定位到了 Xq 染色体区域^[23],后通过 7 年的时间找到了 *POU3F4* (MIM 300039) 基因^[24];1992 年首次定位了 NSHL 的常染色体区域 5q31^[25],并在随后的 5 年发现了 *DIAPH1* (MIM 602121) 基因^[26]。通过连锁分析和定位克隆方法找到的基因还有 *GJB2* (MIM *121011)、*TECTA* (MIM 602574) (呈显性遗传)、*COL11A2* (MIM 120290) (呈显性遗传)、*KCNQ4* (MIM 603537)、*OTOF* (MIM 603681)、*GJB6* (MIM 604418)、*MYO3A* (MIM 606808) 等 50 多个基因;通过定位克隆后筛选耳聋相关基因而被发现的有 *MYO7A* (MIM 276903)、*SLC26A4* (MIM 605646)、*TECTA* (呈隐性遗传)、*COL11A2* (呈隐性遗传) 4 个基因;直接通过定位克隆被发现的基因有

GJB3 (MIM 603324)^[13]。

早期一些大的耳聋家系对于连锁分析发现新的基因确实提供了非常有价值的遗传信息,但该方法不适合在一些小的耳聋家系或者散发病例中应用,且早期的基因克隆技术难度大,耗时漫长。在高通量测序技术出现之前的很长一段时间里,临床及实验室工作者都是采用 Sanger 测序法对已经定位的 NSHL 候选基因进行逐一序列分析。Sanger 测序法作为分子诊断的金标准,可以准确地判断突变位置及种类,它可以有效地运用到有明确耳聋家族史的个体或者耳聋患者本身的分子诊断中,对常见致病基因进行突变检测。但对于大规模的人群筛查和罕见遗传性耳聋病例诊断来说,该方法效率相对较低不宜采用。

2.2 高通量测序的应用 遗传性耳聋新基因的发现速度随着近几年高通量测序(next-generation sequencing, NGS)的逐步成熟化而加快。NGS 的商业化发展,大大降低了测序成本并缩短了检测时间^[27-29]。基于 NGS 的全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)在疑似单基因疾病的鉴别诊断中具有同时性、广泛性的巨大潜力^[30],但目前仍然没有必要在一个大的群体中常规应用全基因组扫描来发现罕见及新突变^[31],因为 WGS 的成本仍然是相对昂贵的,而且临床应用还有非常多的问题需要解决,如大量编码区和非编码区的数据解读及与疾病相关性的分析等,只有当我们对基因组非编码区的功能有足够的认识后,WGS 才能更好地发挥它的潜能^[30]。

近年来,NSHL 的新致病基因和新突变主要是通过全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)技术而被发现的。WES 正在成为发现遗传性疾病新致病基因和新突变的有效手段,这是因为大部分孟德尔遗传性疾病都是由致病基因的外显子或者剪切区域的突变引起,而这部分序列仅仅只占到人基因组的 1%^[32]。*MCM2* (MIM 116945) 在一个中国家系中被发现为一个新的 NSHL 致病基因^[33],该基因突变可以引起 DFNA。*TBC1D24* (MIM 613577)、*P2RX2* (MIM 600844)^[34]、*TNC* (MIM 187380)^[35]、*EPS8* (MIM 600206)^[36]、*OSB-*

PL2 (MIM 606731)^[37]等10多个基因被发现为NSHL新的相关致病基因,另有30多个新突变已被WES检测出来与NSHL相关^[30,38]。

尽管WES在疾病基因检测这一领域快速发展成熟,且对于无法进行连锁分析的NSHL小家系或者罕见散发病例来说,用常规手段排除常见致病基因后,WES可以作为有效的检测方法,但该方法仍不适合大规模的人群筛查。NSHL具有一些常见突变位点,没有必要对人群进行所有基因的外显子检测,这样既浪费成本又增加受检者的经济负担,而且检测出来的大量遗传变异的数据分析也是一大问题。

2.3 目标基因捕获及芯片技术的应用 对NSHL致病基因的研究目前更倾向于目标基因捕获(targeted gene capture, TGC)技术的应用。NGS处理过程中没有选择性区域富集,任何一个基因组区域被测序的机会都是均等的。而TGC是基于分子杂交的捕获技术,又分为液相和固相两种。通常液相杂交使用生物素标记的DNA或者RNA探针,又称液相芯片技术。这些寡核苷酸的DNA或者RNA探针长度约120 bp与目标基因序列完全互补配对,并采用叠瓦式设计来提高目标区域的捕获效率^[39]。固相杂交通常是将DNA探针固定到固体支持物上,例如玻璃微阵列芯片^[40-42]。可见TGC技术中目标区域通过与特定的DNA或RNA探针结合得到富集从而增加了测序深度^[39]。与NSHL相关的致病基因和位点有100个之多,按照30×的测序深度,一个人基因组(大约3.2 Gbp)通过NGS测序获得的序列大约在100 Gbp,相当于将目标基因捕获的测序深度增加了至少1000倍^[43-45]。因此相同的测序容量,如果只研究耳聋致病基因,理论上可以完成至少1000个标本的序列分析,大大提高了检测效率,也降低了检测成本。TGC的优势在于,任何一个感兴趣的基因组区域都可以被设计出来而达到被富集的目的,例如,可以把所有与NSHL相关的致病基因的所有外显子设计在一个panel中进行富集检测,因此TGC比WES更有针对性,目标区域更明确,适合于遗传异质性较强的NSHL致病突变研究。然而TGC-panel的一个主要缺陷是随着致病

基因数的增加需要重新定制^[38],富集了大量致病位点的TGC与WES类似,并不适用于人群筛查。

NSHL的致病基因和突变种类繁多,但在特定人群中存在一些热点突变,利用这些热点突变进行人群携带者的筛查是非常有意义的^[46,47]。国内北京博奥生物(CapitalBio, Beijing, China)研发的微阵列芯片检测平台,是针对中国人群的9个突变热点而设计的,来自对28个省和自治区的大规模人群流行病学研究^[48-52]分析得到,这9个热点突变可以解释>80%的遗传性耳聋。目前国内临床实验室多数采用该芯片平台进行普通人群筛查^[53,54],也包括育龄期妇女及新生儿的基因筛查。

3 NSHL基因诊断策略总结

NSHL基因诊断的方法越来越多,如何在临床病例中运用好这些方法,或者说针对不同的病例如何选择合适的方法是需要全面考虑的。下面就不同人群简述一下适合的检测手段。

3.1 正常人群/育龄期妇女基因筛查 博奥生物研发的NSHL常见致病位点的微阵列芯片杂交在国内已经广泛用于普通人群的筛查,目前该款基因芯片包含有9个NSHL常见位点:*GJB2*基因c.35 del G、c.235 del C、c.299 del AT和176 del 16bp, *SLC26A4*基因IVS7-2 A>G和c.2168 A>G, *GJB3*基因c.538C>T,线粒体12S rRNA基因c.1555A>G和c.1494C>T。对于筛查出突变的携带者,建议其配偶进行相应基因的全部外显子Sanger测序法,如果同时检测到为基因突变携带者,则需要进行产前诊断来确定胎儿携带耳聋致病基因的情况。

3.2 新生儿基因筛查 9个常见位点的芯片平台也适用于新生儿基因筛查。一方面,被诊断为携带线粒体基因突变的新生儿,通过用药指南提示临床医生终身严禁使用氨基糖苷类药物,避免药物性聋的发生;另一方面,筛查为其他耳聋突变的个体,结合新生儿听力筛查判断是确定携带者,还是隐性患者。如果听力筛查存在异常,则可以有针对性的进行相应基因的Sanger测序分析,寻找另一个突变位点进行确诊,实现早期诊断。

3.3 有耳聋家族史的个体基因诊断 生育过耳聋患儿的夫妇双方就诊时,建议先确定患儿的致病基因型,可首先采用 Sanger 测序法针对耳聋常见几个致病基因进行序列分析,未发现突变的情况下,可以行 TGC 或者 WES 的策略进行分析;高通量测序找到致病突变后,要使用 Sanger 测序法进行结果验证,确认无误后,应分别检测突变的父母方来源,最终有目的地进行产前诊断评估再生育风险。

对于有家族史的个体来说,与上述诊断方法相同,都是首先确定家族先证者的致病基因型,再对其他亲属进行有针对性的基因分析。分析策略需从常见致病基因入手,常见位点的芯片检测加上 Sanger 测序法,排除常见位点后,可以考虑采用 TGC 的方法,如果 TGC 仍然不能发现致病突变,或者患者临床表型确系非常罕见的情况下,WES 则可以作为下一步需要考虑的策略。

总之,需要结合就诊者自身的患病情况和经济状况来选择适宜的检测手段。

4 展 望

遗传性耳聋的基因诊断对耳聋的预测、预防和早期人工耳蜗的植入有重要的指导意义,对均为耳聋突变携带者的夫妇双方提供再生育风险的评估也有重要价值,因此,耳聋基因诊断的有效性直接关系到每个患者的个人利益。然而耳聋这一表型又具有非常复杂的临床差异,从非综合征到各种综合征,耳聋的发病年龄、严重程度以及进展程度都各不相同,对应的致病基因更是不胜枚举。

针对大规模的正常人群需要建立有效快速的耳聋基因筛查手段,根据国内突变分布情况选择最常见的突变类型进行普查,微阵列芯片技术非常适于该类检测,通量相对较高,检测周期短,成本相比高通量测序具有很大优势。对于临床表型非常罕见的耳聋患者,首先采用 Sanger 测序分析排除最常见的致病基因后,可以考虑 TGC 的方法,目前国内的很多机构都在研发 NSHL 的 TGC 平台,有望很快投入商业化应用。WES 可作为补充方法,有利于发现新基因和新突变。在未来很长一段时间内 TGC 和 WES 都可能会成为 NSHL 基因研究的主要手段。

根据不同病人的不同情况,结合以上各项技术优势尽可能地解决临床面临的问题。

NGS 技术刚刚起步,现阶段是发现新基因和新突变的爆发期,但随之而来的应该是与之相匹配的生物信息学的发展时代,海量的数据需要一套行之有效的生物信息学工具来进行分析、临床信息的提取、与疾病之间关系的预测等。突变位点的功能学研究也是未来的一个重点,发现突变很容易实现,但解释所发现的突变与疾病之间是否存在因果关系,需从不同层面去验证。功能学研究还可能为遗传性耳聋的基因治疗提供有意义的分子靶向目标。只有明确了遗传变异与疾病的真正关系之后,我们才能从分子水平更好地解释临床病患的原因,更准确地指导、服务于病人,实现真正意义上的早诊断和早预防。

参 考 文 献

- [1] Dai P, Liu X, Yu F, et al. Molecular etiology of patients with nonsyndromic hearing loss from deaf-mute schools in 18 provinces of China[J]. Chinese J Otol, 2006, 4: 1-5.
- [2] Chen G, Yi X, Chen P, et al. A large-scale newborn hearing screening in rural areas in China[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2012, 76(12): 1771-1774.
- [3] Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening a silent revolution[J]. N Engl J Med, 2006, 354: 2151-2164.
- [4] 曲春燕, 孙喜斌, 晁欣. 新生儿听力筛查与耳聋基因筛查联合应用的意义[J]. 中国听力语言康复科学杂志, 2014, 6: 462-464.
- [5] Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM. Epidemiology, etiology and genetic patterns in Hereditary Hearing Loss and its Syndromes[M]. Oxford: Oxford University Press, 1995: 9-21.
- [6] Olusanya BO. Addressing the global neglect of childhood hearing impairment in developing countries[J]. PloS Med, 2007, 4(4): 74.
- [7] Mitchell RE, Karchmer MA. Chasing the mythical ten percent: parental hearing status of deaf and hard of hearing students in the United States[J]. Sign Language Stud, 2004, 4: 138-163.
- [8] Yin A, Liu C, Zhang Y, et al. The carrier rate and mutation spectrum of genes associated with hearing loss in South China hearing female population of childbearing age[J]. BMC Med

- Genet, 2013, 29(14): 57.
- [9] Bayazit YA, Yilmaz M. An overview of hereditary hearing loss[J]. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2006, 68: 57-63.
 - [10] Smith RJ, Bale Jr JF, White KR. Sensorineural hearing loss in children[J]. Lancet, 2005, 365: 879-890.
 - [11] Bitner-Glindzicz M. Hereditary deafness and phenotyping in humans[J]. Br Med Bull, 2002, 63: 73-94.
 - [12] Petersen MB. Non-syndromic autosomal-dominant deafness[J]. Clin Genet, 2002, 62: 1-13.
 - [13] Vona B, Nanda I, Hofrichter MA, et al. Non-syndromic hearing loss gene identification: A brief history and glimpse into the future[J]. Mol Cell Probes, 2015, 29(5): 260-270.
 - [14] Duman D, Sirmaci A, Cengiz FB, et al. Screening of 38 genes identifies mutations in 62% of families with nonsyndromic deafness in Turkey[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2011, 15: 29-33.
 - [15] Hilgert N, Smith RJ, 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.
 - [16] 王国建, 戴朴, 韩东一, 等. 基因芯片技术在非综合征性耳聋快速基因诊断中的应用研究[J]. 中华耳科学杂志, 2008, 6(01): 61-66.
 - [17] 戴朴, 刘新, 于飞, 等. 18个省市聋校学生非综合征性聋病分子流行病学研究(1)—GJB2 235delC和线粒体DNA 12SrRNA A1555G突变筛查报告[J]. 中华耳科学杂志, 2006, 1: 1-5.
 - [18] Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial deafness mutations reviewed[J]. Hum Mutat, 1999, 13(4): 261-270.
 - [19] Liu XZ, Xia XJ, Xu LR, et al. Mutations in connexin31 underlie recessive as well as dominant non-syndromic hearing loss[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(1): 63-67.
 - [20] Inoue T, Orgel LE. A nonenzymatic RNA polymerase model[J]. Science, 1983, 219: 859-862.
 - [21] Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74: 5463-5467.
 - [22] Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease[J]. Nat Genet, 2003, 33: 228-237.
 - [23] Wallis C, Ballo R, Wallis G, et al. X-linked mixed deafness with stapes fixation in a mauritian kindred: linkage to Xq probe pDP34[J]. Genomics, 1988, 3: 299-301.
 - [24] deKok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene POU3F4[J]. Science, 1995, 267: 685-688.
 - [25] Leon PE, Raventos H, Lynch E, et al. The gene for an inherited form of deafness maps to chromosome 5q31[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 5181-5184.
 - [26] Lynch ED, Lee MK, Morrow JE, et al. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of a human homolog of the Drosophila gene diaphanous[J]. Science, 1997, 278: 1315-1318.
 - [27] Bick D, Dimmock D. Whole exome and whole genome sequencing[J]. Curr Opin Pediatr, 2011, 23(6): 594-600.
 - [28] Clark MJ, Chen R, Lam HY, et al. Performance comparison of exome DNA sequencing technologies[J]. Nat Biotechnol, 2011, 29: 908-914.
 - [29] Zhang J, Chiodini R, Badr A, et al. The impact of next-generation sequencing on genomics[J]. J Genet Genomics, 2011, 38: 95-109.
 - [30] Gao X, Dai P. Impact of next-generation sequencing on molecular diagnosis of inherited non-syndromic hearing loss[J]. Journal of Otology, 2014, 9: 122-125.
 - [31] Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes[J]. Nature, 2009, 461(7261): 272-276.
 - [32] Teer JK, Mullikin JC. Exome sequencing: the sweet spot before whole genomes[J]. Hum Mol Genet, 2010, 19: R145-R151.
 - [33] Gao J, Wang Q, Dong C, et al. Whole Exome Sequencing Identified MCM2 as a Novel Causative Gene for Autosomal Dominant Nonsyndromic Deafness in a Chinese Family[J]. PLoS One, 2015, 10(7): 1-12.
 - [34] Yan D, Zhu Y, Walsh T, et al. Mutation of the ATP-gated P2X(2) receptor leads to progressive hearing loss and increased susceptibility to noise[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110: 2228-2233.
 - [35] Zhao Y, Zhao F, Zong L, et al. Exome sequencing and linkage analysis identified tenascin-C(TNC) as a novel causative gene in nonsyndromic hearing loss[J]. PLoS One, 2013, 8: 1-8.
 - [36] Behlouli A, Bonnet C, Abdi S, et al. EPS8, encoding an ac-

- tin-binding protein of cochlear hair cell stereocilia, is a new causal gene for autosomal recessive profound deafness[J]. Orphanet J Rare Dis, 2014, 9: 55.
- [37] Xing G, Yao J, Wu B, et al. Identification of OSBPL2 as a novel candidate gene for progressive nonsyndromic hearing loss by whole-exome sequencing[J]. Genet Med, 2014, 17(3): 210-218.
- [38] Bademci G, Foster J, Mahdih N, et al. Comprehensive analysis via exome sequencing uncovers genetic etiology in autosomal recessive nonsyndromic deafness in a large multiethnic cohort[J]. Genet Med, 2015, 89: [Epub ahead of print].
- [39] Lin X, Tang W, Ahmad S, et al. Applications of targeted gene capture and next-generation sequencing technologies in studies of human deafness and other genetic disabilities[J]. Hear Res, 2012, 288(1-2): 67-76.
- [40] Albert TJ, Molla MN, Muzny DM, et al. Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization [J]. Nat Methods, 2007, 4: 903-905.
- [41] Hodges E, Xuan Z, Balija V, et al. Genome-wide in situ exon capture for selective resequencing[J]. Nat Genet, 2007, 39: 1522-1527.
- [42] Okou DT, Steinberg KM, Middle C, et al. Microarray-based genomic selection for high-throughput resequencing[J]. Nat Methods, 2007, 4: 907-909.
- [43] Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H, et al. Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in Middle Eastern families [J]. Genome Biol, 2011, 12: R89.
- [44] Shearer AE, DeLuca AP, Hildebrand MS, et al. Comprehensive genetic testing for hereditary hearing loss using massively parallel sequencing [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 21104-21109.
- [45] Tang W, Qian D, Ahmad S, et al. A low-cost exon capture method suitable for large-scale screening of genetic deafness by the massively-parallel sequencing approach [J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2012, 16: 536-542.
- [46] Li CX, Pan Q, Guo YG, et al. Construction of a multiplex allele-specific PCR-based universal array(ASPUA) and its application to hearing loss screening[J]. Hum Mutat, 2008, 29(2): 306-314.
- [47] Nele H, Smith RJH, 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.
- [48] Dai P, Yu F, Han B, et al. Features of nation wide distribution and frequency of a common gap junction beta-2 gene mutation in China[J]. Chinese journal of otorhinolaryngology head and neck surgery, 2007, 42(11): 804-808. In Chinese.
- [49] Yuan Y, You Y, Huang D, et al. Comprehensive molecular etiology analysis of nonsyndromic hearing impairment from typical areas in China[J]. J Transl Med, 2009, 7: 79.
- [50] Xia JH, Liu CY, Tang BS, et al. Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-3 associated with autosomal dominant hearing impairment[J]. Nat Genet, 1998, 20: 370-373.
- [51] Dai P, Yuan Y, Huang D, et al. Molecular etiology of hearing impairment in Inner Mongolia: mutations in SLC26A4 gene and relevant phenotype analysis [J]. J Transl Med, 2008, 6: 74.
- [52] Lu J, Li Z, Zhu Y, et al. Mitochondrial 12S rRNA variants in 1642 Han Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss[J]. Mitochondrion, 2010, 10(4): 380-390.
- [53] Lyu K, Xiong Y, Yu H, et al. Screening of common deafness gene mutations in 17000 Chinese newborns from Chengdu based on microarray analysis[J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2014, 31(5): 547-552. In Chinese.
- [54] Hu X, Liang F, Zhao M, et al. Mutational analysis of the SLC26A4 gene in Chinese sporadic nonsyndromic hearing-impaired children[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2012, 76(10): 1474-1480.

(收稿日期:2015-09-14)

编辑:宋文颖