

## 论著·临床研究

## 云南普洱地区 799 例新生儿 GJB2 基因突变分析\*

张亚勤<sup>1</sup>, 杨 涵<sup>1</sup>, 龙丹丹<sup>1</sup>, 陈怡颖<sup>2</sup>, 王金凤<sup>1</sup>, 乔 宇<sup>1</sup>, 戴欢欢<sup>1</sup>, 苏 洪<sup>1△</sup>

(普洱市人民医院:1. 生殖遗传中心;2. 眼科, 云南 普洱 665000)

**[摘要]** 目的 分析云南普洱地区 799 例新生儿 GJB2 基因的突变特征。方法 采用聚合酶链反应-碱基序列直接测序方法对 799 例新生儿足跟血样本进行 GJB2 基因编码区检测, 分析基因多态性分布及各基因型频率、等位基因频率, 并采用 Arlerquin3. 11 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡、单倍型及连锁不平衡分析。结果 在 799 例新生儿样本的 GJB2 基因 2 号外显子中, 共检测出 c. 79G>A, c. 109G>A, c. 341A>G, c. 299-300delAT, c. 235delC, c. 608T>C, c. 226C>A, c. 571T>C, c. 512insAACG, c. 550C>T, c. 180C>G, c. 368C>A 12 种基因多态性。经统计总突变携带率为 60. 83%, 其中, c. 79G>A, c. 341A>G, c. 109G>A, c. 608T>C 4 个位点突变携带率较高, 依次为 46. 06%、36. 30%、13. 89%、4. 51%, 其他位点突变携带率均不足 1. 00%。这 12 种基因多态性突变符合 Hardy-Weinberg 平衡定律, 共存在 22 种单倍型, 进行连锁不平衡分析发现, c. 79G>A 与 c. 341A>G 两位点存在显著连锁不平衡( $D' = 0. 987 4, r^2 = 0. 674 0$ )。结论 云南普洱地区新生儿 GJB2 基因具有丰富的突变类型和突变频率, 且总突变携带率较高, 为临床检测及遗传咨询提供了支持。

**[关键词]** GJB2 基因; 遗传性耳聋; 新生儿; 基因筛查; 云南

DOI:10. 3969/j. issn. 1009-5519. 2023. 23. 007

中图法分类号:R394. 5

文章编号:1009-5519(2023)23-3991-06

文献标识码:A

## Analysis of GJB2 gene mutation in 799 newborns in Pu'er region of Yunnan province\*

ZHANG Yaqin<sup>1</sup>, YANG Han<sup>1</sup>, LONG Dandan<sup>1</sup>, CHEN Yiyang<sup>2</sup>, WANG Jinfeng<sup>1</sup>,  
QIAO Yu<sup>1</sup>, DAI Huanhuan<sup>1</sup>, SU Hong<sup>1△</sup>(1. Reproductive Genetics Center; 2. Department of Ophthalmology, Pu'er  
People's Hospital, Pu'er, Yunnan 665000, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the mutation characteristics of GJB2 gene in 799 neonates in Pu'er region of Yunnan province. **Methods** The GJB2 gene coding region was detected in 799 neonatal heel blood samples by polymerase chain reaction-base sequence direct sequencing method, and gene polymorphism distribution, genotype frequency and allele frequency were analyzed. Hardy-Weinberg equilibrium, hahatype and linkage disequilibrium were analyzed by Arlerquin3. 11 software. **Results** c. 79G>A, c. 109G>A, c. 341A>G, c. 299-300delAT, c. 235delC, c. 608T>C, c. 226C>A, c. 571T>C, c. 512insAACG, c. 550C>T, c. 180C>G, and c. 368C>A were detected in exon 2 of GJB2 gene in 799 neonatal samples. According to statistics, the total mutation carrier rate was 60. 83%, among which, the mutation carrier rates of c. 79G>A, c. 341A>G, c. 109G>A and c. 608T>C were 46. 06%, 36. 30%, 13. 89% and 4. 51%, respectively, and the mutation carrying rate of other sites was less than 1. 00%. The polymorphic mutations of these 12 genes were consistent with Hardy-Weinberg equilibrium law, and there were 22 hahatypes in total. The linkage disequilibrium analysis showed that there were significant linkage disequilibria at two loci: c. 79G>A and c. 341A>G ( $D' = 0. 987 4, r^2 = 0. 674 0$ ). **Conclusion** There are abundant mutation types and frequency of GJB2 gene in newborns in Pu'er region of Yunnan province, and the total mutation carrying rate is high, which provides support for clinical detection and genetic counseling.

**[Key words]** GJB2 gene; Hereditary deafness; Neonate; Genetic screening; Yunnan

\* 基金项目:云南省临床医学中心分中心开放项目(2020LCZXKF-SZ18;2022LCZXKF-SZ14);普洱市人民医院内科研项目(2020YN03)。

作者简介:张亚勤(1986—),硕士研究生,主治医师,主要从事生殖遗传方面的研究。△ 通信作者,E-mail:suhongky88@126.com。

耳聋的发生与遗传因素和环境因素有关,约 60% 的耳聋患者是由遗传因素引起。在遗传性耳聋中,约 80% 为非综合征型耳聋(NSHL)。GJB2 基因突变是 NSHL 的致病因素之一,其是最常见的耳聋基因。在 GJB2 基因中,目前在耳聋基因网站(<https://deafnessvariationdatabase.org>)已经更新 300 多种与听力损伤相关的致病性突变。GJB2 基因的突变具有种族和地域特征,其突变种类多,且仍有新的突变在不断被发现。

云南普洱地区由于具有众多的少数民族,而且较多少数民族世居于此,因此具有独特的民族特点和地域特点。目前国内的耳聋研究数据大多来自内地汉族人群,云南少数民族地区的研究数据较少。本研究通过分析云南普洱地区新生儿 GJB2 基因突变情况,旨在丰富本地区耳聋基因数据,为区域化开展耳聋基因检测、遗传咨询及预防干预提供重要信息。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 选取 2021 年 6 月至 2023 年 2 月在普洱市人民医院产科出生的 799 例新生儿为研究对象,收集其足跟血样本,采用聚合酶链反应-碱基序列直接测序方法检测 GJB2 基因编码区,分析该区域基因多态性分布情况。本研究由普洱市人民医院医学伦理委员会批准许可,所有参与该研究的新生儿家属均签署了知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 主要仪器与试剂** DNA 提取试剂盒采用北京天根生化科技有限公司的干血斑基因组 DNA 提取试剂盒(DP334);聚合酶链反应主要采用 TaKaRa 公司的 Premix Taq™(Ex Taq™ Version 2.0 plus dye)试剂(RR902A),使用仪器为 AB veriti DX 梯度扩增仪;碱基序列直接测序由北京擎科生物科技有限公司昆明分公司完成,使用仪器为 AB 3730XL 型基因分析仪。

**1.2.2 基因组 DNA 提取** 由护士按照新生儿足跟血采集规范采集新生儿足跟血,制成 4 个血斑滤纸并晾干,保存于 -20 °C 冰箱。检测时,用血片打孔器将血斑打孔得到 3 mm 直径的干燥血斑 5~10 片,用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA。

**1.2.3 检测方法** GJB2 基因的编码区位于 2 号外显子,实验所用上游引物序列为 5'-TCTTTTCCA-GAGCAAACCGC-3',下游引物序列为 5'-TGAG-CACGGGTTGCCTCATC-3',扩增产物片段为 776 bp,扩增产物覆盖全部编码区。聚合酶链反应体系为 25 μL,其中 2×mix 12.5 μL、上下游引物各 0.5 μL、模板 DNA 约 50 ng,剩余体积用超纯水补齐。聚合酶

链反应在 AB veriti DX 仪器上进行,扩增条件为 95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 60 s,共 32 个循环;72 °C 充分延伸 7 min,4 °C 保存。扩增产物送北京擎科生物科技有限公司昆明分公司进行 DNA 测序,用 DNASTar 分析软件对测序结果进行分析,与 NCBI 网站下载的 GJB2 基因序列(NC\_000013.11)进行比对。

**1.3 统计学处理** 对所得数据采用直接计数法计算 GJB2 基因突变分布,以及各基因多态性的基因型频率与等位基因频率。采用 Arlerquin3.11 遗传统计学软件对 GJB2 的基因分布进行 Hardy-Weinberg 平衡分析,计算等位基因单倍型频率,并对各基因多态性位点进行连锁不平衡分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验结果** 应用 Arlerquin3.11 软件对 799 例研究对象进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验,各基因位点的基因频率观察值与期望值之间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明本研究纳入的研究对象来自同一遗传学群体,符合 Hardy-Weinberg 平衡,反映本研究群体的代表性良好。见表 1。

表 1 Hardy-Weinberg 平衡检验结果

序号	基因位点	检测数 (n)	基因频率 观察值(%)	基因频率 期望值	P
1	c.79G>A	799	38.67	39.42	0.59
2	c.109G>A	799	12.77	13.69	0.07
3	c.341A>G	799	32.42	32.42	1.00
4	c.299-300delAT	799	0.25	0.25	1.00
5	c.235delC	799	0.13	0.13	1.00
6	c.608T>C	799	4.88	5.00	0.41
7	c.226C>A	799	0.25	0.25	1.00
8	c.571T>C	799	0.25	0.25	1.00
9	c.512insAACG	799	0.13	0.13	1.00
10	c.550C>T	799	0.13	0.13	1.00
11	c.180C>G	799	0.13	0.13	1.00
12	c.368C>A	799	0.13	0.13	1.00

**2.2 GJB2 基因多态性分布检测结果** 在 799 例新生儿样本的测序结果中,共检测到 12 种 GJB2 基因多态性结果,其中以 c.79G>A、c.341A>G、c.109G>A、c.608T>C 4 种基因多态性的突变频率较高,分别为 46.06%、36.30%、13.89%、4.51%。其他 8 种基因多态性的突变频率较低,均不足 1.00%。在 799 例新生儿样本中,有 486 例检测到 GJB2 基因突变,总突变率

为 60.83%，见表 2。在检出的 12 种基因多态性中，c. 109G>A、c. 299-300delAT、c. 235delC、c. 512insAACG 是致病性基因突变，检出这 4 种基因突变的样本共 114 例，突变率为 14.27%，见表 3。

表 2 GJB2 基因多态性分布情况

序号	突变类型	突变例数(n)		总例数 (n)	突变频率 (%)
		杂合例数	纯合例数		
1	c. 79G>A	307	61	368	46.06
2	c. 341A>G	257	33	290	36.30
3	c. 109G>A	103	8	111	13.89
4	c. 608T>C	35	1	36	4.51
5	c. 299-300delAT	2	0	2	0.25
6	c. 226C>A	2	0	2	0.25
7	c. 571T>C	2	0	2	0.25
8	c. 235delC	1	0	1	0.13
9	c. 512insAACG	1	0	1	0.13
10	c. 550C>T	1	0	1	0.13
11	c. 180C>G	1	0	1	0.13
12	c. 368C>A	1	0	1	0.13
合计		486		799	60.83

表 3 GJB2 基因致病性突变频率(n=799)

序号	突变类型	杂合 (n)	纯合 (n)	总数 (n)	突变 频率(%)
1	c. 235delC	1	0	1	0.13
2	c. 299-300delAT	1	0	1	0.13
3	512insAAGG	1	0	1	0.13
4	c. 109G>A	102	8	110	13.77
5	c. 299-300delAT+c. 109G>A	1	0	1	0.13
合计		106	8	114	14.27

### 2.3 各基因多态性的基因型频率与等位基因频率

检出的 12 个 GJB2 基因多态性位点，均只检出 2 种等位基因。在突变频率较高的 4 个基因多态性位点中，c. 79G>A 位点的 GG 基因型频率为 53.94%，GA 基因型频率为 38.42%，AA 基因型频率为 7.63%，等位基因 G 频率为 73.03%，等位基因 A 频率为 26.97%。c. 341A>G 位点的 AA 基因型频率为 63.70%，AG 基因型频率为 32.17%，GG 基因型频率为 4.13%，等位基因 A 频率为 79.66%，等位基因 G 频率为 20.34%。c. 109G>A 位点的 GG 基因型频率为 86.11%，GA 基因型频率为 12.89%，AA 基因型频率为 1.00%，等位基因 G 频率为 92.62%，等位基因 A 频率为 7.38%。c. 608T>C 位点的 TT 基因型频率为 95.49%，TC 基因型频率为 4.38%，CC 基因型频

率为 0.13%，等位基因 T 频率为 97.43%，等位基因 C 频率为 2.57%。见表 4。

表 4 GJB2 基因多态性的基因型频率与等位基因频率(n=799)

序号	基因位点	基因型	n	频率 (%)	等位基因	频率 (%)
1	c. 79G>A	GG	431	53.94	G	73.03
		GA	307	38.42	A	26.97
		AA	61	7.63		
2	c. 341A>G	AA	509	63.70	A	79.66
		AG	257	32.17	G	20.34
		GG	33	4.13		
3	c. 109G>A	GG	688	86.11	G	92.62
		GA	103	12.89	A	7.38
		AA	8	1.00		
4	c. 608T>C	TT	763	95.49	T	97.43
		TC	35	4.38	C	2.57
		CC	1	0.13		
5	c. 299-300delAT	WW	797	99.75	W	99.87
		WM	2	0.25	M	0.13
		MM	0	0		
6	c. 226C>A	CC	797	99.75	C	99.87
		CA	2	0.25	A	0.13
		AA	0	0		
7	c. 571T>C	TT	797	99.75	T	99.87
		TC	2	0.25	C	0.13
		CC	0	0		
8	c. 235delC	WW	798	99.87	W	99.94
		WM	1	0.13	M	0.06
		MM	0	0		
9	c. 512insAACG	WW	798	99.87	W	99.94
		WM	1	0.13	M	0.06
		MM	0	0		
10	c. 550C>T	CC	798	99.87	C	99.94
		CT	1	0.13	T	0.06
		TT	0	0		
11	c. 180C>G	CC	798	99.87	C	99.94
		CG	1	0.13	G	0.06
		GG	0	0		
12	c. 368C>A	CC	798	99.87	C	99.94
		CA	1	0.13	A	0.06
		AA	0	0		

注：W 在此处代表插入缺失类突变的野生型，M 代表突变型。

2.4 单倍型频率分析 799 例新生儿样本中，以表 3 中基因多态性位点顺序排列，经 Arlerquin3.11 软件

分析,共存在 12 个 GJB2 基因多态性位点的单倍型 22 种,其中单倍型频率大于 0.1% 的有 12 种,单倍型频率大于 1.0% 的有 6 种,这 6 种分别为 GGAW-WTCTWCCC、AGGWWTCTWCCC、AGAWWTCT-WCCC、GAAWWTCTWCCC、GGAWWCCTWCCC、AAGWWTCTWCCC,其单倍型频率分别为 65.08%、18.27%、6.13%、5.82%、1.38%、1.06%。见表 5。

表 5 GJB2 基因 12 个基因多态性位点的单倍型分布情况 (n=1 598)

序号	单倍型	检出数(n)	单倍型频率 (%)
1	GGAWWTCTWCCC	1 040	65.08
2	AGGWWTCTWCCC	292	18.27
3	AGAWWTCTWCCC	98	6.13
4	GAAWWTCTWCCC	93	5.82
5	GGAWWCCTWCCC	22	1.38
6	AAGWWTCTWCCC	17	1.06
7	AGGWWCCTWCCC	11	0.69
8	AGAWWCCTWCCC	6	0.38
9	AAAWWTCTWCCC	3	0.19
10	GGAWWTATWCCC	2	0.13
11	GAAWWCCTWCCC	2	0.13
12	GGGWWTCTWCCC	2	0.13
13	GGAWMTCTWCCC	1	0.06
14	AGGWWTCCWCCC	1	0.06
15	GGAWWTCCWCCC	1	0.06
16	GGAWWTCTMCCC	1	0.06
17	AGAMWTCTWCCC	1	0.06
18	GGAWWTCTWTCC	1	0.06
19	GAAMWTCTWCCC	1	0.06
20	GAGWWTCTWCCC	1	0.06
21	AAGWWTCTWCGC	1	0.06
22	AGAWWTCTWCCA	1	0.06

注:W 在此处代表插入缺失类突变的野生型;M 代表突变型。

**2.5 连锁不平衡分析结果** 采用 Arlerquin3.11 软件对本研究检测出的 12 个 GJB2 基因多态性位点进行连锁不平衡分析,发现 c.79G>A 与 c.341A>G 两位点存在显著连锁不平衡 ( $D' = 0.987 4, r^2 = 0.674 0$ )。

**3 讨 论**

在我国,GJB2、SLC26A4 和 GJB3 基因是最常见的耳聋基因,占遗传性耳聋基因的 70%~80%,其中 GJB2 基因占比 55%<sup>[1]</sup>。据研究报告,新生儿中听力损伤的患病率约为 1.8/1 000,到 5 岁时,这一比率将

达到约 2.7/1 000<sup>[2]</sup>。我国的新生儿听力筛查目前已经比较普遍,这一举措使很多先天性听力损伤的患儿可以更早被发现,并早期实施干预,从而对其后续的语言和认知发展都起到了良好的作用。但是,目前的筛查方案尚不能完全满足早期发现迟发性耳聋、药物性耳聋等需求,而耳聋基因的筛查可以有效补充目前的方案。所以,如果将传统的新生儿听力筛查方案结合耳聋基因筛查,可以更有效地对耳聋实现早期发现与干预,更进一步地降低耳聋发生率。

由于耳聋基因种类较多,其基因组异质性程度也较高,在不同地区和不同民族的研究中,耳聋基因的数据存在较大的差异。如果要广泛地对新生儿进行较全面的耳聋基因筛查,社会投入的经济负担将较重,因此,对不同的地区,甚至不同的民族进行更详细的耳聋基因数据分析,可以更加针对性地设计本地化新生儿耳聋筛查方案,不仅可以有效实现耳聋早期筛查与干预的目的,而且能够有效降低筛查费用。

云南普洱地区地处中国西南边境,具有少数民族众多的特点,少数民族人口占总人口的 61%,这与我国其他地区汉族人口占大多数的特点明显不同。为了明确本地区耳聋基因分布,本研究组随机收集了本地区 799 例新生儿样本,首先对 GJB2 基因进行了编码区测序,以期为耳聋基因筛查本地化提供更有意义的

数据。本研究结果发现,在 799 例普洱地区新生儿中,GJB2 基因突变总携带率为 60.83%,其中,包括 c.109G>A 突变位点在内的致病性基因突变率为 14.27%。由于国内目前主要使用热点检测的方法进行新生儿耳聋基因检测,而这些热点中目前普遍不包含 c.109G>A 突变位点。为了与其他地区研究数据进行对比,研究组统计了不包括 c.109G>A 突变在内的 GJB2 致病性基因突变率为 0.50%。经调查,各地区的新生儿耳聋基因筛查结果中,GJB2 热点突变率大多在 1%~3%,如邱小兵等<sup>[3]</sup>报道赣南地区为 2.04%,张秀秀等<sup>[4]</sup>报道黔西南地区为 1.60%,陈爱玲等<sup>[5]</sup>报道无锡市为 2.84%,李茜等<sup>[6]</sup>报道扬州地区为 3.03%,唐佳等<sup>[7]</sup>报道广东江门地区为 1.80%,高儒真等<sup>[8]</sup>报道北京协和医院为 2.5%,范霞林等<sup>[9]</sup>报道海南省为 1.56%,赵娟萍等<sup>[10]</sup>报道银川市为 2.11%。本研究发现,云南普洱地区新生儿 GJB2 致病基因 0.50% 的突变率明显低于其他地区报道的突变率。这可能是 GJB2 基因在不同地区、不同民族中遗传基因差异性分布的体现。下一步,研究组将进一步扩大研究数据,将各民族基因数据进行统计分析,明确云南普洱地区新生儿耳聋基因突变率与其他

各地差异的原因。

对于 c. 109G>A 突变,本研究发现其在普洱地区新生儿中携带率较高,达 13.89%。c. 109G>A 突变最初被确定为杂合子对照中的多态性<sup>[11]</sup>,后来发现在听力受累个体中为纯合子或与已知的致病性 GJB2 变异体反式<sup>[12-13]</sup>。然而,随着研究发现,这些变异的一些纯合子似乎听力正常<sup>[14-15]</sup>,人们又提出了外显率降低来解释这种不一致性<sup>[16]</sup>。本研究发现,既往关于 GJB2 基因 c. 109G>A 是否致耳聋存在较大争议,但近年来,越来越多的研究发现,c. 109G>A 突变与迟发性听力损失关系密切<sup>[17-19]</sup>。但是由于这个位点在人群中携带率很高,大家对其争议一直存在。为解释争议,ClinGen 听力损失专家小组收集已经发表的相关数据,进行了大量病例对照研究,对 c. 109G>A 突变形成了共识,并做出了解释,认为与对照人群相比,该位点在听力损失患者中显著过高<sup>[20]</sup>。目前在 ClinVar 数据库中已经将该突变更更新为非综合征性遗传性听力损失相关的致病性变异。LIN 等<sup>[21]</sup>对 1 517 例 NSHL 患者进行了 GJB2 突变谱的研究,发现 c. 109G>A 位点杂合突变的听力比纯合突变更差。

巫朝霞等<sup>[19]</sup>建议,将 GJB2 基因 c. 109G>A 位点纳入人群针对性的耳聋基因检测,将其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。本研究组也认为,可以将 c. 109G>A 位点作为耳聋基因检测热点,辅助临床对迟发性听力损失的预测与诊断,而临床也应重视并加强对 c. 109G>A 突变的认识,进一步补充耳聋基因的遗传咨询内容。

除 c. 109G>A 位点外,本研究发现的其他致病性基因突变是 c. 235delC、c. 299-300delAT、c. 512insAACG。经调查,目前市场上一些耳聋基因检测的试剂盒中,还没有将 c. 512insAACG 位点纳入检测范围,这将会造成一定概率的致病基因漏检。对此本研究组建议临床应针对性扩大耳聋基因的检测范围。刘畅等<sup>[22]</sup>根据广东省耳聋疾病诊疗的基本情况,综合考虑各项实验技术的检测效力、检测时间与检测成本,设计了一套适合广东地区实际情况的聋病阶梯式基因诊断策略。该研究从经济与临床需求角度探讨了实施阶梯式耳聋基因诊断策略的可能性。本课题组认为,其他地区也可以结合本地需求,对这种策略进行探讨及实践尝试。

本研究仅针对云南普洱地区新生儿 GJB2 基因进行了检测分析,而对其他常见的耳聋基因,如 GJB3、SLC26A4 及线粒体 DNA 12S rRNA 基因等还未进行

分析。接下来将持续扩大样本量,进行更完善的耳聋基因检测分析,以期进一步明确本地区耳聋基因分布,为临床早期发现预防及遗传咨询提供更多数据支持。

## 参考文献

- [1] FU Y L, ZHA S W, LÜ N, 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.
- [2] NEUMANN K, CHADHA S, TAVARTKILADZE G, et al. Newborn and infant hearing screening facing globally growing numbers of people suffering from disabling hearing loss[J]. Int J Neonatal Screen, 2019, 5(1): 7.
- [3] 邱小兵, 黄俊高, 陈俊坤, 等. 122 635 例赣南地区新生儿耳聋基因筛查及确诊者结果回溯分析[J]. 中华耳科学杂志, 2022, 20(3): 402-408.
- [4] 张秀秀, 慕容红梅, 李盼盼, 等. 黔西南地区 99582 位新生儿耳聋基因热点突变筛查结果[J]. 中华耳科学杂志, 2022, 20(4): 612-619.
- [5] 陈爱玲, 马静, 朱仁慈, 等. 出生于无锡市区的 5 562 例新生儿耳聋相关基因 GJB2、SLC26A4、GJB3、线粒体 12S rRNA 检测分析[J]. 山东医药, 2022, 62(18): 17-21.
- [6] 李茜, 王诺扬, 童鸣, 等. 10 313 例新生儿听力与耳聋易感基因联合筛查结果分析[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(6): 475-480.
- [7] 唐佳, 孔琪, 郑诗瑶, 等. 广东江门地区新生儿耳聋易感基因筛查分析[J]. 热带医学杂志, 2022, 22(12): 1616-1620.
- [8] 高儒真, 樊悦, 杨腾裕, 等. 北京协和医院新生儿耳聋基因筛查 10 年数据分析[J]. 协和医学杂志, 2022, 13(6): 1020-1027.
- [9] 范霞林, 樊利春, 黄垂灿, 等. 海南省新生儿耳聋基因携带情况分析[J]. 中国热带医学, 2022, 22(12): 1147-1153.
- [10] 赵娟萍, 石艳荣, 陈璠, 等. 银川市 8 145 例新生儿遗传性耳聋易感基因突变特点分析[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(21): 4050-4053.
- [11] KELLEY P M, HARRIS D J, COMER B C, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss[J]. Am J Hum Genet, 1998, 62(4): 792-799.
- [12] WILCOX S A, SAUNDERS K, OSBORN A H,

- et al. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene [J]. *Hum Genet*, 2000, 106(4):399-405.
- [13] ABE S, USAMI S, SHINKAWA H, et al. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese [J]. *J Med Genet*, 2000, 37(1):41-43.
- [14] GRIFFITH A J, CHOWDHRY A A, KURIMA K, et al. Autosomal recessive nonsyndromic neurosensory deafness at DFNB1 not associated with the compound-heterozygous GJB2 (connexin 26) genotype M34T/167delT [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 67(3):745-749.
- [15] FELDMANN D, DENOYELLE F, LOUNDON N, et al. Clinical evidence of the nonpathogenic Nature of the M34T variant in the connexin 26 gene [J]. *Eur J Hum Genet*, 2004, 12(4):279-284.
- [16] POLLAK A, SKÓRKA A, MUELLER-MAL ESINSKA M, et al. M34T and V37I mutations in GJB2 associated hearing impairment: Evidence for pathogenicity and reduced penetrance [J]. *Am J Med Genet A*, 2007, 143A(21):2534-2543.
- [17] 孙菲菲, 胡松群, 唐艳, 等. 高通量基因捕获测序技术在 12 个耳聋家庭中的应用 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2017, 31(5):45-49.
- [18] 吴皓. 儿童迟发性听力障碍的听力与基因联合筛查 [J]. *中国医学文摘:耳鼻咽喉科学*, 2015, 30(4):189-191.
- [19] 巫朝霞, 梁丽笙, 袁贵龙, 等. 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 [J]. *广东医科大学学报*, 2020, 38(6):680-683.
- [20] SHEN J, OZA A M, DEL CASTILLO I, et al. Consensus interpretation of the p. Met34Thr and p. Val37Ile variants in GJB2 by the clin-gen hearing loss expert panel [J]. *Genet Med*, 2019, 21(11):2442-2452.
- [21] LIN Y F, LIN H C, TSAI C L, et al. GJB2 mutation spectrum in the Taiwanese population and genotype-phenotype comparisons in patients with hearing loss carrying GJB2 c. 109G>A and c. 235delC mutations [J]. *Hear Res*, 2022, 413:108135.
- [22] 刘畅, 黄演林, 汪安石, 等. 阶梯式耳聋基因诊断策略及其临床实践 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(1):6-9.
- (收稿日期:2023-03-27 修回日期:2023-08-11)
- 
- (上接第 3990 页)
- [15] 何宜忠, 周锦锋. 健身气功·五禽戏之猿戏健身养生作用 [J]. *医学信息(中旬刊)*, 2010, 5(2):431-433.
- [16] LI X X, LI Z. The impact of anxiety on the progression of mild cognitive impairment to dementia in Chinese and English data bases: A systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2018, 33(1):131-140.
- [17] COOPER C, SOMMERLAD A, LYKETSOS C G, et al. Modifiable predictors of dementia in mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Psychiatry*, 2015, 172(4):323-334.
- [18] ZHENG G, XIA R, ZHOU W, et al. Aerobic exercise ameliorates cognitive function in older adults with mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials [J]. *Br J Sports Med*, 2016, 50(23):1443-1450.
- [19] CAMMISULI D M, INNOCENTI A, FRANZONI F, et al. Aerobic exercise effects upon cognition in mild cognitive impairment: A systematic review of randomized controlled trials [J]. *Arch Ital Biol*, 2017, 155(1/2):54-62.
- [20] 祁鸣, 张玲. 基于静息态 fMRI 的有氧训练在阿尔茨海默病患者中的有效性研究 [J]. *中国临床医学影像杂志*, 2015, 26(11):761-763.
- [21] 程晓菲, 代金刚. 五禽戏现代研究进展 [J]. *河南中医*, 2018, 38(1):151-154.
- [22] 臧敏, 蔡岗丽, 林文波, 等. 五禽戏鸟戏联合简易呼吸操对慢性阻塞性肺疾病患者生活质量及免疫功能的影响 [J]. *广州中医药大学学报*, 2017, 34(6):819-823.
- (收稿日期:2022-09-15 修回日期:2023-02-22)