

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.16.010

玉溪市某特殊教育学校 131 例青少年耳聋患者耳聋基因分析*

白雪晶,冯磊[△],徐文波,赵阳,罗风,罗旋

(昆明医科大学第六附属医院/云南省玉溪市人民医院检验科 653100)

摘要:目的 分析玉溪市某特殊学校 131 例青少年非综合性耳聋患者的常见耳聋基因突变位点,为检测和治疗耳聋提供病因学依据。方法 采用基因芯片技术检测玉溪市某聋哑学校 131 例非综合征性耳聋患者 4 个基因的 9 个位点:包括 GJB2 基因 c. 35 del G、c. 176_191 del 6、c. 235 del C、c. 299 del AT; GJB3 基因 c. 538C>T; SLC26A4 基因 c. 2168A>G、c. IVS7-2A>G; 线粒体 12SrRNA 基因的 m. 1494C>T、m. 1555A>G 位点。结果 携带遗传性耳聋相关突变基因的患者 27 例(28.3%, 27/131)。其中, GJB2 突变者 20 例,包括 c. 176_191 del 6 突变 1 例,为汉族; c. 235 del C 突变 17 例,其中 10 例为汉族, 2 例为彝族, 5 例为哈尼族; c. 299 del AT 突变 2 例,均为汉族。SLC26A4 突变者 8 例,均为汉族,包括 c. 2168A>G 突变 4 例, c. IVS7-2A>G 突变 4 例; 线粒体 12SrRNA 基因 m. 1555A>G 位点突变 2 例,均为汉族,其他民族中未发现 4 个基因 9 个位点的突变对象。结论 青少年非综合征性耳聋患者以 GJB2 基因和 SLC26A4 基因为最主要的致病基因,其中 c. 235 del C 突变为最常见突变位点,其次为 c. IVS7-2A>G 和 c. 2168A>G 突变。

关键词:非综合性耳聋; 基因突变; 基因芯片

中图分类号:R764.04

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)16-2392-03

Analysis of deafness gene in 131 deaf patients in a special education school in Yuxi*

BAI Xuejing, FENG Lei[△], XU Wenbo, ZHAO Yang, LUO Feng, LUO Xuan

(Department of Clinical Laboratory, Yuxi Municipal People's Hospital of Yunnan/

The Sixth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yuxi, Yunnan 653100, China)

Abstract: Objective To analyze the common deafness gene mutation sites in adolescent deaf patients in Yuxi, and to provide etiological basis for detecting and treating deafness. **Methods** Totally 9 loci in 4 genes of 131 patients with non-syndromic hearing loss in a deaf-mute school in Yuxi were detected by gene chip technology, including GJB2 gene c. 35 del G, c. 176_191 del 6, c. 235 del C, c. 299 del AT, as well as GJB3 gene c. 538 C>T and SLC26A4 gene c. 2168A>G, c. IVS7-2A>G; mitochondrial 12SrRNA gene m. 1494 C>T, m. 1555A>G site. **Results** Totally 27 cases (28.3%, 27/131) of patients with hereditary deafness related mutated genes were found. There were 20 cases of GJB2 mutation, including 1 case of c. 176_191 del 6 mutation, which was Han nationality. C. 235 del mutation were found in 17 cases, 10 cases of which were Han nationality, 2 cases were Yi nationality and 5 cases were Hani nationality. Two cases were c. 299 del AT mutation, both of which were Han nationality. Eight cases of SLC26 A4 mutation were all Han nationality, including 4 cases of c. 2168 A>G mutation, and 4 cases of c. IVS7-2A >G mutation. Two cases were mitochondrial gene (mtDNA) m. 1555A>G site mutation, both of were Han nationality, and no mutation objects in other ethnic groups. **Conclusion** The GJB2 gene and SLC26A4 gene are the main pathogenic genes of non-comprehensive deafness patients in Yuxi city, with c. 235 del C mutation is the most common mutation site, followed by the c. IVS7-2A>G and c. 2168 A>G mutation.

Key words: non-comprehensive deafness; gene mutation; gene chip

遗传性耳聋指由于基因和染色体异常所致的耳聋,分为综合征性耳聋和非综合征性耳聋,发病率较高,每 1 000 个新生儿当中就有 1~3 个被确诊,终生带病,严重影响了患者的生活质量^[1]。大量的流行病学调查结果显示,有 4 个基因是在中国耳聋人群中

为常见的突变基因,且所选择的 9 个突变位点占这 4 个基因突变的 80%~90%^[2-3]。其中, GJB2 基因与先天性耳聋密切相关,中国先天性耳聋患者中 20% 携带有 GJB2 基因的突变;线粒体基因突变与庆大霉素、链霉素等氨基糖苷类药物引起的药物性耳聋有密切关

* 基金项目:云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(2017FE467);云南省高层次卫生技术人才培养专项经费资助项目(D-201644)。

作者简介:白雪晶,女,在读硕士研究生,主要从事临床生化与分子生物学检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: fngj2004@163.com。

系;SLC26A4 基因突变可以导致大前庭水管肿大综合征;GJB3 基金突变被认为与高频听力下降有关^[4]。其中,GJB2 和 SLC26A4 基因突变是由常染色体隐性遗传引起的,线粒体基因突变是母系遗传,GJB3 基因突变表现为常染色体显性遗传。本研究应用遗传性耳聋基因芯片试剂盒检测玉溪市某特殊教育学校学生常见耳聋基因的突变情况,探讨基因芯片技术在非综合征性耳聋诊断中的应用,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择玉溪市某特殊教育学校的青少年非综合征性耳聋患者 131 例为研究对象,均为玉溪市常住人口。患者中,男 64 例,女 67 例;年龄 8~23 岁,中位年龄 14 岁;汉族 70 例,彝族 29 例,回族 2 例,傣族 5 例,哈尼族 20 例,蒙古族 2 例,拉祜族 2 例,基诺族 1 例。纳入标准:(1)所有研究对象均 2 代以上为玉溪市常住人口;(2)听力检测证实为重度、极重度感音神经性非综合征性耳聋。排除标准:(1)曾确诊为急、慢性化脓性中耳炎病,有中耳手术史者;(2)其他疾病史,可引起听力下降者(包括颅面部外伤、脑膜炎、迷路感染等);(3)伴有外耳、中耳畸形,引起传导性听力下降者;(4)有明确的爆震伤、噪声接触史者;(5)曾使用过大剂量的非氨基糖苷类药物史者;(6)伴有脑瘫、智力发育障碍、因全身其他疾病影响听力检测效果者;(7)综合征性耳聋患者。本研究经患者及其家属知情同意,并获得医院医学伦理学委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 病史的调查 通过家属填写聋哑患者登记表和电话家访的方式掌握患者病史,包括耳聋发病年龄、家族史、个人史(感冒发烧史、耳毒性药物使用史、头部外伤史)等情况。

1.2.2 外周血采集 由专职护士按照采血标准流程用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管采集受试者对象前臂外周血 2 mL,特殊医用冰盒保存血样。

1.2.3 基因组 DNA 提取 按照血液基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根 DP319)说明书提取血液基因组 DNA。取一定量提取的 DNA 用紫外分光光度计进行定量和纯度检测,其余置-80℃冰箱备用。

1.2.4 基因检测 采用晶芯®九项遗传性耳聋基因检测试剂盒(微阵列芯片法)[博奥生物集团有限公司,国食药监械(准)字 2013 第 3401518 号]及其配套仪器进行标本的多重聚合酶链反应(PCR)扩增、芯片杂交、洗涤及扫描,检测样本 4 个基因的 9 个常见突变位点[GJB2 基因 c. 35 del G、c. 176_191 del 6、c. 235 del C、c. 299 del AT;GJB3 基因 c. 538C>T;SLC26A4 基因 c. 2168A>G、c. IVS7-2A>G;线粒体基因(mtDNA)12SrRNA 的 m. 1494C>T、m. 1555A>G 位点],根据荧光杂交信号和耳聋基因微阵列芯片探针排布位置进行信号的读取及结果判读。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析。计数资料以百分数表示,组间比较采用 χ^2 检

验;当样本量小于 40 或理论频数小于 1 时使用 Fisher 确切概率法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因突变检测结果 131 例青少年耳聋患者中,携带遗传性耳聋相关突变基因的患者为 27 例 [28.3%(27/131)]。

2.2 患者耳聋基因突变位点、类型及突变率 在 131 例青少年耳聋患者中,GJB2 突变者 20 例 [15.5%(20/131)],包括 c. 235 del C 纯合突变 11 例(8.4%),其中 4 例为汉族,2 例为彝族,5 例为哈尼族;c. 235 del C 单杂合突变 3 例(2.3%),c. 235 del C 复合 c. 299 del AT 突变 2 例,c. 235 del C 复合 c. 176_191 del 6 突变 1 例,均为汉族;c. 176_191 del 6 突变 1 例(0.8%),c. 299 del AT 突变 2 例(7.4%),均为汉族。SLC26A4 突变者 8 例(6.1%),均为汉族,包括 c. 2168A>G 纯合突变 1 例,c. 2168A>G 单杂合突变 3 例,c. IVS7-2A>G 纯合突变 3 例,c. IVS7-2A>G 单杂合突变 1 例。mtDNA 的 m. 1555A>G 位点均质型突变 2 例(1.5%),均为汉族,其他民族中未发现 4 个基因 9 个位点的突变对象。

2.3 不同民族耳聋患者的基因突变检出率 汉族基因突变检出率为 28.6%(20/70),彝族的检出率为 6.9%(2/29),哈尼族的检出率为 25.0%(5/20),回族、傣族、蒙古族、拉祜族、基诺族均未检出基因突变。经 χ^2 检验,彝族、哈尼族与汉族耳聋基因突变检出率差异无统计学意义($P>0.05$);经四格表确切概率法检验,彝族与哈尼族耳聋基因突变检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 4 种耳聋基因的基因突变位点在玉溪各民族耳聋患者中检出情况($n=27, n$)

基因	基因型	汉族	彝族	哈尼族	合计
GJB2	c. 35 del G	0	0	0	0
	c. 176_191 del 6	1	0	0	1
	c. 235 del C	10	2	5	17
	c. 299 del AT	2	0	0	2
GJB3	c. 538C>T	0	0	0	0
	c. 2168A>G	4	0	0	4
SLC26A4	c. 2168A>G	4	0	0	4
	c. IVS7-2A>G	4	0	0	4
mtDNA	m. 1494C>T	0	0	0	0
	m. 1555A>G	2	0	0	2
合计		23	2	5	30

注:突变患者 27 例,其中 3 例为双杂合突变,分别为 c. 235 del C/c. 299 del AT 2 例,c. 235 del C/c. 176_191 del 6 1 例

3 讨论

耳聋包括常染色体显性、常染色体隐性、X 隐性或者线粒体遗传^[3-4]。非综合征性耳聋常染色体隐性遗传最常见的原因是 GJB2 基因的突变^[5-7],GJB2 的 p. V37I 变种在东亚地区具有很高的等位基因频率(最高可达 10%)^[8-10]。在许多国家已经对常染色体隐性遗传(DFNB1)位点的突变谱、基因型-表型相关性,以及 DFNB1 与耳聋的相关性进行了分析。突变谱和突变频率由于种族、地理、社会和医学因素的不同而存

在差异,遗传在发病机制中起到了重要作用。在欧洲发达国家,2/3的耳聋病例由遗传因素引起,约70%为非综合征性耳聋,约30%为综合征性耳聋^[11]。剩下的1/3病例可以归因于环境和未知的遗传因素。在东亚的一些国家大约有1/2的病例是由遗传引起的,非综合征性耳聋占到60%~70%,其余的1/2病例归因于其他环境和不能鉴别的遗传因素^[12]。

本研究通过对131例非综合耳聋患者进行GJB2(c.35 del G、c.176_191 del G、c.235 del C、c.299 del AT)、SLC26A4(c.2168A>G、c.IVS7-2A>G)、GJB3(c.538C>T)和mtDNA 12SrRNA(m.1494C>T、m.1555A>G)4个耳聋相关基因的9个致聋突变位点的检测,其中检出率最高的是GJB2基因,其次为SLC26A4基因,这符合国内文献^[3-9]报道。耳聋基因的突变具有明显的区域聚集性和民族差异性,云南是我国少数民族最多的省份,除汉族外,少数民族有25个,各民族分布呈大杂居,小聚居的特点,这为研究耳聋基因的民族差异性和区域聚集性提供了有利的条件。本研究发现,在青少年非综合征性耳聋患者中,GJB2、SLC26A4、mtDNA基因的突变率分别为15.5%、6.1%、1.5%。GJB2最常见的类型是c.235 del C突变,SLC26A4基因的c.2168A>G、c.IVS7-2A>G突变率相同。不同耳聋致病突变位点的携带率存在地区差异,各地区应根据当地人群的携带情况选择筛查位点。

综上所述,本研究采用基因芯片技术对131例青少年耳聋患者进行检测,从分子水平上为耳聋患者提供明确的分子病因学诊断,同时得出非综合性耳聋患者以GJB2基因和SLC26A4基因为最主要的致病基因。其中c.235 del C突变为最常见突变位点,其次为c.IVS7-2A>G和c.2168A>G突变。

参考文献

[1] HUANG S, HUANG B, WANG G, et al. The relationship between the p. V37I mutation in GJB2 and hearing phenotypes in Chinese individuals[J]. PLoS One, 2015, 10(6):

e0129662.

- [2] 满宝华,况雪梅,谭红丽,等.昆明地区青少年非综合征遗传性耳聋患者耳聋基因热点突变的筛查[J].临床检验杂志,2016,34(11):876-877.
- [3] 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):1-5.
- [4] 刘闽,胥亮,刘水霞,等.广西地区222例感音神经性聋患者常见耳聋基因筛查结果分析[J].听力学及言语疾病杂志,2017,25(1):5-8.
- [5] 杨雪,王幼勤,郭洪源,等.贵州省356例非综合征型聋患者常见致聋基因突变分析[J].听力学及言语疾病杂志,2017,25(1):9-13.
- [6] 郭斌,张英.青海地区先天性汉、藏、回族聋儿常见耳聋基因突变情况[J].中国高原医学与生物学杂志,2017,38(2):98-102.
- [7] 段世宏,郭玉芬,冯秀云,等.甘肃省375例非综合征型聋患者聋病易感基因突变检测分析[J].听力学及言语疾病杂志,2017,25(4):357-362.
- [8] 张怡,张蕾,张丽娜.黑龙江某聋哑学校103例耳聋患者耳聋基因分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(11):101-102.
- [9] 张华,张昊昱,张为霞,等.河北省秦皇岛市聋哑学校耳聋患者基因突变调查分析[J].中华耳科学杂志,2017,15(3):310-313.
- [10] WU C C, TSAI C H, HUNG C C, et al. Newborn genetic screening for hearing impairment: a population-based longitudinal study[J]. Genet Med, 2017, 19(1):6-12.
- [11] DE KEULENAER S, HELLEMANS J, LEFEVER S, et al. Molecular diagnostics for congenital hearing loss including 15 deafness genes using a next Generation sequencing platform[J]. BMC Med Genomics, 2012, 5:17.
- [12] HAO Y, CHEN D, ZHANG Z, et al. Successful preimplantation genetic diagnosis by targeted next-generation sequencing on an ion torrent personal genome machine platform[J]. Oncol Lett, 2018, 15(4):4296-4302.

(收稿日期:2018-01-04 修回日期:2018-02-28)

(上接第2391页)

- a nationwide, multicenter, clinic-based cross-sectional study[J]. Diabetes, 2013, 62(2):543-550.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会.中华医学会糖尿病学分会关于成人隐匿性自身免疫糖尿病(LADA)诊疗的共识[J].中国糖尿病杂志,2012,4(11):641-647.
- [5] SALVAGNO G L, SANCHIS-GOMAR F, PICANZA A, et al. Red blood cell distribution width: a simple parameter with multiple clinical applications[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2015, 52(2):86-105.
- [6] MONTAGNANA M, CERVELLIN G, MESCHI T, et al. The role of red blood cell distribution width in cardiovascular and thrombotic disorders[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(4):635-641.
- [7] HU Z, SUN Y, WANG Q, et al. Red blood cell distribu-

tion width is a potential prognostic index for liver disease[J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(7):1403-1408.

- [8] WEI T T, TANG Q Q, QIN B D, et al. Elevated red blood cell distribution width is associated with liver function tests in patients with primary hepatocellular carcinoma[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2016, 64(2):149-155.
- [9] GOLCUK Y, GOLCUK B, ELBI H. Relation between red blood cell distribution width and venous thrombosis[J]. Am J Cardio, 2016, 117(7):1196-1197.
- [10] XU L, WANG L, HUANG X W, et al. Baseline red blood cell distribution width predicts long-term glycemic remission in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 131(15):33-41.

(收稿日期:2017-11-24 修回日期:2018-01-18)