

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01406

人工耳蜗植入聋儿术前基因检测及家系分析

张初琴¹, 陈波蓓¹, 黄加云¹, 孙冬梅², 陈迎迎¹, 项松洁¹, 管敏鑫^{2,3,4}

1. 温州医学院附属二院&附属育英儿童医院耳鼻喉科, 温州 325027;

2. 温州医学院浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325027;

3. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA;

4. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio 45229, USA

摘要: 国内外研究表明 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)的病理性突变导致了大部分的遗传性聋。文章收集了 2006 年 4 月~2007 年 9 月接受人工耳蜗(Cochlear implant, CI)植入的 14 例患儿及其父母的外周血,应用基因诊断方法进行 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和 mtDNA 1555 位点突变检测。结果显示, 35.7%的患儿检测到致病突变,其中 28.6%为 *GJB2* 基因突变,类型均为 235delC 纯和突变,其父母为携带 *GJB2* 235delC 的杂和子;7.1%为 mtDNA A1555G 突变,其母亲亦携带 mtDNA A1555G 突变。这表明 CI 植入聋儿最常见的基因突变是 *GJB2* 235delC 突变,其次是 mtDNA A1555G 突变,通过对耳聋家系常见致病基因的检测和家系分析,可以对优生优育及减少耳聋发病率提供科学准确的遗传信息。

关键词: 耳聋; 基因; 人工耳蜗植入; 突变检测; *GJB2*; 线粒体 DNA

Genetic analysis of family constellation for cochlear implant recipients

ZHANG Chu-Qin¹, CHEN Bo-Bei¹, HUANG Jia-Yun¹, SUN Dong-Mei², CHEN Ying-Ying¹, XIANG Song-Jie¹, GUAN Min-Xin^{2,3,4}

1. Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;

2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;

3. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA;

4. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio 45229, USA

Abstract: *GJB2*, *SLC26A4* (PDS) and mitochondrial DNA (mtDNA) have been associated with sensorineural hearing loss. In the present study, the clinical, genetic and molecular analysis of 14 cochlear implant recipients and their parents was studied from April 2006 to September 2007. Of the 14 subjects, 35.7% had gene mutations; 28.6% had homozygous *GJB2* 235delC mutation, whose parents carried heterozygous *GJB2* 235delC mutation; and 7.1% had mtDNA A1555G mutation, whose mother carried mtDNA A1555G mutation too. There was no *SLC26A4* (PDS) mutation. These results strongly sug-

收稿日期: 2008-03-06; 修回日期: 2008-06-06

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2004CCA02200), 浙江省卫生厅课题(编号: 2006A100), 浙江省科技厅钱江人才优先资助项目(编号: 2007G50G2090026)和浙江省重大科技专项社会发展项目(编号: 2007C13021)资助[Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2004CCA02200), Ministry of Public Health of Zhejiang Province (No. 2006A100), Ministry of Science and Technology of Zhejiang Province (No. 2007G50G2090026) and Science and Technology Priorities Project in Social Development of Zhejiang Province (No. 2007C13021)]

作者简介: 张初琴(1982-),女,浙江金华人,硕士,专业方向: 耳鼻咽喉科学。E-mail: zhangchuqin0579@163.com

通讯作者: 陈波蓓(1962-),女,浙江台州人,教授,硕士生导师,研究方向: 儿童喉乳头状瘤和耳聋基因诊断学。E-mail: wzbobei@126.com

gested that the mutation in GJB2 gene was a major cause of deafness in cochlear implant recipients and the mutation of mtDNA A1555G was another important cause. Genetic test of hot-spots and analysis of family constellation can offer an accurate genetic counseling to deaf family and reduce the incidence of hearing loss.

Keywords: hearing loss; genes; cochlear implants; mutation; *GJB2*; mitochondrial DNA

重度耳聋在新生儿中的发生率高达 1/800~1/1000^[1]，其中一半以上与遗传因素有关，或基因缺陷和多态性造成患者对致聋因素易感而致病。经聋病分子流行病学调查数据显示，我国非综合征性耳聋(Non-syndromic hearing impairment, NSHI)由 *GJB2* 基因突变导致的发病率最高，儿童语前聋的 26%~33% 为 *GJB2* 基因突变所致，其突变的主要方式为 233-235delC。其次，由于氨基糖苷类抗生素(Aminoglycoside antibiotics, AmAn)在我国广泛使用，药物性耳聋的患者在耳聋人群中占有较高的比例，而其中部分患者对 AmAn 有易感性，即应用正常剂量或微量的药物就可以造成患者听力损失，这种易感性通常是母系遗传的，与 mtDNA A1555G 突变有关^[2-4]。再次，前庭导水管综合征也是我国导致感音神经性耳聋的另一主要原因，约 10% 的 NSHI 与之相关，现已证实 *SLC26A4* 基因突变是明确的致病因素。本文应用基因诊断技术为 14 例接受人工耳蜗(Cochlear implant, CI)植入术的患儿及其父母进行 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和 mtDNA A1555G 突变检测，根据检测结果，不仅可以明确病因，还可以通过分析家系和耳聋遗传模式，对

其提供了后代发病的风险估计和遗传指导。

1 对象和方法

1.1 对象

2006 年 4 月~2007 年 9 月在温州地区接受 CI 植入的患儿 14 例，年龄 1.7~13 岁，平均年龄 4.3 岁，其中男性 10 例，女性 4 例。听力评估显示患儿均为双耳对称性、极重度感音神经性耳聋，病史中未发现病毒或细菌感染、创伤等环境致聋因素。术前行颞骨薄层 CT 扫描及 MRI 耳蜗水成像，结果提示 1 例(2 耳)耳蜗仅发育 1.5 周，未发现其他异常。本组病人具体资料见表 1。所有受试者的监护人均被告知研究可能带来的风险并签署知情同意书。

1.2 基因检测方法

对 14 例患者及其 26 例父母取外周血 2 mL，进行 DNA 提取，经 PCR 扩增，将产物纯化后，用直接测序法进行 mtDNA A1555G 的检测，方法详见文献[5]。*GJB2*、*SLC26A4*(PDS)基因全序列检测方法详见文献[6]。

表 1 病例资料
Table 1 Information of subjects

编号 No.	性别 Gender	年龄(年) Age(Year)	病史(年) Patient history (Year)	药物史 Expose to AmAn	家族史 Family history	突变基因 Gene mutations
WZ01	女 Female	2.8	2.5	—	—	—
WZ02	男 Male	8.0	6.5	是 Yes	有 Yes	A1555G
WZ03	女 Female	3.6	1.6	—	有 Yes	GJB2
WZ04	女 Female	4.1	3.0	—	不祥 Unknown	GJB2
WZ05	男 Male	6.8	5.8	—	—	—
WZ06	男 Male	4.3	3.3	—	—	—
WZ07	男 Male	13.0	12.0	—	—	—
WZ08	男 Male	1.7	1.0	是 Yes	—	—
WZ09	男 Male	3.0	2.7	—	—	—
WZ10	男 Male	2.9	1.0	—	有 Yes	GJB2
WZ11	女 Female	3.8	2.7	—	有 Yes	—
WZ12	男 Male	2.4	2.3	—	—	—
WZ13	男 Male	2.6	2.1	—	—	—
WZ14	男 Male	1.9	1.8	—	—	GJB2

2 结果与分析

本研究中, 5 例 CI 植入患儿检测到致聋基因突变, 突变率为 35.7%, 其中 4 例患儿(28.6%)为 *GJB2* 基因突变, 类型均为 235delC 纯和突变, 因 WZ04 是被领养儿, 父母不祥, 其余患儿父母均为携带 *GJB2* 235delC 的杂和子, 1 例(7.1%)为 mtDNA A1555G 突变, 其母亲为携带 A1555G 突变的听力正常者。未检测到 *SLC26A4* 突变。2 例有明确 AmAn 使用史的患儿中检出 1 例 mtDNA A1555G 突变, 检出率为 50%。4 例有家族史的患儿中检出 3 例有明确的致病突变, 检出率为 75%。我们对基因突变检测阳性的患者进行家系分析和遗传咨询, 具体如下:

对 mtDNA A1555G 突变的 WZ02 进行家系访问(图 1, A), 先证者₆ 1 岁时因腹泻在当地诊所使用丁胺卡那, 剂量及使用途径不详, 治疗后渐进性听力减退。其舅₂ 重度耳聋, 以高频为主; 其母₇ 和阿姨_{4、9}, 测听示高频下降。取先证者父母行 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和 mtDNA A1555G 突变检测,

结果显示其母₇ 携带 mtDNA A1555G 突变, 其父₆ 未携带 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和 mtDNA A1555G 突变。根据基因检测的结果, 我们可以认为该家族的耳聋与 mtDNA A1555G 突变有关。由于该突变遵循母系遗传模式, 仅通过家族中女性成员向下传递。先证者₆ 是男性, 不管与谁婚配均不会把 mtDNA A1555G 突变遗传给后代。先证者父母再孕育小孩, 将 100% 携带 mtDNA A1555G 突变基因, 但可因避免使用 AmAn 而免于发病。

对 *GJB2* 基因突变的 WZ03、WZ04、WZ10、WZ14 进行家系访问, 先证者为无环境致聋因素的先天性聋, 因 WZ04 是被领养儿, WZ03、WZ10、WZ14 家系中先证者的父母均是听力正常的个体, 对其进行 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS)和 mtDNA A1555G 突变检测, 结果显示他们均携带 *GJB2* 235delC 突变的杂和子。根据基因检测的结果, 结合家系图(图 1B 和 C, WZ14 否认耳聋家族史, 无法追溯其家系情况), 我们可以推测 WZ03 家系中先证者父亲₁₆ 的 *GJB2* 235delC 突变基因从₃ 中遗传获得; WZ10 家

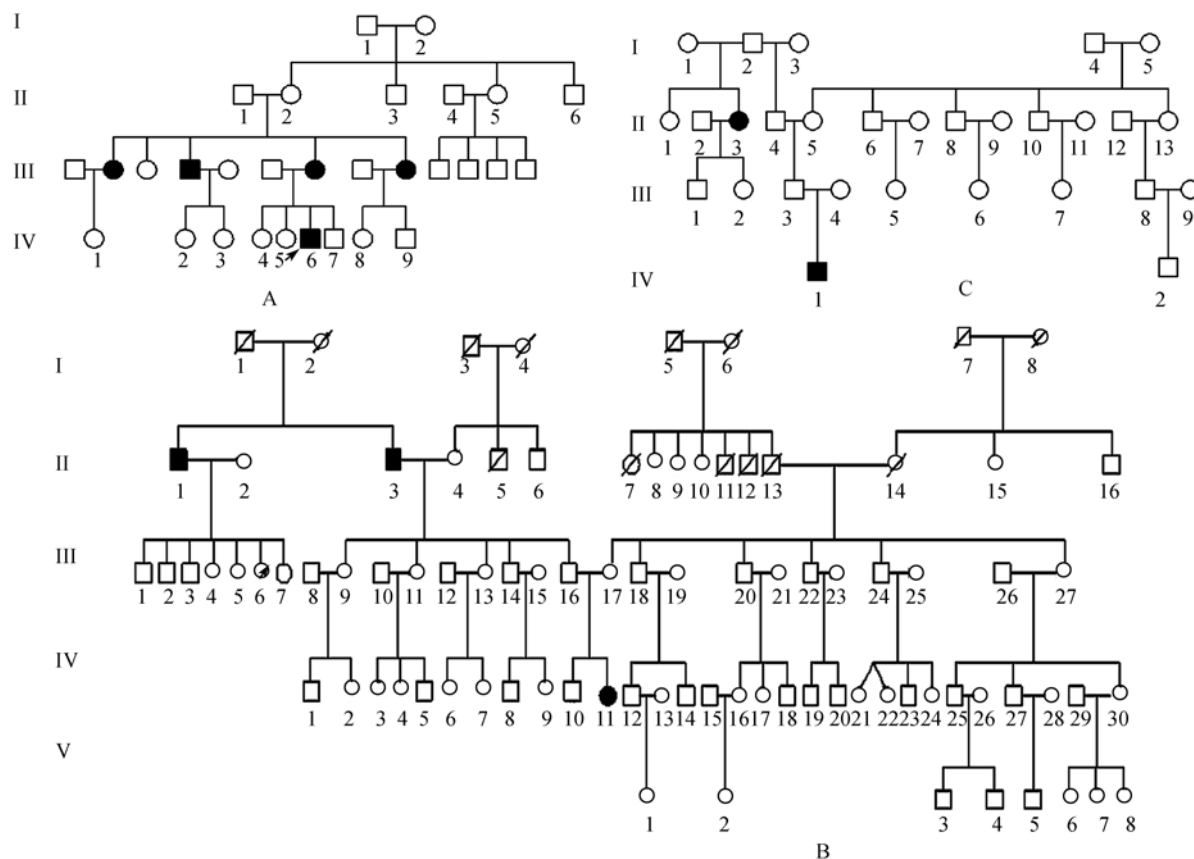


图 1 聋病家系图

A: WZ02 家系图; B: WZ03 家系图; C: WZ10 家系图。黑色符号表示听力下降者; 箭头所指为先证者。

Fig. 1 Pedigree of the family with hearing loss

A: Pedigree of the WZ02 family; B: Pedigree of the WZ03 family; C: Pedigree of the WZ10 family. Hearing impaired individuals are indicated by filled symbols; Arrowhead denotes the proband.

系中先证者父亲₃ *GJB2* 235delC 突变基因从₄和₂ 经隐性遗传而获得。所有的先证者为 *GJB2* 235delC 纯和突变, 将 100% 把 *GJB2* 235delC 突变基因遗传给后代。与 *GJB2* 235delC 纯和突变的耳聋患者婚配, 其后代将 100% 复制其听力机构; 与 *GJB2* 235delC 杂和突变的听力正常者婚配, 其后代有 50% 的可能性为耳聋患者, 50% 为携带 *GJB2* 235delC 突变基因的听力正常者。先证者的父母再孕育聋儿的风险为 25%, 携带 *GJB2* 235delC 突变基因的听力正常者为 50%, 无致病突变的为 25%。家系成员可在婚前或怀孕后进行遗传咨询和产前诊断, 明确基因型, 避免聋儿的产生, 实现优生优育。

3 讨论

人工耳蜗植入术是一种能够帮助双耳重度与极重度感音神经性聋患者获得听觉的最有效的途径, 在术前有良好血液生化检查、影像学检查和听力学评估, 但基于这些检查的非特异性, 及其人类耳蜗结构的复杂性和耳聋表型的均一性, 临床医生不能准确向患儿父母解释耳聋病因, 也不能满足他们希望了解再孕育聋儿的风险及患儿后代听力状况的要求。近年来随着聋病遗传学的进步, 以及分子遗传学技术在耳聋病因学中的广泛应用, 耳聋基因研究和临床诊断技术成为耳聋病因学分析的有力工具。现已有与 NSHI 相关的 100 多个位点、40 多个基因被定位或克隆^[7]。

大量的研究表明, *GJB2*、*SLC26A4*(PDS) 和 mtDNA 的病理性突变导致了大部分的遗传性聋。在中国 13 个省份聋校中的 1 680 例 NSHI 病例中, 检出 8.81% 为 *GJB2* 235delC 纯和突变, 9.35% 为杂和突变^[8], 陈东野等^[9]在 115 例接受 CI 植入术的患儿中检出 36.5% 的 *GJB2* 基因突变。本组中 *GJB2* 基因突变的检出率为 28.6%, 均为 235delC 纯和突变。AmAn 易感基因 mtDNA A1555G 突变, Li 等^[5]在药物性耳聋和 NSHI 中检出率分别是 13% 和 2.9%; 刘新等人^[10]对 1 836 例 NSHI 检出 63 例存在 mtDNA A1555G 突变, 突变率 3.43%。本组中 CI 植入患儿 mtDNA A1555G 突变检出率为 7.1%, 总检出率为 5%。至于 *SLC26A4* 基因突变, 仅在赤峰地区就发现 12.8% 的耳聋患者携带 *SLC26A4* 基因 *IVS7-2* A > G 突变并同时被影像学证实为前庭导水管综合征^[11], 另外冯永等^[12]在 5 例伴有前庭导水管综合征的常染色体隐性遗传性耳聋家系发现 2 例 *SLC26A4* 基因突变。本组研究基因检测并未检测到 *SLC26A4* 基因

突变。

通过对常见耳聋致病基因 *GJB2*、*SLC26A4*(PDS) 和 mtDNA A1555G 突变的检测, 可以为我国绝大多数遗传性耳聋患者确定病因, 并为其家庭的遗传咨询和产前诊断提供了重要的信息。虽然患儿耳聋表型相同, 且父母一般听力正常, 但遗传咨询和产前诊断的内容应根据基因突变的不同而有所差异。

本文中 CI 植入患儿最常见的基因突变是 *GJB2* 235delC 突变, 其次是 mtDNA A1555G 突变, 其致病突变从携带基因突变的父母遗传而来, 其家族后代发病存在一定的风险。在给耳聋患儿提供最佳的康复治疗的同时, 对其家庭进行最优的遗传咨询和预警防御策略来降低耳聋的总体发病率。另外, *GJB2* 突变导致的耳聋提示患者具备正常数量的螺旋神经节细胞经听觉传导通路, 因此是人工耳蜗的理想候选者^[13]; *SLC26A4*(PDS) 检测在诊断大前庭导水管综合征上优于颞骨 CT, 提示手术时应注意处理“脑脊液并喷”^[14]。通过术前基因检测, 对 CI 植入有一定的指导意义。至于不同的致病突变对 CI 术后疗效的影响, 还有待进一步的研究。

参考文献(References):

- [1] Van Camp G, Willems PJ, Smith RJ. Nonsyndromic hearing impairment: unparalleled heterogeneity. *Am J Hum Genet*, 1997, 60(4): 758–764.
- [2] Guan MX, Fischel-Ghodsian N, Attardi G. Nuclear background determines biochemical phenotype in the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(6): 573–580. [\[DOI\]](#)
- [3] Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M, Iwasaki S, Hoshino T, Ito J, Doi K, Kubo T, Nakagawa T, Komiyama S, Tono T, Komune S. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet*, 2000, 37(1): 38–40. [\[DOI\]](#)
- [4] Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, Arnos KS, Cortopassi GA, Jaber L, Rotter JL. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet*, 1993, 4: 289–294. [\[DOI\]](#)
- [5] Li Z, Li R, Chen J, Liao Z, Zhu Y, Qian Y, Xiong S, Herman-Ackah S, Wu J, Choo DI, Guan MX. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Hum Genet*, 2005, 117(1): 9–15. [\[DOI\]](#)
- [6] DAI Pu, YU Fei, KANG Dong-Yang, ZHANG Xin, LIU Xin, MI Wen-Zong, CAO Ju-Yang, YUAN Hui-Jun, YANG Wei-Yan, WU Bai-Lin, HAN Dong-Yi. Diagnostic methods and clinic application for mtDNA A1555G and

- GJB2 and SLC26A4 genes in deaf patients. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2005, 40(17): 769-773.
- 戴朴, 于飞, 康东洋, 张昕, 刘新, 米文宗, 曹菊阳, 袁慧军, 杨伟炎, 吴柏林, 韩东一. 线粒体 DNA 1555 位点和 GJB2 基因及 SLC26A4 基因的诊断及临床应用. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2005, 40(17): 769-773.
- [7] Van Camp G, Smith R. The hereditary hearing loss homepage[EB/OL][2006-02-16]. <http://webhost.ua.ac.be/hhh/>.
- [8] DAI Pu, LIU Xin, YU Fei, ZHU Qing-Wen, YUAN Yong-Yi, YANG Shu-Zhi, SUN Qing, YUAN Hui-Jun, YANG Wei-Yan, HUANG De-Liang, HAN Dong-Yi. Molecular etiology of patients with nonsyndromic hearing loss from deaf-mute schools in 18 provinces of China. *Chinese Journal of Otolaryngology*, 2006, 4(1): 1-5.
- 戴朴, 刘新, 于飞, 朱庆文, 袁永一, 杨淑芝, 孙勃, 袁慧军, 杨伟炎, 黄德亮, 韩东一. 18 个省市聋校学生非综合征型聋病分子流行病学研究()-GJB2 235delC 和线粒体 DNA 12SrRNA A1555G 突变筛查报告. *中华耳科学杂志*, 2006, 4(1): 1-5.
- [9] CHEN Dong-Ye, CHEN Xiao-Wei, CAO Ke-Li, JIN Xin, ZUO Jin, WEI Chao-Gang, FANG Fu-De. High prevalence of connexin.26 (GJB2) mutation in cochlear implant recipients. *National Medical Journal of China*, 2006, 86(44): 3114-3117.
- 陈东野, 陈晓巍, 曹克利, 金昕, 左瑾, 魏朝刚, 方福德. 人工耳蜗植入者连接蛋白 26 基因(GJB2)突变分析. *中华医学杂志*, 2006, 86(44): 3114-3117.
- [10] LIU Xin, DAI Pu, HUANG De-Liang, YUAN Hui-Jun, LI Wei-Min, CAO Ju-Yang, YU Fei, ZHANG Rui-Ning, LIN Hong-Yan, ZHU Xiu-Hui, HE Yong, YU You-Jun, YAO Kun. Large-scale screening of mtDNA A1555G mutation in China and its significance in prevention of aminoglycoside antibiotic induced deafness. *National Medical Journal of China*, 2006, 86(19): 1318-1322.
- 刘新, 戴朴, 黄德亮, 袁慧军, 李为民, 曹菊阳, 于飞, 张锐宁, 林红艳, 朱秀辉, 何勇, 虞幼军, 姚昆. 线粒体 DNA A1555G 突变大规模筛查及其预防意义探讨. *中华医学杂志*, 2006, 86(19): 1318-1322.
- [11] DAI Pu, ZHU Xiu-Hui, YUAN Yong-Yi, ZHU Qing-Wen, TENG Guo-Chun, ZHANG Xin, LIU Li-Xian, WANG Jia-Ling, FENG Bo, ZHAI Suo-Qiang, KANG Dong-Yang, LIU Xin, HUANG De-Liang. Patients suffered from enlarged vestibular aqueduct syndrome in Chifeng deaf and dumb school detected by Pendred's syndrome gene hot spot mutation screening. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2006, 7(41): 497-500.
- 戴朴, 朱秀辉, 袁永一, 朱庆文, 滕国春, 张昕, 刘丽贤, 王嘉陵, 冯勃, 翟所强, 康东洋, 刘新, 黄德亮. Pendred 综合征基因热点突变筛查赤峰市聋哑学校大前庭水管综合征患者. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2006, 7(41): 497-500.
- [12] FENG Yong, HU Jie, XIA Kun, HE Chu-Feng, HU Hao, MEI Ling-Yun, HE Ding-Hua, LIU Zheng-Zheng, CHEN Hong-Sheng. Cochlear implantation for patients with enlarged vestibular aqueduct (EVA) and mutation detection for SLC26A4 gene. *Chinese Journal of Otolaryngology*, 2007, 5(1): 14-17.
- 冯永, 胡杰, 夏昆, 贺楚峰, 胡浩, 梅凌云, 贺定华, 刘铮铮, 陈红胜. 前庭水管扩大患者人工耳蜗植入及 SLC26A4 基因的突变分析. *中华耳科学杂志*, 2007, 5(1): 14-17.
- [13] Matsushiro N, Doi K, Fuse Y, Nagai K, Yamamoto K, Iwaki T, Kawashima T, Sawada A, Hibino H, Kubo T. Successful cochlear implantation in prelingual profound deafness resulting from the common 233delC mutation of the GJB2 gene in the Japanese. *Laryngoscope*, 2002, 112(2): 255-261. [DOI](#)
- [14] DAI Pu, HUANG De-Liang, WANG Jia-Ling, FENG Bo, ZHAI Suo-Qiang, KANG Dong-Yang, ZHANG Xin, LIU Xin, CAO Ju-Yang, LI Mei, LIU Li-Xian, YUAN Hui-Jun. Genetic testing of PDS gene-alternative diagnostic method for dilated vestibular aqueduct syndrome. *Chinese Journal of Otolaryngology*, 2005, 3(4): 241-244.
- 戴朴, 黄德亮, 王嘉陵, 冯勃, 翟所强, 康东洋, 张昕, 刘新, 曹菊阳, 李梅, 刘丽贤, 袁慧军. PDS 基因检测—诊断大前庭水管综合征的新方法. *中华耳科学杂志*, 2005, 3(4): 241-244.

•遗传咨询•

血小板无力症的产前诊断

问: 我儿子是血小板无力症患者, 今年 4 岁。之前我还有过一个女孩, 2 岁时因大出血夭折, 我和爱人家里没有人得过这种病, 我俩到某医院做染色体检查也未见异常。请问我俩还可以再生育下一个小孩吗? 是否可以做产前诊断?

答: 血小板无力症是由于血小板膜糖蛋白 b β /a(GP b β /a)基因缺陷导致 GP b β /a 表达量减少或结构异常引起的一种常染色体隐性遗传性出血性疾病, 再生育同样患者的机会是 1/4。通过对 GP b β 或 GP a 基因检查可以确定你俩夫妇是否各携带一个致病基因, 怀孕后再通过产前基因诊断判别是否属于患胎。

(中国科学院遗传与发育生物学研究所 李巍)