

GJB2 显性突变在中国耳聋人群中的分布及表型分析*

黄莎莎¹ 黄邦清² 袁永一² 王国建¹ 戴朴¹

[摘要] 目的:GJB2 相关性耳聋患者主要为常染色体隐性遗传,对其导致的显性突变及综合征型聋报道较少,本研究总结分析中国感音神经性聋患者中 GJB2 基因显性遗传突变情况。方法:收集解放军总医院耳鼻喉研究所聋病分子诊断中心 GJB2 基因相关耳聋患者 1 641 例,回顾性分析其 GJB2 基因突变情况,总结显性遗传突变谱,进行相关听力、皮肤等相关表型的分析。结果:1 641 例 GJB2 相关耳聋患者中 9 例为显性遗传(0.55%),其中较常见的突变为 R75W、G130V、R143Q、p.R184Q,听力表型主要为重度-极重度感音神经性聋。其中 1 例患者表现为感音神经性聋伴掌跖角化症。结论:GJB2 显性遗传在中国耳聋患者中存在一定比例,综合征型较少见,其听力表型差异较大,但主要为重度-极重度感音神经性聋。

[关键词] 耳聋;GJB2;显性遗传

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.22.005

[中图分类号] R764.43 **[文献标志码]** A

The study of GJB2 dominant mutation distribution in Chinese deafness patient and the analysis of phenotype

HUANG Shasha¹ HUANG Bangqing² YUAN Yongyi² WANG Guojian¹ DAI Pu¹

(¹Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, General Hospital of PLA, Beijing, 100853, China; ²Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Hainan Branch of PLA General Hospital)

Corresponding author: DAI Pu, E-mail: daipu301@vip.sina.com

Abstract Objective: Mutations in the GJB2 are the most common cause of nonsyndromic autosomal

* 基金项目:科技支撑计划(No:2012BAI09B00);国际自然科学基金重点项目(No:81230020);国家自然科学基金青年基金(No:81200751);博士后面上项目(No:2013M542450)

¹解放军总医院耳鼻咽喉头颈外科(北京,100853)

²解放军总医院海南分院耳鼻咽喉头颈外科

通信作者:戴朴,E-mail: daipu301@vip.sina.com

[3] 孙宝春,代志瑶,黄莎莎,等. GJB2、SLC26A4 基因致病性突变与内耳 CT 表型关系的研究[J]. 中华耳科学杂志,2014,12(1):30-33.

[4] SENNAROGLU L, SAATCI I. A new classification for cochleovestibular malformations [J]. Laryngoscope,2002,112: 2230-2241.

[5] 戴朴,于飞,康东洋,等. 线粒体 DNA 1555 位点和 GJB2 基因及 SLC26A4 基因的诊断方法及临床应用[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科学杂志,2005,40(10): 769-773.

[6] SCHUKNECHT H F. Pathology of the Ear[M]. 2nd ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993:180-181.

[7] 韩德民. 新生儿听力及耳聋基因联合筛查[J]. 中国医学文摘耳鼻咽喉科学,2012,27(6):290-292.

[8] JACKLER R K, LUXFORD W M, HOUSE W F. Congenital malformations of the inner ear;a classification based on embryogenesis[J]. Laryngoscope,1987, 97:2-14.

[9] GABRIELLI L, BONASONI M P, SANTINI D, et al. Human fetal inner ear involvement in congenital cytomegalovirus infection[J]. Acta Neuropathol Commun, 2013, 1: 2-10.

[10] KUHNEN P, TURAN S, FROHLOR S, et al. Identification of PENDRIN (SLC24A4) mutations in patients with congenital hypothyroidism and "apparent" thyroid dysgenesis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99: 169-176.

[11] KROMBACH G A, HONNEF D, WESTHOFEN M, et al. Imaging of congenital anomalies and acquired lesions of the inner ear [J]. Eur Radiol, 2008, 18: 319-330.

[12] DAI P. Molecular etiology of hearing impairment in inner mongolia: mutations in SLC26A4 gene and relevant phenotype analysis[J]. J Transl Med, 2008, 6: 74-74.

[13] 戴朴,韩东一,袁慧军,等. 基因诊断-耳科诊断领域的重大进步[J]. 中华耳科学杂志,2005, 3(1):62-64.

[14] 王秋菊. 新生儿聋病基因筛查-悄然的革命[J]. 听力学及言语疾病杂志,2008,16(2):83-84.

(收稿日期:2014-09-01)

recessive sensorineural hearing loss. A few mutations in *GJB2* have also been reported to cause dominant nonsyndromic or syndromic hearing loss. This study analysed the *GJB2* dominant mutation in Chinese deafness. **Method:** 1641 patients as *GJB2*-related hearing loss were enrolled, summarized the type of dominant mutation, analyzed the hearing level and other system lesion. **Result:** Nine probands with severe-profound hearing loss were diagnosed as *GJB2* dominant mutation (R75W, G130V, R143Q, p. R184Q). And one patient with R75W mutation was diagnosed as hearing loss and palmoplantar keratoderma. **Conclusion:** *GJB2* dominant mutation can cause severe-to-profound bilateral sensorineural hearing impairment and not common with syndromic hearing loss in Chinese deafness.

Key words hearing loss; *GJB2*; dominant inheritance

GJB2 (connexin 26) 基因 1993 年被克隆, 定位于 13q11-12, DNA 全长 4 804 bp, 编码区为 678 bp。1997 年发现 *GJB2* 基因突变与遗传性非综合征型耳聋密切相关, 已发现 *GJB2* 基因有 110 种突变方式, 包括常染色体隐性遗传性聋 DFNB1 和常染色体显性遗传性聋 DFNA3。关于 *GJB2* 显性遗传导致耳聋的报道越来越多。最为常见的可以导致非综合征型耳聋的 *GJB2* 显性遗传突变主要有 6 种: W44C^[1]、W44S^[2]、R143Q^[3-4]、D179N^[5]、R184Q^[6] 和 C202F^[7]; 与综合征型耳聋(伴掌跖角化病)有关的突变主要有 4 种: G59A^[8]、R75W^[9-10]、R75Q^[11] 和 G130V^[12]。*GJB2* 显性突变国外报道较多, 本研究通过对中国耳聋人群 *GJB2* 基因的系统分析, 总结中国感音神经性聋患者中 *GJB2* 基因显性遗传突变分布情况, 分析 *GJB2* 基因显性遗传耳聋患者的听力及相关表型。

1 资料与方法

1.1 研究对象

研究对象均为解放军总医院聋病分子诊断中心就诊的具有听力学及影像学资料或影像学报告的 1 641 例先证者, 所有患者已行常见耳聋基因 *GJB2*、*SLC26A4* 和 Mt 12S rRNA 检测。纳入标准: 经体检、专科检查及听力学检查证实的双耳感音神经性聋患者(0.5~4.0 KHz 平均听阈大于 25 dB HL), 经基因检测均确定为 *GJB2* 相关性耳聋(均为 *GJB2* 复合杂合或纯合突变)。排除标准: 颞骨 CT 或颞骨 CT 报告为大前庭水管综合征, 经基因检测为 Mt 12S rRNA C1494T 和 A1555G 阳性者; 除耳聋外还伴有其他临床症状和体征的各类综合征型遗传性聋(如 Waardenburg 综合征、Usher 综合征、21 三体综合征)以及急性或慢性中耳炎等有明确原因致聋的患者。

1.2 方法

对 1 641 例先证者 *GJB2* 突变位点进行归纳分析, 对携带显性突变的个体进行听力表型分析。耳聋分类: 语前聋(耳聋发生年龄 ≤ 1 岁), 语后聋(耳聋发生年龄 > 1 岁)。耳聋程度的判定: 分别计算双耳气导 0.5、1.0、2.0、4.0 kHz 平均阈值。听力正常, ≤ 25 dB HL; 轻度听力损失, 26~40 dB HL; 中

度听力损失, 41~70 dB HL; 重度听力损失, 71~90 dB HL; 极重度听力损失, > 90 dB HL。另外, 对受检者皮肤、毛发、甲、角膜和视力等系统进行详细的体格检查。

2 结果

1 641 例中国 *GJB2* 相关耳聋患者中有 9 例为显性突变携带者(0.55%)均为先天性重度-极重度感音神经性聋(发病年龄 < 1 岁), 但部分家族中携带同样突变的个体仅表现为轻中度感音神经性聋。其中 *GJB2* 显性突变分别为 p. R75W(c. 223C>T) 3 例; p. G130V(c. 389G>T) 1 例; p. R143Q(c. 428G>A) 3 例; 其中有 2 例患者同时合并有 299 delAT 或 235 delC 杂合突变; p. R184Q(c. 551G>A) 2 例。先证者为新生突变的家庭均行 STR 位点和 Amelogenin 位点基因分型, 证实亲子可能性大于 99.9%。见表 1。

1 例为 R75W 杂合突变的患者(CF006)自 1 岁起手足局部皮肤角化增厚、脱屑。全身体检: 双手手掌手背交界处和双足足底足背交界处皮肤角化增厚、脱屑, 足部较手部病变严重。其他系统体检未见异常, 属于综合征性聋范畴(图 1)。



图 1 耳聋患者合并足部皮肤角化

3 讨论

GJB2 基因编码的 Cx26 属于缝隙连接蛋白基因家族, 与相邻细胞的缝隙连接蛋白组成一个完整的缝隙连接通道, 这些通道在信息传导和物质交换

表 1 9 个 *GJB2* 显性耳聋患者家庭的突变和表型情况

编号	突变类型	耳聋程度	其他系统病变	家族史
CF006	223C>T 杂合	极重度	掌跖皮肤角化	无,新生突变
7984-3	223C>T 杂合	重度-极重度	无	无,新生突变
9459	223C>T 杂合	重度-极重度	无	无,新生突变
9424	389G>T 杂合	重度-极重度	无	有
9424-2	389G>T 杂合	轻中度	无	—
849	299 delAT/428G>A 复合杂合	重度-极重度	无	有
849-1	428G>A 杂合	轻中度	无	—
9483	235 delC/428G>A 复合杂合	重度-极重度	无	有
9483-1	428G>A 杂合	轻中度	无	—
4676	428G>A 杂合	重度-极重度	无	有
4676-2	428G>A 杂合	轻中度	无	—
3483	551G>A 杂合	重度-极重度	无	无,新生突变
4358	551G>A 杂合	重度-极重度	无	无,新生突变

中起重要作用,是完成电解质、第二信使和代谢产物的细胞间转换的重要通道。当毛细胞受到外界刺激后,钾离子经内耳毛细胞循环回流进入耳蜗内淋巴液,缝隙连接蛋白通道在此过程中具有调控作用,Cx26 在人类的耳蜗毛细胞中高表达,因此 *GJB2* 基因突变与耳聋密切相关。目前已检出的 *GJB2* 致病突变位点频率存在不同民族中存在很大差异,地中海国家遗传性非综合征型聋患者中较常见为 35delG 突变^[13-14],犹太人中最常见突变为 167delT 突变^[15],日本和中国人中 235delC 为最常见的突变方式^[16-17]。

关于 *GJB2* 显性遗传突变因国内外文献报道均较少,故其地区差异不明显。1998 年 Richard 等^[18] 首先报道 *GJB2* 基因 R75W 为显性突变,可以导致遗传性综合征型聋。随着检测技术的进步及对 *GJB2* 的深入认识,越来越多的显性突变被报道。迄今为止,最为常见的可以导致非综合征型聋的 *GJB2* 显性遗传突变主要有 W44C、W44S、R143Q、D179N、R184Q 和 C202F;其导致的综合征型聋主要是伴掌跖角化,主要突变为 G59A、R75W 和 G130V;另外, R75Q 也可导致常染色体显性综合征型和非综合征型聋^[19]。除此之外,*GJB2* 还与角膜炎-鱼鳞病-耳聋综合征(keratitis-ichthyosis-deafness syndrome, KID)和多汗性外胚层发育不良(hidrotic ectodermal dysplasia, HED)等疾病有关^[20]。由 *GJB2* 基因突变导致的感音神经性聋、皮肤、毛发、甲和角膜的病理改变可以单独出现也可以多种联合出现^[21]。

本研究在 1 641 例中国 *GJB2* 相关耳聋患者中,发现 9 个为显性突变携带家庭(0.55%),突变为 R75W 3 例,G130V 1 例,R143Q 3 例,R184Q 2 例。大部分患者为先天性重度-极重度感音神经性聋,而在同一家庭中不同成员的听力损失程度并不

完全一致。R75W 突变中 1 例患者合并掌跖皮肤角化,属于综合征型聋范畴。携带 R75W 和 R184Q 突变的先证者均为新生突变。

不同文献报道的 *GJB2* 显性突变导致的听力损失程度有一定的差异,从轻度耳聋至极重度耳聋。Loffler 等^[22] 和 Bonyadi 等^[23] 报道 R143Q 的大家系,在该家系不同成员中 R143Q 导致的耳聋损失程度从轻度到重度感音神经性聋,并认为有可能导致渐进性听力下降,且同时携带 R143Q 突变和 *GJB2* 其他致病突变(L90P、35delG)的成员听力损失程度更重。本研究部分结果与其观点相一致,849 和 9483 2 个家庭中,先证者分别为 299delAT/R143Q 复合杂合突变和 235delC/R143Q 复合杂合突变,均表现为重度-极重度感音神经性聋;而其父亲(849-1 和 9483-1)仅为 R143Q 杂合突变,表现为轻中度感音神经性聋。但本研究 4676 家庭先证者为 R143Q 杂合突变,表现为重度-极重度感音神经性聋,而其母亲为轻中度感音神经性聋。

GJB2 部分显性突变可导致综合征型聋,其主要表现为皮肤过度角化,但表型差异也较大。Richard 等^[18] 报道的 R75W 突变埃及家系皮肤病变表现为手掌足底皮肤弥漫性增厚、过度角化、皮肤干裂、大片脱皮。而本研究中 CF006 患者仅表现为手掌手背交界处和双足足底足背交界处皮肤角化增厚、脱屑。而引起综合征型聋的 G130V 突变^[12] 在本研究中的 9424 及其母亲也仅表现为耳聋。

GJB2 绝大多数突变为常染色体隐性遗传,而显性突变在中国及国外的携带率均相对较低,且部分家庭为新生突变,因此在临床诊断中易被忽略和漏诊。因此,在基因诊断前全面的体格检查和其他系统疾病的问诊也是提高诊断准确率的重要因素之一。通过本研究及文献回顾,*GJB2* 显性突变导致的耳聋及皮肤严重程度的表型外显率差别较大,

这种表型差异的产生可能与种族和环境等因素有关,因此,*GJB2* 显性遗传家庭的遗传咨询以及生育后代风险的预测需谨慎,同对此类家庭的长期随访十分重要。

参考文献

- [1] WELCH K O, MARIN R S, PANDYS A, et al. Compound heterozygosity for dominant and recessive *GJB2* mutations: effect on phenotype and review of the literature [J]. *Am J Med Genet A*, 2007, 143: 1567–1573.
- [2] MARZIANO N K, CASALOTTI S O, PORTELLI A E, et al. Mutations in the gene for connexin 26 (*GJB2*) that cause hearing loss have a dominant negative effect on connexin 30 [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12: 805–812.
- [3] BONYADI M, ESMAEILI M, ABHARI M, et al. Mutation analysis of familial *GJB2*-related deafness in Iranian Azeri Turkish patients [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2009, 13: 689–692.
- [4] HUANG S S, WANG G J, XU Y, et al. Identification of a p. R143Q dominant mutation in the gap junction beta-2 gene in three Chinese patients with different hearing phenotypes [J]. *Acta Otolaryngol*, 2013, 133: 55–58.
- [5] PRIMIGNANI P, CASTORINA P, SIRONI F, et al. A novel dominant missense mutation—D179N—in the *GJB2* gene (Connexin 26) associated with non-syndromic hearing loss [J]. *Clin Genet*, 2003, 63: 516–521.
- [6] HUANG S, YUAN Y, LIU J, et al. De novo dominant mutation of *GJB2* in two Chinese families with nonsyndromic hearing loss [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2011, 75: 1333–1336.
- [7] HAMELMANN C, AMEDOFU G K, ALBRECHT K, et al. Pattern of connexin 26 (*GJB2*) mutations causing sensorineural hearing impairment in Ghana [J]. *Hum Mutat*, 2001, 18: 84–85.
- [8] MELCHIONDA S, BICEGO M, MARCIANO E, et al. Functional characterization of a novel Cx26 (T55N) mutation associated to non-syndromic hearing loss [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337: 799–805.
- [9] BIRKENHAGER R, LUBLINGHOFF N, PRERA E, et al. Autosomal dominant prelingual hearing loss with palmoplantar keratoderma syndrome; variability in clinical expression from mutations of R75W and R75Q in the *GJB2* gene [J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152: 1798–1802.
- [10] YUAN Y, HUANG D, YU F, et al. A De Novo *GJB2* (Connexin 26) Mutation, R75W, in a Chinese Pedigree With Hearing Loss and Palmoplantar Keratoderma [J]. *Am J Med Genet Part A*, 2009, 149: 689–692.
- [11] UYGUNER O, TUKEL T, BAYKAL C, et al. The novel R75Q mutation in the *GJB2* gene causes autosomal dominant hearing loss and palmoplantar keratoderma in a Turkish family [J]. *Clin Genet*, 2002, 62: 306–309.
- [12] IOSSA S, CHINETTI V, AULETTA G, et al. New evidence for the correlation of the p. G130V mutation in the *GJB2* gene and syndromic hearing loss with palmoplantar keratoderma [J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149: 685–688.
- [13] ESTIVILL X, FORTINA P, SURREY S, et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness [J]. *Lancet*, 1998, 351: 394–398.
- [14] GABRIEL H, KUPSCH P, SUDENDEY J, et al. Mutations in the connexin26/*GJB2* gene are the most common event in non-syndromic hearing loss among the German population [J]. *Hum Mutat*, 2001, 17: 521–522.
- [15] MORELL R J, KIM H J, HOOD L J, et al. Mutations in the connexin 26 gene (*GJB2*) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness [J]. *N Engl J Med*, 1998, 339: 1500–1505.
- [16] OHTSUKA A, YUGE I, KIMURA S, et al. *GJB2* deafness gene shows a specific spectrum of mutation in Japan, including a frequent founder mutation [J]. *Hum Genet*, 2003, 112: 329–333.
- [17] DAI P, YU F, HAN B, et al. *GJB2* mutation spectrum in 2063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment [J]. *J Transl Med*, 2009, 7: 1–12.
- [18] RICHARD G, WHITE T W, SMITH L E, et al. Functional defects of Cx26 resulting from a heterozygous missense mutation in a family with dominant deaf-mutism and palmoplantar keratoderma [J]. *Hum Genet*, 1998, 103: 393–399.
- [19] TUKEL T, BAYKAL C. The novel R75Q mutation in the *GJB2* gene causes autosomal dominant hearing loss and palmoplantar keratoderma in a Turkish family [J]. *Clin Genet*, 2002, 62: 306–309.
- [20] VAN-STEENSEL M A, STEIJLEN P M, BLADERGROEN R S, et al. A phenotype resembling the Clouston syndrome with deafness is associated with a novel missense *GJB2* mutation [J]. *J Invest Dermatol*, 2004, 123: 291–293.
- [21] RICHARD G. Connexin gene pathology [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2003, 28: 397–409.
- [22] LOFFLER J, NEKAHM D, HIRST-STADLMAN N, et al. Sensorineural hearing loss and the incidence of Cx26 mutations in Austria [J]. *Eur J Hum Genet*, 2001, 9: 226–230.
- [23] BONYADI M, ESMAEILI M, ABHARI M, et al. Mutation analysis of familial *GJB2*-related deafness in Iranian Azeri Turkish patients [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2009, 13: 689–692.