

## 耳聋基因诊断

姜 鸿，陈晓巍

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院耳鼻咽喉科，北京 100730

通信作者：陈晓巍 电话：010-69156312，E-mail：chenxw\_pumch@yahoo.com.cn

【关键词】耳聋；基因；诊断

【中图分类号】R764.04

【文献标志码】A

【文章编号】1674-9081(2012)02-0134-04

DOI: 10.3969/j.issn.1674-9081.2012.02.002

聋病是造成人类残疾和影响人类健康的常见疾病，也是临幊上最幊见的遗传性疾病之一。据统计，全世界新生儿中出现双侧听力损失 $\geq 40$  dB的永久性感音神经性聋为1/500；到青春期，这一比例上升至3.5/1000<sup>[1]</sup>。2006年，我国第二次残疾人抽样调查数据显示，中国听力语言残疾人2780万人，占全国现有残疾人总数的34%，其中单纯听力残疾2004万人，听力残疾现残率约为2.11%；7岁以下聋儿约74万人，并以每年2~3万的速度在增长<sup>[2]</sup>。此外，在大量迟发性听力下降患者中，许多患者因自身基因缺陷而致病，或因基因缺陷和多态性造成对环境因素的易感性增加而致病。

### 遗传性耳聋概况

目前，已有数百种遗传性耳聋综合征见诸报道，遗传性耳聋绝大多数为异质性较强的单基因遗传病，只有30%的遗传性耳聋属于遗传性综合征耳聋，绝大部分遗传性耳聋被定义为非综合征性耳聋。根据遗传方式，非综合征性耳聋又分为常染色体隐性遗传（DFNB，占75%~85%）、常染色体显性遗传（DFNA，占15%~24%）、X连锁遗传（DFNX）、自身免疫性听神经病（AUNA）、修饰基因位点（DFNM，占1%）、Y连锁遗传及线粒体遗传（DFNY，占1%~2%）。一般情况下，常染色体隐性遗传性耳聋多表现为语前或先天性聋，常染色体显性遗传性耳聋多表现为语后聋或渐进性听力下降。较为常见的综合征性耳聋根据其伴随症状分为：（1）伴外耳畸形的遗传性听力损失，包括Treacher Collins

综合征（下颌面骨发育不全），Nager肢端-面骨发育不全综合征（轴前性肢端-面骨发育不全综合征），Goldenhar综合征（眼、耳、脊柱发育不良综合征），Miller综合征（轴后性肢端-面骨发育不全、杯状耳、传导性听力损失），BOR综合征（腮耳肾综合征），Levy-Hollister综合征（杯状耳，泪道、齿畸形，混合性听力损失），Townes-Brocks综合征（招风耳、肛门闭锁、三指骨拇指和感音神经性耳聋），Rasmussen综合征（耳道闭锁、垂直距骨、传导性聋），髓耳综合征（身材矮小、髓关节脱臼、耳畸形、传导性聋）等；（2）伴眼部疾病的遗传性听力损失，包括Usher综合征（色素性视网膜炎、前庭反应消失、感音神经性耳聋），Alstrom综合征（色素性视网膜病、糖尿病、肥胖、感音神经性耳聋），杨氏综合征（色素性视网膜炎、眼球震颤、偏瘫性偏头痛、感音神经性耳聋），Mohr-Tranebjærg综合征（伴X染色体连锁的视神经萎缩、痉挛性截瘫、张力障碍、听神经病）等；（3）伴肾病的遗传性听力损失，包括Alport综合征（伴肾炎的感音神经性耳聋）等；（4）伴皮肤疾病的遗传性听力损失，包括Waardenburg综合征，Woolf综合征（花斑病、感音神经性耳聋）等。

### 耳聋基因研究现状

2002年耗资20亿美元的人类基因组计划（Human Genome Project，HGP）完成了99%人类基因组测序，由此进入了基因相互作用和功能研究的后基因组时代。近10年来，随着分子生物学、分子遗传

学的迅猛发展，人类耳聋基因定位克隆及分子流行病学高密度遗传标记的应用有了进一步发展，遗传性耳聋基因研究取得显著成果。至 2011 年 12 月，非综合征性遗传性耳聋共定位了 167 个座位(<http://webh01.ua.ac.be/hhh/>)，其中常染色体显性遗传基因座位 64 个，常染色体隐性遗传基因座位 95 个，X 连锁座位 5 个，修饰基因座位 2 个，Y 连锁座位 1 个。在新定位的耳聋基因座位中，通过对国家系的研究，国内学者发现和命名的新耳聋基因有 9 个，分别是 DFNA2B、DFNA39、DFNA52、DFNA55、DFNA56、DFNA61、DFNA64、DFNY1 和 AUNX1，占全部基因座位的 5.3%。根据耳聋基因编码蛋白功能可分为以下几类：参与毛细胞纤毛束骨架形成的基因 (DIAPH1、ESPN、ACTG1、CCDC50、PCDH15、TRIOBP)、参与维持离子平衡的基因 (GJB3、KCNQ4、GJB2、GJB6、WFS1、CRYM、SLC26A4、CLDN14、TRIC)、细胞外基质蛋白 (TECTA、COCHT、STRC、DFNB22、COL11A2)、转录因子 (EYA4、POU4F3、TFCP2L3、RDX、ESRRB、POU3F4)、毛细胞纤毛束动力蛋白 (MYH9、MYO6、MYO7A、MYO15A、MYO3A)、紧密连接蛋白 (TJP2)、听神经突触递质胞吐作用、毛细胞毛束黏附蛋白 (CDH23、TMHS)、纤毛束鹰架蛋白 (USH1C、WHRN)、旁分泌介质 (HGF)、毛细胞和神经元间信号传递 (PJKV)、外毛细胞动力分子 (SLC26A5)、跨膜转移酶 (LRTOMT)、修复氧化损伤蛋白 (MSRB3)、G 蛋白信号调制器 (GIPC3) 和免疫球蛋白样感受器 (ILDR1)。

在非综合征性耳聋中，GJB2、SLC26A4 和线粒体 DNA 是我国最常见的致病基因。GJB2 基因编码连接蛋白 (connexin 26)，参与细胞间信号介导和离子传递，突变的 GJB2 基因可能导致连接蛋白异常，进而影响细胞间隙的连接功能，引起内耳钾离子回收障碍而致耳聋<sup>[3]</sup>。GJB2 基因突变与非综合征性遗传性耳聋密切相关，包括常染色体显性遗传性聋 DFNA3 和常染色体隐性遗传性聋 DFNB1。在中国人群中，26%~33% 的语前聋患儿为 GJB2 基因突变所致，占常染色体隐性遗传性耳聋的 28%，其突变的主要方式为 c.235delC，检出率约为 13.6%~21.5%。GJB2 基因突变还可导致非综合征性常染色体显性遗传性耳聋，最常见的遗传突变有 W44C、W44S、R143Q、D179N、R184Q 和 C202F。此外，GJB2 基因突变还可以导致综合征性耳聋 (耳聋伴掌跖角化病)，相关突变主要有 G59A、R75W 和 R75Q<sup>[4]</sup>。

SLC26A4 基因突变与大前庭水管综合征/Mondini 畸形和 Pendred 综合征 (前庭水管扩大或伴 Mondini 畸形、神经性聋和甲状腺肿) 有着密切关系。SLC26A4 基因编码 Pendred 蛋白。Pendred 蛋白主要由疏水性氨基酸组成，其功能主要参与碘/氯离子的转运。在内耳中，Pendred 蛋白表达于内淋巴管和内淋巴囊上皮细胞及椭圆囊和球囊边缘的神经细胞中。Pendred 蛋白发生异常即可影响细胞内外阴离子的转运，从而影响声音传递而导致听力损失。在中国大陆，大前庭水管患者 SLC26A4 基因突变检出率为 97.9%，高于韩国 (78%)、日本 (92%) 和欧洲 (40%)<sup>[5-7]</sup>。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是唯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，具有自我复制、转录和编码功能，但同时也受核 DNA 的调控。mtDNA 突变与遗传性耳聋有着密切关系。耳毒性药物，如氨基糖苷类抗生素的使用可造成耳聋，对氨基糖苷类药物有易感性的人群，使用正常剂量甚至微量该类药物即可造成听力损失。mtDNA 突变导致的遗传性耳聋可表现为儿童期感音神经性耳聋，也可表现为药物引起的感音神经性耳聋和非药物诱发的迟发性感音神经性耳聋。流行病学调查表明，我国人群 mtDNA 12S rRNA 基因上存在的两个突变位点分别是 A1555G 和 C1494T，我国人群中 mtDNA A1555G 携带率为 3.34%，mtDNA C1494T 携带率为 0.45%<sup>[8]</sup>。

## 耳聋基因诊断的临床应用

近年来，随着新的耳聋基因不断被发现和克隆，非综合征性耳聋致病基因的流行病学调查和家系大量报道，其致病机制研究成果不断涌现，耳聋遗传学检测和遗传咨询日益受到越来越广泛的重视，耳聋基因诊断开始逐步应用于临床，主要包括以下部分。

### 新生儿聋病易感基因筛查

新生儿聋病易感基因筛查指在开展新生儿听力筛查的基础上加入聋病易感基因分子筛查，在新生儿出生时或出生后 3 d 内进行新生儿脐带血或足跟血采集筛查聋病易感和常见基因。目前可用于指导临床应用的常见聋病易感基因有 mtDNA 12S rRNA 基因上的 A1555G 和 C1494T 位点突变，可指导日后避免氨基糖苷类药物服用；DFN3 基因座 POU3F4 基因突变，可提示医生注意患儿有镫并喷危险，避免实施镫骨手术；SLC26A4 基因突变，有利于明确病因，

并尽可能地防止听力进行性下降。

#### 聋病遗传咨询

聋病遗传咨询可对患遗传性耳聋患者或其亲属提出的有关遗传性耳聋病因、遗传方式、诊断、防治及预后等问题进行解释，推算患者或其亲属生育子女时再患此病的风险，并提出建议和指导，以供患者及家属决策时参考。目前，临幊上利用耳聋基因检查技术对常见致聋基因 GJB2、SLC26A4、mt-DNA 12S rRNA 基因的检测，可为我国绝大部分遗传性耳聋患者明确病因。明确诊断后的耳聋遗传咨询，可确定其遗传方式，计算再发风险，对患者及其家庭成员患病风险、携带者风险、子代再发风险做出准确评估和说明；提供可能的治疗，预防并发症，有条件时提供预防措施，并对患者及家庭成员实行长期随访。

#### 产前诊断

产前诊断又称出生前诊断或宫内诊断，是预防有严重遗传性疾病或先天性缺陷胎儿出生的一项有效且可靠的措施，是优生优育和提高我国人口质量的重要保障之一。针对耳聋基因的产前诊断是指在确定为遗传性耳聋基础上，在母亲妊娠期的一定阶段，胎儿出生前行耳聋基因检测，确定胎儿的耳聋基因型，从而做出胎儿是否为遗传性耳聋的诊断。

#### 胚胎植入前遗传学诊断

胚胎植入前遗传学诊断（preimplantation genetic diagnosis, PGD）是指在胚胎着床前即体外受精卵发育到 6~10 细胞期时，用显微活检技术分离出 1~2 个单卵裂球或获取卵母细胞的第一、二极体，通过分子遗传学技术选择无异常遗传物质携带的胚胎进行移植。此技术将胚胎活检技术和分子遗传学技术相结合，包括体外受精-胚胎移植、胚胎活检和遗传学诊断 3 个部分。PGD 可为遗传病高危夫妇提供较大的选择范围，同时将遗传性疾病阻断在胚胎发育的最早期，避免常规产前诊断可能面临的选择治疗性流产带来的巨大身心伤害，防止遗传性疾病的垂直传播，且在伦理道德上更易被接受<sup>[9]</sup>。

### 开展聋病分子遗传学研究的前景

人类基因组计划的完成促进了遗传学和耳科学的紧密联合，对遗传性耳聋的病因及分子机制探究也在不断深入。有学者预测有 400 多个耳聋基因，目前只有 70 多个基因被成功克隆，这意味着还有

80% 左右的耳聋基因尚未被发现或未被成功克隆。此外，很多成功克隆的耳聋基因的功能尚不清楚，如噪声易感基因、老年性聋、不明原因的迟发性听力损失等。

随着分子生物学和分子遗传学技术的不断发展，近年来基因芯片技术在基因诊断中已逐步得到广泛应用，其基本原理是核酸分子杂交，即采用原位合成或合成后点样方法，将大量特定基因片段或寡核苷酸片段作为探针，有序和高密度地排列同定于玻璃、硅片、凝胶或尼龙膜等载体上，产生二维 DNA 探针阵列。将样品 DNA 或 RNA 通过 PCR 扩增并进行荧光标记，然后与芯片探针按碱基配对原则进行杂交，最后通过自动化仪器检测杂交或反应信号的强度，从而得出基因表达或突变信息。由于基因芯片可以一次性对大量序列进行检测分析，因此具有高通量、并行、快速等特点，解决了传统核酸分子杂交技术操作繁杂、自动化程度低、检测序列少、效率低的缺点<sup>[10]</sup>。

下一代测序技术（next generation sequencing, NGS）已应用于临幊诊断，并日益普及。其工作原理是通过随机打断基因组 DNA 获得 DNA 文库片段，或构建控制距离分布的配对末端片段，在双链片段的两端连上接头序列，然后变性得到单链模板文库，采取桥式 PCR、微乳滴 PCR 或原位成簇克隆扩增方式，在芯片上形成 DNA 簇阵列的 DNA 簇或扩增微球，利用聚合酶或连接酶进行系列循环反应操作，通过显微设备观察并记录连续测序循环中的光学信号。按照一定的计算法将这些片段组装成更长的重叠群，其优势在于通过有序或者无序的阵列配置可以实现大规模的并行化，以提供高程度的信息密度。该测序技术和第一代测序技术（荧光标记的 Sanger 法）相比，具有省时省力、可自动化和试剂消耗小等优点。即便如此，第一代测序技术的大量临幊应用证明，其方法可靠准确，并已规模化，将继续在 PCR 产物和质粒测序、短串联重复（short tandem repeat, STR）基因分型方面发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。利用下一代测序技术，对遗传性耳聋散发患者或家系进行分析，除了能降低成本获得更为全面的数据，还将有助于发现新的耳聋基因。

随着对聋病的持续深入研究，医疗技术水平的不断革新，逐步实现从 Bench（实验台）到 Bed（病床）的转化，将进一步推动基因组医学在我国的发展，提高我国医疗卫生保健水平，提升中华民族的

人口素质。

## 参 考 文 献

[1] Morton CC , Nance WE. Newborn hearing screening—a silent revolution [J]. *N Engl J Med* , 2006 , 354: 2151-2164.

[2] 孙喜斌, 于丽玫, 曲成毅, 等. 中国听力残疾构成特点及康复对策 [J]. 中国听力语言康复科学杂志 , 2008 , 27: 21-24.

[3] Fortnum HM , Summerfield AQ , Marshall DH , et al. Prevalence of permanent childhood hearing impairment in the United Kingdom and implications for universal neonatal hearing screening: questionnaire based ascertainment study [J]. *BMJ* , 2001 , 323: 536-540.

[4] Yuan YY , Yu F , Wang GJ , et al. Prevalence of the GJB2 ivs +1G > A mutation in Chinese hearing loss patients with monoallelic pathogenic mutation in the coding region of GJB2 [J]. *J Transl Med* , 2010 , 8: 127.

[5] Wang QJ , Zhao YL , Rao SQ , et al. A distinct spectrum of SLC26A4 mutations in patients with enlarged vestibular aqueduct in China [J]. *Clin Genet* , 2007 , 72: 245-254.

[6] Choi BY , Stewart AK , Nishimura KK , et al. Efficient molecular genetic diagnosis of enlarged vestibular aqueducts in East Asians [J]. *Genet Test Mol Biomarkers* , 2009 , 13: 679-687.

[7] Albert S , Blons H , Jonard L , et al. SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations [J]. *Eur J Hum Genet* , 2006 , 14: 773-779.

[8] Zhu Y , Li Q , Chen Z , et al. Mitochondrial haplotype of 13 Chinese families may suggest multi-original evolution of mitochondrial C1494T mutation [J]. *Mitochondrion* , 2009 , 9: 418-428.

[9] Chang LJ , Chen SU , Tsai YY , et al. An update of preimplantation genetic diagnosis in gene diseases, chromosomal translocation, and aneuploidy screening [J]. *Clin Exp Reprod Med* , 2011 , 38: 126-134.

[10] 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: 61-66.

[11] 周晓光, 任鲁风, 李运涛, 等. 下一代测序技术: 技术回顾与展望 [J]. 中国科学 , 2010 , 40: 23-37.

(收稿日期: 2011-12-31)

• 医学新闻 •

## 北京协和医院两项课题分获医药卫生行业科技奖

北京协和医院感染内科李太生教授课题组的《艾滋病免疫重建及适合中国国情的艾滋病抗病毒治疗研究》项目获2011年中华预防医学会科学技术奖二等奖。

北京协和医院妇产科郎景和教授课题组的

《子宫内膜异位症发病新学说的临床实践和评价》项目获2011年中华医学科技奖三等奖。

(北京协和医院党委综合办)