

表型相同不同基因型耳聋夫妇的遗传咨询

段玲 韩锐 湃孜莱提·哈斯木

(新疆医科大学第一附属医院 产前诊断室,新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐市 830054)

【摘要】 目的 利用基因诊断方法分析耳聋家庭的分子致病机制,并通过耳聋基因的鉴别,为不同发病原因的耳聋家庭提供准确的遗传咨询。**方法** 共有3个耳聋家庭参加研究,3个家庭的夫妇均为聋哑人,所有受检患者均采集外周血并提取DNA,进行GJB2、GJB3、SLC26A4、线粒体12SrRNA中9个热点突变进行检测。**结果** 1号家庭丈夫携带SLC26A4杂合突变,妻子携带12SrRNA均质突变;2号家庭丈夫携带SLC26A4杂合突变,妻子携带SLC26A4杂合突变及GJB2杂合突变;3号家庭丈夫及妻子均未检出9个耳聋基因位点突变。**结论** 进行GJB2、GJB3、SLC26A4、线粒体12SrRNA四种基因检测,可以明确大部分遗传性耳聋的原因。就其检测结果对耳聋家庭进行遗传咨询是预防耳聋家庭再次生育聋儿的有效方法。

【关键词】 耳聋;耳聋基因芯片;遗传咨询

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To analyze the molecular pathogenesis of deafness family by gene diagnosis method, and to provide accurate genetic counseling for the families with different causes of hearing loss through the differential gene. **Method** A total of 3 deaf families participated in the study, 3 families were deaf mute, all patients were collected peripheral blood and extracted DNA, GJB3, SLC26A4, GJB2, mitochondrial 12SrRNA 9 hot spot mutations were detected. **Results** The first families with GLC26A4 mutations, the wife carrying 12SrRNA mutation; the second family husband with SLC26A4 heterozygous mutation, the wife carrying SLC26A4 heterozygous mutation and GJB2 mutation; the third family husband and wife were not detected in 9 deaf gene mutation. **Conclusions** GJB3, SLC26A4, GJB2 and mitochondrial 12SrRNA four gene can be detected, which can identify the causes of most of the hereditary hearing loss. The detection results of deafness family genetic counseling is an effective method for the prevention of deafness family birth again in deaf children.

【Key words】 deafness; deafness gene chip; genetic counseling

耳聋是影响人类健康和致残的常见病,据各国统计平均每1000个新生儿中就有1个耳聋儿^[1]。经过全国耳聋分子流行病学调查研究显示^[2,3],GJB2、SLC26A4、线粒体DNA 12SrRNA的1555和1494这3个基因的致病突变是造成遗传性耳聋的主要病因。由于耳聋发病率较高,这让很多耳聋患者家庭陷入两难:一方面聋哑夫妻双方生育聋儿风险较正常人群高;另一方面聋哑夫妻比正常人更希望有一个健康的孩子。对于环境因素导致的耳聋,

可以通过预防感染和加强孕产期围产期的保健,避免应用耳聋性药物等措施有效地预防。对于遗传性耳聋的预防,明确耳聋致病基因是关键,同时对耳聋患者家庭的遗传咨询是十分重要的,关系到我国优生优育的人口政策执行,关系到我国社会长远发展的战略需求。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象 2014年1月至2014年12月共有3个耳聋家庭来遗传咨询门诊就诊,3个家庭的夫妇

均为聋哑人。测听显示受检查均为重度到极重度耳聋个体,3个家庭均为首次生育需求,3个家庭的父母均听力正常。

1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取方法 采集受检者外周血 2~3 ml,应用试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取全血 DNA,提取步骤参照试剂盒提供的使用说明进行。取 2 μ l 基因组 DNA 经紫外分光光度计进行浓度和纯度检测,其余保存于 -20 $^{\circ}$ C 备用。

1.2.2 耳聋基因芯片检测 应用遗传性耳聋基因芯片检测试剂盒(博奥生物有限公司的芯片(Microarray)技术对 GJB2、SLC26A4、线粒体 12SrRNA 和 GJB3 四个耳聋相关基因的 9 个致聋突变位点进行检测。检测的遗传性耳聋基因突变热点包括

GJB2 基因的 35、176、235 及 299 位点,SLC26A4 基因的 2168 和 IVS7-2 位点,线粒体 12SrRNA 基因的 1494 和 1555 位点,以及 GJB3 基因的 538 位点。该试剂盒以基因组 DNA 为模板,采用带有 Tag 标签序列的基因位点特异性引物对相关突变位点所在的基因片段进行扩增和荧光标记,然后将扩增产物与能够识别相应标签序列的基因芯片进行杂交,通过微阵列芯片扫描仪对芯片进行扫描,最后将扫描结果进行判定和数据分析得到 9 个突变位点的检测结果。

2 结果

3 个家庭耳聋基因检测结果见表 1。

表 1 3 个家庭耳聋基因检测结果

序号	性别	年龄	家庭情况	检测基因	染色体位置	突变位点	检测结果
1 号家庭	女	26	兄弟姐妹 4 人,3 个姐姐正常,语后聋	12SrRNA	线粒体 DNA	1555A>G	均质突变
	男	26	兄弟姐妹 3 人,一哥一妹均为聋哑人,语前聋	SLC26A4	7q22-31.1	IVS7-2A>G	杂合突变
2 号家庭	女	31	兄弟姐妹 2 人,一姐正常,语前聋	SLC26A4	7q22-31.1	IVS7-2A>G	杂合突变
	男	37	兄弟姐妹 2 人,一姐正常,语前聋	GJB2	13q11-12	35delG	杂合突变
3 号家庭	女	29	兄弟姐妹 4 人,两姐一哥正常,语后聋	9 个耳聋基因位点突变			未检出
	男	39	兄弟姐妹 2 人,一弟正常,语后聋	9 个耳聋基因位点突变			未检出

3 讨论

通过我们耳聋家系的基因检测及大量的研究表明,耳聋致病基因虽然具有较高的基因和位点异质性,但大部分非综合征性聋多由少数几个热点基因突变引起,包括 GJB2 基因、GJB3 基因、SLC26A4 基因、线粒体 12S r RNA 基因等,这使遗传性聋的筛查成为可能,加上基因芯片技术的日益成熟,耳聋基因筛查在世界范围内得到关注^[4-7]。以往多用限制性酶切、测序、斑点杂交或基因扫描技术进行分子诊断,近年来耳聋芯片检测作为新技术正在遗传性耳聋基因诊断中发挥重要作用,这几种诊断技术都各有利弊。与传统的检测方法相比,它具有快速、高通量、高准确性、低成本等特点。更重要的是它可以同时检测多突变位点,这是传统方法无法解决的问题。目前国内有多家医院陆续开展了这方面的应

用研究^[8,9]。

如何向有遗传咨询要求的耳聋夫妇提供准确的遗传信息和指导,一直是遗传学工作者面临的难题。耳聋的致残因素很多,不能确定病因的耳聋遗传咨询,很难确定遗传模式以及预测再发风险。本研究 3 对耳聋家庭,耳聋夫妇双方虽然表型相同,但遗传咨询与指导的内容应根据病因的不同而有所差异。

3.1 1 号家庭 夫妇双方为聋哑人,夫妇二人的耳聋基因检测结果显示男方检测出是 SLC IVS 7-2 A >G 杂合突变,女方检测出是 12SrRNA 1555A >G 均质突变,男方为先天性耳聋,女方为药物致聋。如果男方是单基因的遗传性耳聋,那么他肯定携带 SLC 基因未检测到的罕见位点突变,才会表现出耳聋的症状。由于检测采用的是芯片筛查的方法,没有获得 SLC 基因的全长,因此对于该对夫妇的指导意见如下:

3.1.1 男方经过测序确认携带 SLC 基因其他芯片筛查位点以外的罕见位点突变,女方 SLC 基因测序无突变,则后代 SLC 基因导致的耳聋发病率为 0,携带率为 1/4。

3.1.2 男方经过测序确认携带 SLC 基因其他芯片筛查位点以外的罕见位点突变,女方 SLC 基因测序也携带同样的罕见位点杂合突变,则后代发病率 1/4,正常率 1/4,携带率 1/2。

3.1.3 女方为 12SrRNA 1555A>G 均质突变,那么她的后代也为 12SrRNA 1555A>G 均质突变,后代因其遵循母子遗传方式 100% 的可能为 12SrRNA 1555A>G 均质突变的携带者,男女携带均等,携带此突变个体对氨基糖苷类抗生素极为敏感。小剂量使用即可导致重度听力损失,做好用药指导,其后代应终身绝对禁止使用氨基糖苷类抗生素,避免耳聋的发生。^[10]

3.2 2号家庭 夫妇双方为聋哑人,夫妇二人的耳聋基因检测结果显示男方检测出是 GJB2 35delG 杂合突变,女方检测出是 GJB2 35delG、SLC IVS 7-2 A>G 杂合突变,男女双方均为先天性耳聋。如果确定男女双方都是遗传性耳聋的话,那么男方肯定携带有芯片检测以外的 GJB2 罕见位点的突变才会导致耳聋,目前尚没有文章报道同时携带 GJB2 35delG、SLC IVS 7-2 A>G 杂合突变会致病的先例,因此如果女方为先天性遗传性耳聋那么女方肯定携带有芯片检测以外的 GJB2 罕见位点或者是 SLC 罕见位点的突变才会导致耳聋。因此针对这对夫妻遗传指导意见比较复杂。

3.2.1 假如夫妻双方都携带 GJB2 的罕见致病突变,那么后代发病率为 100%。如果一个带有罕见致病突变,另一个没有,那么发病率为 1/2,携带率 1/2。如果两人都不携带 GJB2 的罕见致病突变那么发病率为 1/2,正常率 1/4。

3.2.2 女方携带 SLC 突变,如果她是这个基因导致的耳聋那么她很可能携带一个罕见位点突变,男方如果 SLC 基因全测序完全正常的话后代 SLC 致聋风险为 0,如果男方 SLC 测序有其他致病突变,则后代发病率 1/4,携带率 1/2,正常 1/4。

3.3 3号家庭 夫妇双方为聋哑人,夫妇二人的耳聋基因检测结果显示芯片筛查双方均未检测出突变。由于夫妻双方均为后天性耳聋,夫妇二人的耳聋基因检测结果显示,均未携带 GJB2、SLC26A4、12SrRNA、CJB3 基因突变。此结果可排除中国人最常见的 9 个耳聋基因位点突变。但不能排除其他少见耳聋基因位点存在突变,建议夫妇双方耳聋患者进一步进行 SLC 26A4(PDS)基因全序列分析。另一方面也可能提示二人环境因素致聋可能性存在,如这样其后代患遗传性耳聋的风险大大降低,即使存在较少但耳聋基因导致耳聋的可能性。但父母同时成为少见致聋基因携带者的可能性非常低,对后代的风险预值正常大于不正常。

通过本研究中的 3 个家庭,有 2 个聋哑夫妇家庭检测出有常见耳聋致病基因的突变,一个家庭未检测出常见的耳聋致病基因突变。针对目前的检测结果我们只能给出可能的生育风险分析,为聋哑夫妇家庭生育孩子提供一些初步的指导。本研究的不足之处在于未对基因芯片检测结果进行测序验证突变检测结果的准确性,因此未能给出聋哑夫妇明确的耳聋原因。建议这些聋哑夫妇家庭在孕前一定要明确耳聋原因,避免听力障碍孩子的出生。

我国听力语言残疾者甚众,并以每年 3 万耳聋的速度增长^[11],耳聋出生缺陷也是影响我国出生人口素质的重要问题之一。随着我国对遗传性耳聋认识的深入,耳聋基因筛查与遗传咨询逐渐成为明确耳聋病因,预防遗传性耳聋的主要手段之一。

参 考 文 献

- [1] 孙亮. 遗传性耳聋相关基因研究进展[J]. 海南医学, 2013, 5, 24(9): 1342-1345.
- [2] 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—GJB2 235del C 和线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变筛查报告[J]. 中华耳科学杂志, 2006, 4(1): 1-5. 3.
- [3] 袁永一. 中国人重度—极重度耳聋分子流行病学及致病机制研究. 中国人民解放军军医进修学院, 2007.
- [4] Gardner P, Oitmaa E, Messner A, et al. Simultaneous multigene mutation detection in patients with sensorineural hearing loss through a novel diagnostic microarray: a new ap-

proach for newborn screening follow-up [J]. Pediatrics, 2006, 118(3): 985-994.

[5] Siemering K, Manji SS, Hutchison W, et al. Detection of mutations in genes associated with hearing loss using a microarray based approach[J]. J Mol Diagn, 2006, 8(4): 483-489.

[6] Hilgert N, Smith RJ, Van Camp G. Function and expression pattern of nonsyndromic deafness genes[J]. Curr Mol Med, 2009, 9(5):546-564.

[7] Ouyang XM, Yan D, Yuan HJ, et al. The genetic bases for non-syndromic hearing loss among Chinese. J Hum Genet, 2009, 54(3):131-140.

[8] 李琦,方如平,黄德亮,等. 新疆地区汉族和维吾尔族耳聋基因突变的比较研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 24(1): 11-15.

[9] 张华,刘宇清,王幼勤,等. 遗传性耳聋基因芯片检测及其临床意义[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 23(22): 1032-1035

[10] 韩冰,戴朴,王国建. 相同表型不同基因型耳聋夫妇家庭的遗传咨询与指导[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 7, 42(7): 499-503.

[11] 黄莎莎,王国建. 43 例耳聋家庭再生育前的遗传分析与指导[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 11, 46(11):909-913.

(收稿日期:2015-05-21)

编辑:刘邓浩

读者 · 作者 · 编者

本刊对参考文献格式的要求

参考文献按 GB771487《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依参考文献在正文中首次出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号以角码注明,并按引用先后顺序排列于文末,一般不超过 15 篇。

各条项目之间的符号(“,”和“.”等)必须按要求使用(见下面的例子),三个以上作者保留 3 位再加“,”等”(中文文献)或“,” et al”(英文文献);

期刊文献的格式举例:

[1] Brantigan JW, Cunningham BW, Warden K, et al. Compression strength of donor bone for posterior lumbar fusion[J]. Spine, 1993, 18: 1213-1221.

[2] 张喆人,蔡春林,叶圣诞,等. 110 例 75 岁以上老年人老年腹部手术的临床分析[J]. 中华老年医学杂志, 1995, 14: 336-338.

注:页码之间连接用“-”(半字线),不能用“~”;起止页码注写完整,不能用“1213-21”的形式;题目后加“[J]”表示来源于期刊文献,注意各条项目之间的标点符号书写正确。

专著文献的格式举例:

[1] Khan MG. Cardiac drug therapy[M]. 4th ed. London: WB Saunders Company, 1995.

[2] 罗瑞德. 传染病讲座[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002. 25-27.

注:需加出版地项目,二版和二版以上加版次,页码之间连接用“-”(半字线),不能用“~”;起止页码注写完整,不能用“1213-21”的形式,如参考全书可不加页码项目;题目后加“[M]”表示来源于专著文献,注意各条项目之间的标点符号书写正确。

中国产前诊断杂志(电子版)编辑部