

# 非综合征型耳聋相关分子生物学进展

要跟东 李守霞 赵运果 陈丁莉

(邯郸市中心医院,河北 邯郸 056001)

**【摘要】** 耳聋病因复杂,遗传因素占有重要位置。大约 80% 遗传性聋为非综合征型耳聋。随着分子生物学和遗传学的发展,众多耳聋相关基因的发现更有利于我们对耳聋的发生发展机理的认识。本文综述了近年来国内外非综合征型耳聋在分子生物学领域的研究进展,借以了解非综合征型耳聋的分子病因学特点,便于人们获得准确的耳聋预防、早期诊断、遗传咨询和治疗服务。

**【关键词】** 耳聋;基因;分子生物学

## 前言

耳聋是影响人类健康和造成人类残疾的常见原因,病因复杂,遗传因素在其发病中占有重要位置。大约 80% 遗传性聋为非综合征型<sup>[1]</sup>。2006 年底第二次全国残疾人抽样调查结果显示,我国听力残疾者共有 2 670 万人,占残疾人总数的 19.3%。1~7 岁听力障碍儿童为 80 万,每年新生聋儿超过 3 万。遗传性耳聋可分为 2 种:一种为综合征型耳聋 (syndromic hearing impairment, SHI);另一种为非综合征型耳聋 (nonsyndromic hearing impairment, NSHI),即不伴有其他症状的耳聋。遗传性耳聋按遗传方式可分为 4 类:常染色体隐性遗传 (autosomal recessive deafness, DFNB)、常染色体显性遗传 (autosomal dominant deafness, DFNA)、X 连锁遗传 (x-linked deafness, DFN) 和线粒体基因遗传 (mitochondrial deafness, DFNM),常染色体隐性遗传性非综合征型聋 (autosomal recessive nonsyndromic hearing loss, ARNSHL) 占 NSHL 的 80%,其特点是除了听力下降外没有其他疾病特征<sup>[2]</sup>。许多耳聋患者由于基因缺陷致病,或由于基因缺陷和多态性造成对致聋环境因素易感性增加而致病。因此,遗传性耳聋的分子病因学研究非常重要。目前,非综合征型耳聋已确定了 135 个基因座,41 个非综合征型耳聋基因被克隆。随着分子生物学技术的发展,我国在耳聋基因方面的研究有了很大提高。本文回顾了近几年来我国对非综合

征型耳聋的一些研究热点。

## 1 核基因

1.1 GJB2 编码连接蛋白 26 (Connexin26, Cx26) Kelsell 等<sup>[3]</sup> 在 1997 年找到了第一个非综合征型耳聋基因,即 Cx26 基因 (GJB2)。GJB2 基因相关表型主要和 ARNSHL 有关,多达 50% 的 ARNSHL 是由于 GJB2 基因突变引起的<sup>[4]</sup>。听力下降以高频为主累及全频的非进行性听力障碍为特征,且听力损失以重度和极重度为主。GJB2 基因定位于人染色体 13q11-12,编码 Cx26 蛋白,属于  $\beta$ -2 型蛋白。它是钾离子循环通路的一部分,对于耳蜗正常渗透压及听敏度的维持起着极其重要作用。

GJB2 基因是目前研究最为广泛的基因,该基因的突变几乎覆盖整个编码区。GJB2 基因型相关表型表现形式多种多样,呈现高度的异质性。目前已发现 GJB2 基因有 111 种突变方式,其中显性突变 9 种,隐性突变 92 种,如 33、35delG, 33、35insG、167delT、233、235delC, 299、300delAT 等,未知突变 10 种。在欧美的高加索人种中,25%~50% 的 NSHI 患者发生 GJB2 双等位基因突变, 35delG 占所有突变的 58%~88%; 北欧的犹太人种中 167delT 为主要突变,占 40%; 在日本和韩国, 235delC 为 GJB2 基因的主要突变<sup>[5]</sup>。在中国,儿童语前聋的 26%~33% 为 GJB2 基因突变所致,占常染色体隐性遗传性聋的 28%,其突变的主要方式为 233-235delC,检出率为 13.64%~21.5%。柯肖枚

等<sup>[6]</sup>在中国人群中未发现 35delG, 而 GJB2 基因的编码区 233-235delC 纯和性突变是导致遗传性非综合征型耳聋的原因之一。王莘等<sup>[7]</sup>对 219 例不同的耳聋患者筛查, 结果显示中国人中 GJB2 基因 233delC 突变的发生率为 21.5%。Hwa 等<sup>[18]</sup>发现台湾的 324 例语前 NSHI 患者发生 GJB2 基因双等位基因突变结果为 5.90%。戴朴等<sup>[9]</sup>在一次全国性重症感音性耳聋的分子流行病学调查中收集了全国 13 个省市非综合征型耳聋病例 1 680 例, 筛查出 GJB2 基因 235delC 共 305 例, 其中 235del 纯合突变检出率 8.81%, 杂合突变检出率 9.35%、总突变检出率 18.16%, 而且全国各地间检出率差异较大。郭玉芬等<sup>[10]</sup>检测 801 例中国西北地区 NSHI 患者中, GJB2 的纯合性突变频率为 8.99% (72/801), 235delC 占有所有突变的 78.79% (156/198), 其次为 299-300delAT, 占有所有突变的 15.66% (31/198), 而 35delG 仅占 1.5%, 167delT 没有检测到。

目前已发现引起 GJB2 编码区的第 235 位点碱基 C 的纯合性缺失, 使遗传密码发生移码突变, 产生无功能的缝隙连接蛋白, 后者降低缝隙连接的通透性, 影响通道的正常开闭, 使钾离子回流进入内淋巴液的循环受到影响, 导致 Corti 器的钾中毒, 从而引起感音神经性聋 (sensorineural hearing loss, SNHL)<sup>[11]</sup>。

1.2 GJB3 编码连接蛋白 31 (Connexin31, Cx31) GJB3 突变可以引起常染色体显性或者隐性遗传非综合征型耳聋。1998 年夏家辉等<sup>[12]</sup>最早报道了 2 个引起显性遗传高频听力下降的 GJB3 突变, 他们对 42 个遗传性耳聋家系进行 GJB3 筛查, 在一个浙江的耳聋家系中发现 GJB3 错义突变 (547G>A), 使得连接蛋白 Cx31 第 183 位氨基酸由谷氨酸变成赖氨酸 (Cx31E183K)。在一个湖南耳聋家系中发现 GJB3 无义突变, (538C>T), 导致第 180 位氨基酸变为终止密码子 (Cx31R180X)。刘学忠等<sup>[13]</sup>报道 2 个引起隐性遗传耳聋的 GJB3 基因突变, 他们筛选了 25 个患有隐性遗传性耳聋的中国四川家系, 在其中 2 个家系中发现 2 个 GJB3 突变, 一个是 423~425delATT, 导致第 141 号编码氨基酸异亮氨酸缺失; 另一个是 423A>G, 使得 141 号氨

基酸由异亮氨酸变成缬氨酸。423 位异亮氨酸位于连接蛋白的第 3 个保守跨膜区, 是缝隙连接孔壁形成的关键部位。Uyguner 等<sup>[14]</sup>在一个土耳其 DFNB 家系发现 GJB3 基因 667C>A, 导致编码氨基酸 P223T 改变。孙勍等<sup>[15]</sup>在 31 个 DFNA 家系中共检测到 2 种 GJB3 基因核苷酸序列改变形式 (357C>T 和 250G>A), 其中 357C>T 不改变氨基酸, 为多态现象; 250G>A 虽然引起 V84I 氨基酸改变。但是李庆忠等<sup>[16]</sup>认为 Cx31 这种杂合突变不是导致患者耳聋的惟一原因, 可能存在没有检测到的其他因素, 单独或者与 Cx31 共同作用导致这些患者听力下降。Kelsell 等<sup>[17]</sup>在一个 Cx26 基因突变引起的 NSHI 家系中筛查到 Cx31 基因突变, 因而推测 Cx26 基因与 Cx31 基因可能有协同及交叉作用。

1.3 GJB6 编码连接蛋白 30 (Connexin30, Cx30) 人类 GJB6 基因于 1999 年被克隆, 定位于 13q11-q12.1。它与 GJB2 具有 77% 的序列同源性, 但 GJB6 在 C 末端比 GJB2 多 37 个氨基酸。人类 GJB6 基因 DNA 全长 9 544 bp, 被 2 个内含子分成 2 个非编码的上游外显子和一个较大的含有完整编码序列的第 3 外显子。GJB6 在多种组织器官表达, 如内耳、皮肤、脑部、眼睛、膀胱、结肠、胃、胰腺、前列腺、子宫和睾丸等。高度的核苷酸、氨基酸序列同源性, 毗邻的基因定位决定了 GJB6 和 GJB2 近似一致的基因表达分布, 它们共同表达于外胚层来源的组织中, 特别是在人类的耳蜗和皮肤组织<sup>[18]</sup>。双重免疫组织化学染色提示大鼠耳蜗中 Cx30 与 Cx26 在耳蜗上皮间隙连接系统、结缔组织细胞间隙连接系统均有表达。Cx30 与 Cx26 可以在细胞膜上形成异型缝隙连接, 作为一个整体在内耳 K<sup>+</sup>调控中发挥作用<sup>[19]</sup>。在 NSHI 耳聋中 GJB6 最常见的突变是 342 kb 的大片段缺失 del (GJB6-D13S1830)、del (GJB6-D13S1830) 纯合缺失或与 GJB2 单等位基因突变共存的杂合缺失, 从而导致感音神经性聋。在欧美一些国家中 del (GJB6-D13S1830) 是非综合征耳聋的第 2 位常见原因, 在携带 GJB2 单等位基因突变的患者中占有较高比例, 鉴于 del (GJB6-D13S1830) 在单个 GJB2 等位基因突变患者中的较

高比例,美国和意大利学者建议将 del(GJB6-D13S1830)列为非综合征感音神经性聋的常规检测项目。在中国,韩东一等<sup>[20]</sup>在2006年对215例 SNHL 患者进行了 GJB6 基因检测。袁永一等<sup>[21,22]</sup>分别在2007年检测了372例非综合征遗传性聋患者,2008年检测了19例 GJB2 单等位基因突变的耳聋患者,均未发现 del(GJB6-D13S1830),仅在其中1例发现携带 GJB6 基因点突变 404C>A,导致了氨基酸的错义改变 T135K。物种间 Cx30 氨基酸序列进化分析证实该点位于 Cx30 高度保守的第3跨膜区。他们均认为 GJB6 基因突变在中国耳聋人群中整体发生频率较低,GJB6 基因可暂不列为第一线耳聋基因检测项目。

1.4 SLC26A4 1999年,Usami等<sup>[23]</sup>把前庭水管扩大伴感音神经性聋的非综合征型聋的基因定位在7q31,与 Pendred 综合征的致病基因相同,即 SLC26A4,又名 PDS 基因。Usami 等认为,SLC26A4 基因突变可引起综合征或非综合征型感音神经性耳聋,大前庭水管综合征为非综合征型的。SLC26A4 基因定位于7q31,全长4930 bp,含有21个外显子,开放阅读框2343 bp,编码的蛋白 Pendrin 属于硫酸盐转运子家族,在内耳主要表达于内淋巴管、内淋巴囊、椭圆囊和球囊斑相连的非感觉上皮以及外沟的外侧壁,介导氯离子的转运,维持内淋巴液的离子平衡<sup>[24]</sup>。目前的研究显示,SLC26A4 基因在非综合征型耳聋人群中的检测频率和主要突变方式表现出了明显的种族特异性和地域特异性。在北欧高加索人种中最常见的2个突变为 T416P 和 IVS8+1G>A<sup>[25]</sup>,在东亚的蒙古人种中,日本和韩国的 SLC26A4 基因的主要突变方式为 H723R<sup>[26]</sup>。在中国,Wang等<sup>[27]</sup>对107例中国前庭水管扩大患者进行了 SLC26A4 基因21个外显子测序,发现位于第7外显子的 IVS7-2A>G 和第19外显子的 H723R 是中国人群的热点突变,二者在所有突变中分别占57.63%和9.04%。Wu等<sup>[28]</sup>对中国台湾的38个前庭水管扩大或 Mondini 畸形患者家庭进行 SLC26A4 基因突变的筛查,结果显示 IVS7-2A>G 占有所有突变的84%。郭玉芬等<sup>[10]</sup>在中国西北地区的801例 NSHI 患者中进行第7外

显子和第19外显子的检测,结果显示,有98人携带 SLC26A4 基因 IVS7-2A>G 和 H723R 突变,突变携带率为12.23%(98/801),其中41人携带有 SLC26A4 基因双等位突变位点(IVS7-2A>G 纯合突变31例,H723R 纯合突变3例,复合杂合7例),突变频率为5.12%(41/801)。IVS7-2A>G 位于外显子8剪切位点的位置,即内含子7的3'末端距外显子8起始位置的2个碱基处,突变后该位置的腺嘌呤被鸟嘌呤置换,使前体 mRNA 不能正常剪接,外显子8整个丢失,外显子7和外显子9直接相连,从而导致 Pendrin 的翻译发生移框或提前终止,影响 Pendrin 的结构和功能<sup>[29]</sup>,使携带该突变的个体发生耳聋。

## 2 线粒体 DNA

线粒体是细胞氧化磷酸化的中心也是能量代谢的中心。线粒体 DNA(mtDNA)是惟一存在于人细胞质中的 DNA 分子,是独立于细胞核染色体外的基因组。mtDNA 不与组蛋白结合,修复能力低下,容易发生碱基突变,具有自我复制、转录和编码功能,但同时受到核 DNA 的调控。除了极个别的例子外,mtDNA 显示了严格的母系遗传规律。正常情况下,大多数健康个体不同的细胞或组织中的 mtDNA 都是同一类型的,即均质性(homoplasmy),但在许多线粒体疾病中线粒体发生突变,在这种情况下可能出现细胞中突变型 mtDNA 和野生型 mtDNA 共存,即异质性<sup>[30]</sup>(heteroplasmy)。异质细胞分裂时,突变的 mtDNA 随机分布到子细胞中,经过多代的传递,mtDNA 表型向突变型 mtDNA 占优势的方向漂变。当突变积累过多时,能量输出会降低到正常细胞、组织和器官功能维持最低需要量以下,就会出现症状,并越来越严重。Sinnathuray<sup>[31]</sup>认为3%以上的感音神经性耳聋患者中存在线粒体基因突变。线粒体 DNA 突变与氨基糖甙类药物致聋(Aminoglycoside Antibiotic-Induced Deafness, AAID)和非综合征型耳聋有关。近年来国内逐步开展了 mtDNA 突变的检测,并发现了多种突变类型。

2.1 线粒体 DNA A1555G 突变 1991年中国学

者邱维勤分析了 36 个氨基糖甙类抗生素致聋家系的遗传图谱,首次提出 AAID 为母系遗传,即线粒体遗传。1993 年 Prezant 等<sup>[32]</sup>报道了 3 个中国家系的数个成员在使用氨基糖甙类抗生素后发生毒性耳聋,3 个家系中均证实呈现母系遗传的线粒体基因 mtDNA 12SrRNA 的 1555 碱基 A→G 突变。随后,非洲、西班牙、日本、蒙古、南美、以色列也有家系报道。在美国,带有 A1555G 突变的耳聋患者占全部氨基糖甙类抗生素引起耳聋患者的 15%,说明这一突变在人群中的较高发生率。袁慧君等<sup>[33]</sup>对 3 个有明确氨基糖甙类药物应用史的母系遗传家系的研究发现,A1555G 突变并非氨基糖甙类抗生素易感的惟一分子学机制。王力红等<sup>[34]</sup>调查我国西南地区氨基糖甙类抗生素药物性耳聋时,发现患者中约 30%有母系遗传家族史,线粒体 DNA A1555G 突变有较高检出率,是影响药物易感性的重要因素。戴朴等<sup>[9]</sup>检测了全国 18 个省的 2 016 例非综合征型耳聋病例线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变,全国平均检出率为 2.83%。携带线粒体 A1555G 突变者还可以在没使用氨基糖甙类抗生素的条件下出现耳聋,也就是说氨基糖甙类抗生素是影响这种基因突变的表现型的 1 个外在因素,由于线粒体 A1555G 的突变,使得人类的线粒体 12SrRNA 的结构更像细菌的 rRNA,从而对氨基糖甙类抗生素表现出敏感性。

2.2 线粒体 DNA C1494T 突变 2004 年,Zhao 等<sup>[35]</sup>报道了一个与 AAID 及非综合征型聋有关的 mtDNA C1494T 突变的大家系,让人类对线粒体 DNA 突变与耳聋的研究进展又进了一步。在没使用氨基糖甙类抗生素时,这个家庭中的一些母系亲属表现出迟发型/进行性耳聋,其发病年龄和严重性也表现出很大的不同。王秋菊等<sup>[36]</sup>在两个母系遗传性耳聋家系中共发现了 18 名线粒体 12SrRNA C1494T 突变成员,这些携带者中有 13 名发生了耳聋,在发生耳聋的患者中,除 1 名患者在 3 岁时肌注 1 支奎宁后出现重度耳聋,3 名患者缺乏明确的用药史以外,其余 9 名耳聋患者均有明确的氨基糖甙类抗生素应用史,结果显示两个家系成员的耳聋与氨基糖甙类抗生素的应用密切相关。mtDNA

C1494T 突变位于 mtDNA 12SrRNA 的小核糖体亚单位的编码区域,其序列从细菌到哺乳动物是高度保守的。当发生 C1494T 突变时,可以形成新的 1494U-A1555 碱基配对,这和 12SrRNA 的 A1555G 突变造成的 1494C-G1555 碱基配对在结构上相似<sup>[35]</sup>。研究表明:由 C1494T 或 A1555G 突变所形成新的 U-A 或 G-C 碱基配对使得这个 rRNA 解码区的二级结构与大肠杆菌的 16SRNA 的相应区域更加相似,因而这个突变实际上使线粒体 DNA 与氨基糖甙类药物的结合更加容易<sup>[37]</sup>,而临床研究也发现携带这些突变的个体接受氨基糖甙类药物后,可以造成听力下降或原有的听力下降程度加重<sup>[35]</sup>。

2.3 线粒体 DNA 961 位 C 插入突变 Bacino 等<sup>[38]</sup>报道的线粒体 12SrRNA 基因 961delT/insC(n)以及该基因中 2 个同质性的突变也可引起氨基糖甙类耳聋的易感性。Li 等<sup>[39]</sup>对线粒体 12SrRNA 进行了系统的突变分析,研究对象为中国散发的氨基糖甙类药物性聋和非综合征型耳聋的儿童。他们发现,在这一人群中 48%为氨基糖甙类药物性耳聋;961 位点的突变分别占氨基糖甙类药物性耳聋和非综合征耳聋病例的 1.7%和 4.4%;A1555G 分别占 13%和 2.9%。曹新等<sup>[40]</sup>对一个 6 代 507 人中的 137 人耳聋的大家系致病基因定位研究,结果发现所有母系成员均存在 mtDNA 12SrRNA 基因的 A1555G 及 961insC 双重同质性点突变,而在同时进行研究的 2 例非母系亲属及 1 例散发患者中未见这 2 个位点的改变。提示线粒体 12SrRNA 基因区域 A1555G 和 961insC 的双重突变可能共同参与了 AAID 听力损害过程。但近年来文献<sup>[41,42]</sup>不支持 mtDNA 961delT/insC(n)突变是药物性耳聋的遗传基础的观点。李建忠等<sup>[43]</sup>在中国 1 个耳聋家系的所有 9 例母系成员中均检出 mtDNA 961delT/insC(n)突变,有明确氨基糖甙类抗生素用药史的 4 例中只有 2 例耳聋患者,其中 1 例为用药之前出现的先天性聋,另 1 例为用药后 38 年出现的轻度耳聋,突变不与耳聋共分离。该研究不支持 mtDNA 961delT/insC(n)突变是该家系耳聋的致病突变,认为 mtDNA 961 位点附近可能是 1 个多变异的区域,mtDNA 961delT/insC(n)可能是 1 个与氨基糖

甙类药物性耳聋不明确相关的多态。

2.4 线粒体 DNA T1095C 突变 T1095 位点位于 12SrRNA 的第 25 个螺旋上,该 RNA 的 P 位在许多物种中都高度保守,这个位点在线粒体蛋白质合成的起始过程中很关键<sup>[44]</sup>。1095 位点 T 到 C 的转换打破了 12SrRNA 第 25 螺旋茎杆结构中 1 个进化上保守的碱基对 A-U<sup>[45]</sup>,明显地改变了这个保守区域的二级结构。这一突变曾经在意大利的 1 个患有听神经病、氨基糖甙类抗生素耳聋和帕金森病的家系中发现<sup>[44]</sup>。在另外 1 个有母系遗传听力损失的意大利家系和 1 个有听神经病的中国患者的 mtDNA 中也发现 1095 T>C 的突变。1095 T>C 突变在这些遗传上不相关但都存在听力损失的患者中出现,强烈提示其可能参与了听力损失的发病过程。Thyagarajan 等<sup>[44]</sup>对携带 1095 T>C 突变的细胞系的呼吸链功能进行研究,发现该细胞系的氧化磷酸化复合体 IV 的活性大约是正常人的一半,而复合物 II 的活性也较正常的细胞系有所降低。Zhao 等<sup>[46]</sup>推测 1095 T>C 进一步导致 12SrRNA 的三级或四级结构发生改变,可能会影响线粒体的蛋白质合成功能,因此导致线粒体功能障碍和耳聋。袁永一等<sup>[47]</sup>检测 134 例 NSHI 患者发现 3 例 1095 T>C 突变并在 75 例听力正常的人群中也发现 1 例携带 1095 T>C 突变,提示 mtDNA 1095 T>C 突变可能与 1555 A>G 突变一样属于条件致病突变。

2.5 其他线粒体基因突变 有报道显示与非综合征性耳聋相关的 mtDNA 点突变还有位于 tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> 基因上的 A7445G、A7445C、G7444A、7472insC、T7510C 和 T7511C 突变<sup>[48-53]</sup>。其中, G7444A 突变发生于没有 A1555G 突变的耳聋病例,但随后的研究发现在遗传性耳聋患者中可同时存在线粒体 DNA A1555G 突变与 G7444A 突变,进一步的研究提示 G7444A 突变致聋机理与 A7445G 突变相似<sup>[54]</sup>。徐延军等<sup>[55]</sup>认为 G7444A 突变可能共同参与了 A1555G 听力损害的过程,但尚缺乏 G7444A 突变单独存在导致耳聋的证据。刘玉和等<sup>[56]</sup>对 128 例 NSHI 家系成员和 133 例 NSHI 患者进行了 A7445G 突变检测,均未发现突变。Zhiyuan Li 等<sup>[57]</sup>报道线粒体 12SrRNA 基因的

A827G、T1005C 和 A1116G 突变可能参与 AAID 的发病。这些线粒体基因突变在 AAID 中是否与线粒体 A1555G 有协同作用或单独起作用,目前研究较少,有待进一步研究总结。

2.6 致病机制 关于氨基糖甙类抗生素耳毒性的发生机制,管敏鑫等<sup>[58]</sup>认为氨基糖甙类抗生素敏感的位点在线粒体核糖体内。氨基糖甙类抗生素先进入耳蜗和前庭,然后积累起来。这种药物通过与 12S rRNA 特别是那些有 A1555G 突变或者 C1494T 突变的线粒体的相互作用,而抑制线粒体蛋白合成,这些线粒体的翻译缺陷导致耳蜗和前庭细胞内 ATP 的产量下降。同时,这些氧化磷酸化的缺陷导致大量活性氧(ROS)的产生,因而损伤线粒体和细胞内的蛋白、脂类和核酸。结果,线粒体的通透性转运孔道开放并启动细胞死亡途径,这将导致耳蜗和前庭细胞功能的丧失或细胞死亡并出现听力损失。

线粒体 A1555G 突变是造成耳聋发生的一个主要因素,但是它自身并不足以引起耳聋的表型,其他一些修饰因子,如氨基糖甙类药物或者核修饰基因,调节了 A1555G 或 C1494T 的表型显示<sup>[59]</sup>。在线粒体中可能还有尚未发现的突变位点,通过与核修饰基因在结构和功能上相互作用,达到影响线粒体突变表型的显示。

## 展望

非综合征性耳聋相关基因的深入研究对耳聋的病因学认识、诊断和治疗已经形成了积极的影响。随着对大量耳聋基因的了解,人类已经开始把研究成果应用于临床工作,在许多国家都已经开展了耳聋基因检测。2004 年意大利人 Coviello<sup>[60]</sup>对 5 449 例妊娠 3 个月的孕妇做了产前染色体和 DNA 检测,其中 2 997 人接受了 35delG 基因突变检查,有 67 人证实为突变携带者,此项研究表明了产前基因检测和咨询是可行的。因遗传性耳聋在全世界范围都有很高的发生率,故基因诊断及治疗工作有着极其重要的意义。在中国也开始了耳聋基因筛查工作,戴朴<sup>[9]</sup>在 2006 年进行了全国范围的 NSNI 流行病学调查检测了 GJB2 235delC 和线粒体 DNA

12SrRNA A1555G 基因。李丽<sup>[61]</sup> 在 2009 年对 1 234 例新生儿进行了听力与聋病易感基因 mtDNA A1555G、GJB2 和 SLC26A4 的联合筛查,基因筛查未通过者 32 例,其中 2 例为 mtDNA A1555G 突变阳性,GJB2 基因 235delC 杂合突变 20 例,SLC26A4 基因 IVS7-2A>G 杂合突变 10 例,耳聋基因阳性率 26%(32/1234)。对这些基因筛查结果的分析与后期的干预,不仅能预防受筛查本人听力损失,而且也可以锁定一些聋病高危人群,给他们预警,防止聋病的发生,或是通过遗传学咨询避免聋病基因的继续下传。我国具有丰富的耳聋基因资源,可以开展大规模基因突变筛查,有可能发现中国人特有的耳聋相关基因或突变类型,并且全国不同地区各种耳聋基因的致病率,各种耳聋基因的突变的频率和分布,特定耳聋基因分布和多态性均不同。

迄今为止,在耳聋基因的发现及诊断方面已有了阶段性的成果,还远不能解释临床中出现的各种耳聋表型特征出现的原因,而且很大一部分还限于实验室阶段,检测手段尚待完善,简便、可靠、经济并能够提供给临床应用的基因检测及治疗方法还有待进一步研究及改进。随着人类后基因组时代的到来,基因敲除、蛋白质组学的发展及各种蛋白相互作用机制的发现将加速致病基因的功能研究。总之,对耳聋发生机制,发展的分子水平变化过程的认识,最终将为耳聋疾病进行早期诊断、遗传咨询、预防和治疗提供理论基础。

#### 参 考 文 献

- [1] Liu XZ, Xia XJ, Xu LR, et al. Mutations in connexin31 underlie recessive as well as dominant nonsyndromic hearing loss[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9: 63.
- [2] Smith R, Bakejr J, White K. Sensorineural hearing loss in children[J]. Lancet, 2005, 365: 879.
- [3] Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, et al. Connexin26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness [J]. Nature, 1997, 387:80.
- [4] Cohn E, Kelley P. Clinical phenotype and mutations in connexin 26 (DFNB1/GJB2), the most common cause of childhood hearing loss[J]. Am J Med Genet, 1999, 89: 130.
- [5] Kenneson AK, Van Naarden B, Boyle C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a huge review[J]. Genet Med, 2002, 4:258.
- [6] 柯肖枚,路远,刘玉和,等. Connexin26 基因突变与国人遗传性无综合征耳聋相关性分析[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2001, 36:163-165.
- [7] 王苹,王新美,安秀芬,等. Connexin26 基因 233delC 突变与中国先天耳聋的研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2001, 8: 24-26.
- [8] Hwa HL, Ko TM, Hsu CJ, et al. Mutation spectrum of the connexin 26 (GJB2) gene in Taiwanese patients with prelingual deafness[J]. Genet Med, 2003, 5:161.
- [9] 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(I)-GJB2 235delC 和线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变筛查报告[J]. 中华耳科学杂志, 2006, 4:1-5.
- [10] 郭玉芬,刘晓雯,关静,等. 西北地区非综合征型耳聋患者 GJB2, SLC26A4 基因突变的分子流行病学研究[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2008, 16:263-266.
- [11] 王国建,戴朴,韩东一,等. 非综合征型聋患者 GJB2 235delC 及线粒体 DNA A1555G 突变分析[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2007, 15:114.
- [12] 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.
- [13] 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, 9:63-67.
- [14] Uyguner O, Emiroglu M, Uzumcu A, et al. Frequencies of gap-and tight-junction mutations in Turkish families with autosomal-recessive non-syndromic hearing loss [J]. Clin Genet, 2003, 64:65-69.
- [15] 孙勃,袁慧军,刘新,等. 中国常染色体显性遗传非综合征型耳聋人群缝隙连接蛋白 31 基因突变分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2008, 15:625-627.
- [16] 李庆忠,王秋菊,赵立东,等. 国人非综合征型遗传性聋患者 GJB3 基因突变分析[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2005, 13: 145-148.
- [17] Kelsell DP, Wilgoss AL, Richard G, et al. Connexin mutations associated with palmoplantar Keratoderma and profound deafness in a single family[J]. Eur J Hum Genet, 2000, 8:141-144.
- [18] Xia AP, KATORI Y, OSHIMA T, et al. Expression of connexin30 in the developing mouse cochlea[J]. Brain Res, 2001, 898:364-367.
- [19] Lautermann J, TEN CATE W J, Altenhoff P, et al. Expression of the gap-junction connexins 26 and 30 in the rat cochlea[J]. Cell Tissue Res, 1998, 294: 415-420.
- [20] 韩冬一,李庆忠,兰兰,等. 中国散发耳聋患者 GJB6 基因的突变筛查[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2006, 13:670-672.
- [21] 袁永一,黄德亮,戴朴,等. 中国非综合征遗传性聋人群 GJB6 基因突变分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 21: 3-6.
- [22] 袁永一,黄德亮,戴朴,等. 赤峰市特教学校耳聋患者 GJB2 和 GJB3 及 GJB6 基因突变分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2008, 22:14-17.
- [23] Usami S, Abe S, Weston MD, et al. Non-syndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct is caused by PDS mutations[J]. Hum Genet, 1999, 104:188-192.

- [24] Taylor JP, Metcalfe RA, Watson PF, et al. Mutations of the PDS gene, encoding pendrin, are associated with protein mislocalization and loss of iodide efflux: implications for thyroid dysfunction in Pendred syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:1778.
- [25] Campbell C, Cucci RA, Prasad S, et al. Pendred syndrome, DFNB4, and PDS/SLC26A4 identification of eight novel mutations and possible genotype-phenotype correlations[J]. *Hum Mutat*, 2001, 17:403.
- [26] Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, et al. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese[J]. *Eur J Hum Genet*, 2003, 11:916.
- [27] Wang QJ, Zhao YL, Rao SQ, et al. A distinct spectrum of SLC26A4 mutations in patients with enlarged vestibular aqueduct in China[J]. *Clinical Genetics*, 2007, 72:245.
- [28] Wu CC, Yeh TH, Chen PJ, et al. Prevalent SLC26A4 mutations in patients with enlarged vestibular aqueduct and/or Mondini dysplasia: a unique spectrum of mutations in Taiwan, including a frequent founder mutation [J]. *Laryngoscope*, 2005, 115:1060.
- [29] 赵亚丽, 李庆忠, 翟所强, 等. 国人前庭水管扩大患者 SLC26A4 基因的特异性突变[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2006, 14:93-96.
- [30] Wallace DC. Diseases of the mitochondrial DNA[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1992, 61:1175-1212.
- [31] Sinnathuray AR, Raut V, Awa A, et al. A review of cochlear implantation in mitochondrial sensorineural hearing loss[J]. *Otol Neurotol*, 2003, 24:418-426.
- [32] Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and nonsyndromic deafness[J]. *Nat Genet*, 1993, 4:289-294.
- [33] 袁慧君, 姜泗长, 杨伟炎, 等. 氨基糖甙类抗生素致聋家系线粒体 DNA A1555G 点突变分析[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 1998, 33:67-69.
- [34] 王力红, 张楠, 梁传余, 等. 西南地区氨基糖甙类抗生素致聋及线粒体 DNA12SrRNA 基因突变的检测[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2002, 37:311-312.
- [35] Zhao H, Li R, Wang Q, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and non-syndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12SrRNA gene in a large Chinese family[J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 1:139-152.
- [36] 王秋菊, 韩明鲲, 刘晓雯, 等. 值得关注的线粒体 12SrRNA C1494T 突变—药物敏感致聋靶点[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2008, 16:446-450.
- [37] Hamasaki K, Rando RR. Specific binding of aminoglycosides to a human rRNA construct based on a DNA polymorphism, which causes aminoglycoside-induced deafness [J]. *Biochemistry*, 1997, 40:12323-12328.
- [38] Bacino C, Prezant TR, Bu X, et al. Susceptibility mutations in the mitochondrial small ribosomal RNA gene in aminoglycoside induced deafness [J]. *Pharmacogenetics*, 1995, 5:165-172.
- [39] Li Z, Li R, Chen J, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12SrRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss [J]. *Hum Genet*, 2005, 1:9-15.
- [40] 曹新, 邢光前, 魏钦俊, 等. 线粒体 DNA A1555G 和 961insC 双重突变导致的非综合征型遗传性耳聋[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2004, 21:629-632.
- [41] Kobayashi K, Oquci T, Asamura K, et al. Genetic features, clinical phenotypes, and prevalence of sensorineural hearing loss associated with the 961delT mitochondrial mutation[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2005, 32:119-124.
- [42] Bae JW, Lee KY, Choi SY, et al. Molecular analysis of mitochondrial gene mutations in Korean patients with nonsyndromic hearing loss[J]. *Int J Mol Med*, 2008, 22:175-180.
- [43] 李建忠, 程静, 卢宇, 等. 遗传性耳聋家系线粒体 DNA 961delT/insC(n) 突变的致病性分析[J]. *中华耳科学杂志*, 2010, 1:9-13.
- [44] Thyagarajan D, Bressman S, Bruno C, et al. A novel mitochondrial 12SrRNA point mutation in parkinsonism, deafness and neuropathy[J]. *Ann Neurol*, 2002, 48:730-736.
- [45] Neefs JM, VandePeer Y, DeRijck P, et al. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences [J]. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19(Suppl):1987-2018.
- [46] Zhao L, Young WY, Li R, et al. Clinical evaluation and sequence analysis of the complete mitochondrial genome of three Chinese patients with hearing impairment associated with the 12S rRNA 1095T>C mutation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325:1503-1508.
- [47] 袁永一, 李琦, 刘新, 等. 与线粒体 12SrRNA 1095 T>C 突变相关的遗传性耳聋病因分析[J]. *中国听力语言康复科学杂志*, 2008, 3:26-29.
- [48] 李为民, 韩东一, 袁慧军, 等. 非综合征型遗传性聋家系系谱分析及 mtDNA 12SrRNA tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> 基因突变分析[J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2004, 18:582-589.
- [49] Yuan H, Qian Y, Xu Y, et al. Cosegregation of the G7444A mutation in the mitochondrial COI/ tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> genes with the 12S rRNA A1555G mutation in a Chinese family with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss [J]. *Am J Med Genet*, 2005, 138A(2):133-140.
- [50] Yuan HJ, Chen J, Liu X, et al. Coexistence of mitochondrial 12S rRNA C1494T and COI/ tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> G7444A mutations in two Han Chinese pedigrees with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362:94-100.
- [51] Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Fournier P, et al. Mitochondrial mutation associated with nonsyndromic deafness [J]. *Am J Otolaryngol*, 1995, 16:403-408.
- [52] Pandya A, Xia XJ, Erdenetungalag R, et al. Heterogenous point mutations in the mitochondrial tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> precursor coexisting with the A1555G mutation in deaf students from Mongolia [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 65:1803-1806.
- [53] Li R, Ishikawa K, Deng JH, et al. Maternally inherited nonsyndromic hearing loss is associated with the T7511C

mutation in the mitochondrial tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> Gene in a Japanese family[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328:32-37.

[54] Yuan HJ, Qian YP, Xu YJ, et al. Cosegregation of the G7444A mutation in the mitochondrial COI/ tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> gene with the 12S rRNA A1555G mutation in a Chinese family with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss[J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 138: 133-140.

[55] 徐延军,曹菊阳,白琳娜. mtDNA A1555G 和 G7444A 双重突变导致的非综合征型遗传性耳聋[J]. *中华耳科学杂志*, 2005, 3:263.

[56] 刘玉和,柯肖枚,戚豫,等. 国人无综合征型耳聋患者的线粒体 DNA7445A-G 突变 263 例调查[J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2001,15:149-151.

[57] Zhiyuan Li, Ronghua Li, Jianfu Chen, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-

syndromic hearing loss[J]. *Hum Genet*, 2005,117: 9-15.

[58] 管敏鑫,赵立东. 与氨基糖甙类抗生素耳毒性相关的线粒体 12S rRNA 突变的流行病学特征[J]. *中华耳科学杂志*, 2006, 4:98-105.

[59] Li R, Xing G, Yan M, et al. Cosegregation of C-insertion at position 961 with A1555G mutation of mitochondrial 12SrRNA gene in a large Chinese family with maternally inherited hearing loss[J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 124: 113.

[60] Coviello DA, Brambati B, Tului L, et al. First-trimester prenatal screening for the common 35delG GJB2 mutation causing prelingual deafness[J]. *Prenat Diagn*, 2004, 24:631.

[61] 李丽,何健,郭玉芬,等. 1234 例新生儿听力与聋病易感基因联合筛查[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2009,16:187-189.

编辑:郑枫芸  
(收稿日期:2010-08-13)

· 病例小测试 ·

孕妇 23 岁,孕 1 产 0,孕 22 周+5 天,超声发现异常,(图 1~3),请给予超声诊断。行脐带穿刺术获得胎儿血液, FISH 和 CGH 检测,遗传学诊断结果本期内找。

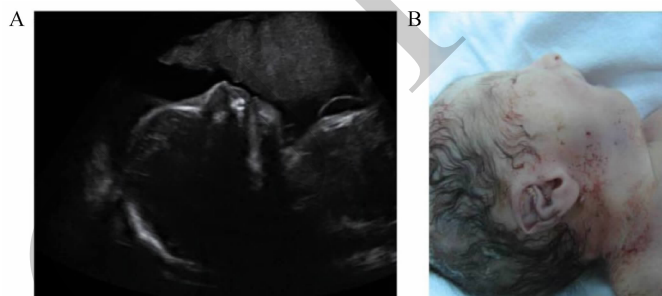


图 1 胎儿头部超声和死胎图像



图 2 胎儿心脏超声图像

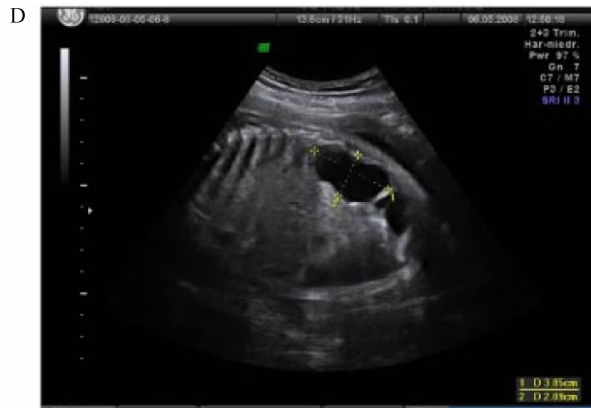


图 3 胎儿腹部超声图像

(答案在本期内找)