

# 新疆喀什地区 629 例非综合征型耳聋患者 常见耳聋基因调查研究\*

孙捷<sup>1</sup> 陈俞<sup>1</sup> 张华<sup>1</sup> 温浩<sup>2</sup>

[摘要] 目的:研究新疆喀什地区非综合征型耳聋常见耳聋基因及其突变位点的分子流行病学及突变特征。方法:对新疆喀什地区 629 例重度、极重度非综合征型感音神经性聋患者,用晶芯耳聋基因试剂盒进行 GJB2、SLC26A4、mtRNA、GJB3 基因 10 个位点检测,检测阴性患者继续 GJB2 耳聋基因外显子测序。结果:629 例患者中,GJB2 基因突变检出率最高,为 60.29%(41/68);SLC26A4 为 8.82%(6/68);mtRNA 为 30.88%(21/68);GJB3 为 0%(0/68)。结论:GJB2 基因、SLC26A4、线粒体基因 mtRNA 为新疆喀什地区非综合征型耳聋常见致病基因。

[关键词] 非综合征型耳聋;耳聋基因;Sanger 测序

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.08.012

[中图分类号] R764.43 [文献标志码] A

## Epidemiological analysis of GJB2, SLC26A4, mtRNA, GJB3 in nonsyndromic hearing loss in Kashi in Xinjiang

SUN Jie<sup>1</sup> CHEN Yu<sup>1</sup> ZHANG Hua<sup>1</sup> WEN Hao<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, 1st Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi, 830000, China; <sup>2</sup>Department of General Surgery, 1st Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University)

Corresponding author: ZHANG Hua, E-mail: H Zhang1106@yahoo.com.cn; WEN Hao, E-mail: 271106@yahoo.com.cn

**Abstract Objective:** To investigate the epidemiological analysis of the GJB2, SLC26A4, mtRNA and GJB3 gene in nonsyndromic hearing loss in Kashi in Xinjiang. **Method:** In this study, we analyzed the mutations of GJB2, SLC26A4, mitochondrial mtRNA and GJB3 gene mutations in 629 cases of patients with nonsyndromic hearing loss in Kashi in Xinjiang by using the gene kit. **Result:** The proportion of GJB2 gene mutation was 60.29% (41/68), the SLC26A4 and mtRNA were 8.82% (6/68) and 30.88% (21/68) respectively. **Conclusion:** GJB2 gene, SLC26A4, mtRNA gene are common cause of nonsyndromic hearing loss in Xinjiang.

**Key words** nonsyndromic hearing loss; deafness gene; Sanger sequence

听力损失是人类最常见的神经缺陷性疾病。2012 年世界卫生组织调查显示有听力问题者占世界人口的 5.3%, 大约有 15% 的成人患有不同程度的耳聋<sup>[1]</sup>。遗传性耳聋主要由耳聋遗传物质的改变而引起。现今发现有 500 多个基因及突变位点与耳聋相关, 分别引发先天性、进行性迟发性耳聋<sup>[2]</sup>, 或者是与噪声、年龄相关的耳聋, 以及只有耳聋一个症状的非综合征型耳聋(nonsyndromic hearing loss, NSHL)、其他伴有全身系统性疾病综合征型耳聋。目前学者们普遍认同与 NSHL 相关的缝隙连接蛋白 GJB2 (connexin 26, Cx26) 是 NSHL 常见的耳聋致病基因之一。连同 SLC26A4

基因、mtRNA<sup>[3]</sup> 是目前我国最常见的 3 个遗传性 NSHL 的主要致病基因。本文针对新疆喀什地区 NSHL 患者进行常见耳聋基因的筛查, 现总结如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象

研究对象为新疆维吾尔自治区喀什常驻人口, 来自当地的康复中心、特殊教育学校、聋儿语训中心等, 明确诊断为重度、极重度非综合征型感音神经性聋患者, 其中 NSHL 患者 629 例, 先天性耳聋 566 例, 药物性耳聋 18 例, 原因不明者 45 例; 男 341 例, 女 288 例; 年龄 3~76 岁; 维吾尔族 584 例, 汉族 41 例, 乌孜别克族 2 例, 柯尔克孜族 2 例。

入选标准: ①所有研究对象均两代以上为新疆维吾尔自治区喀什常驻人口; ②听力检测证实为重度、极重度感音神经性 NSHL; ③发病前有或无氨基糖甙类抗生素使用史; ④有或无家族遗传史。

排除标准: ①曾有或确诊为急、慢性化脓性中耳炎病, 有中耳手术史者; ②其他疾病史, 明确可引

\* 基金项目:新疆维吾尔自治区科技厅自然科学基金(No: 2013211A102);国家自然科学基金(No:20130216-08)

<sup>1</sup>新疆医科大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科(乌鲁木齐, 830000)

<sup>2</sup>新疆医科大学第一附属医院肝胆外科

通信作者:张华, E-mail: H Zhang1106@yahoo.com.cn; 温浩, E-mail: 271106@yahoo.com.cn

起听力下降(包括颅面部外伤、脑膜炎、迷路感染等)者;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甙类药物史者;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综合征型耳聋患者。

1.2 研究方法

听力检测:由专业听力学医师完成纯音测听及声导抗。采用 Madsen 502 便携式听力检测计(丹麦)及 EAR-3A 插入式耳机(美国产)对受试对象进行纯音测听的初步粗查(检测环境应尽量做到密闭、安静),了解听力损失情况及病变性质。

外周血采集:由专职护士按照采血标准操作流程采集受试对象前臂外周血 5 ml,加入乙二胺四乙酸二钠(EDTA)抗凝,特殊医用冰盒或 4℃ 冰箱保存血样,1 周内完成外周血基因组 DNA 提取。

应用晶芯耳聋基因试剂盒进行 GJB2、SLC26A4、mtRNA、GJB3 基因 10 个位点检测,包括 GJB2 基因 c. 35delG, c. 176\_191del16, c. 167delT, c. 235delC, c. 299\_300delAT 位点 GJB3 基因 c. 538C>T 位点, mtRNR1 基因 m. 1494C>T, m. 1555A>G, SLC26A4 基因 c. 2168A>G, IVS7-2A>G, 检测阴性患者应用 Sanger 测序技术进行 GJB2 耳聋基因外显子测序鉴定(表 1)。

1.3 统计学方法

用 SPSS20.0 统计学软件,计量资料以%表示,计数资料采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义,当样本量小于 40 或理论频数小于 1 时使用确切概率法。

2 结果

经 GJB2、SLC26A4、mtRNA 和 GJB3 基因耳聋基因检测有 7 个突变位点被检出,共 13 种不同的基因表型(表 2)。4 个耳聋相关基因突变比例分别为:GJB2 为 60.29%(41/68), SLC26A4 为 8.82%(6/68), mtRNA 为 30.88%(21/68), GJB3 为 0%(0/68)(表 3)。

维吾尔族 584 例 NSHL 患者中,GJB2 检出率 6.51%(38/584), SLC26A4 检出率 0.86%(5/584), mtRNA 检出率 2.40%(14/584),且仅有 m. 1555A>G 检出,GJB2、SLC26A4、mtRNA 检出率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

通过此次筛查维吾尔族 584 例 NSHL 患者中明确耳聋病因者 40 例,纯合致病的有 GJB2c. 235delC 纯合 8 例, c. 35delG 4 例, c. 299\_300delAT 1 例, c. 176\_191del16 3 例(表 4), SLC26A4IVS7-2A>G 2 例, mtRNR1 基因 m. 1555A>G 均质 13 例;复合杂合致病的有 GJB2c. 235delC/c. 35delG 2 例, SLC26A4c. 2168A>G/IVS7-2A>G 1 例;还有 1 例患者是 mtRNR1 基因 m. 1555A>G 均质改变又杂合了 GJB2c. 35delG。新疆喀什地区维吾尔族 NSHL 常见耳聋基因 GJB2c. 235delC, c. 35delG, c. 299-300delAT 检出率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

3 讨论

GJB2 基因(MIM 220290)定位于 13q11~q12 染色体上,有 2 个外显子。缝隙连接蛋白尤其是 Cx26 和 Cx30,维持着内耳内环境  $K^+$  的平衡,蛋白连接处有许多复杂结构的生理孔径,是第二信使转

表 1 GJB2 基因编码区突变检测引物一览表

外显子	引物名称	引物	
Exon2A	GJB3-2AF	5'-GGTGTTCAGGTAGGCAGCTC-3'	859 bp
	GJB3-2AR	5'-CAGAATTGAGAGGCCGAGAGG-3'	
Exon2B	GJB3-2BF	5'-ACCTTGCTGTGCCTCAGTTT-3'	668 bp
	GJB3-2BR	5'-GAAGCCATGCCAGAGAGTGT-3'	

表 2 新疆喀什地区 NSHL 患者中 GJB2、SLC26A4、mtRNA 基因表型分布

基因	基因型	汉族	柯尔克孜	维吾尔族	乌兹别克	合计
mtRNA	m. 1555A>G	7	0	14	0	21
GJB2	c. 176_191del16	0	0	3	0	3
	c. 235delC	2	0	15	0	17
	c. 299_300delAT	0	0	11	0	11
	c. 35delG	1	0	11	0	12
SLC26A4	c. 2168A>G	1	0	1	0	2
	IVSIVS7-2A>G	1	0	5	0	6
合计		12	0	60	0	72

表 3 新疆喀什地区 NSHL 患者常见耳聋基因检出情况

基因	汉族	柯尔克孜	维吾尔族	乌兹别克	合计
GJB2	3	0	38	0	41
SLC26A4	1	0	5	0	6
mtRNA	7	0	14	0	21
合计	11	0	57	0	68

表 4 新疆喀什地区维吾尔族 NSHL 患者 GJB2 基因突变型比较

突变位点	纯合突变	杂合突变	合计
c. 235delC	8	7	15
c. 35delG	4	7	11
c. 299-300delAT	1	10	11
c. 176 delA	3	0	3
合计	16	24	40

运、耳蜗静息电位产生的通道<sup>[4]</sup>。GJB2 是 1997 年报道的第 1 个耳聋相关基因<sup>[5]</sup>, 主要分布于耳蜗的血管纹、基底细胞以及神经感觉上皮和耳蜗传导纤维等处, 它的突变可以引起常染色体隐性 NSHL<sup>[6]</sup>。尽管以后相继出现的 GJB3 (MIM 603324) 和 GJB6 (MIM 604418) 也被证实与耳聋的发生有关, 但 GJB2 依然是引起常染色体隐性 NSHL 的最主要致病基因, 尤其在高加索白种人中达 50%, 略高于世界其他地区耳聋人群<sup>[7]</sup>。GJB2 还是某些常染色体显性遗传性耳聋 (autosomal dominant nonsyndromic hearing loss)、角膜炎鱼鳞病性耳聋 (MIM 148210)、残毁性遗传性角质瘤 (MIM 124500)、Bart-Pumphrey 综合征 (MIM 149200) 的致病基因。GJB2 c. 35del G 多见于高加索白种人和东南部的巴西耳聋人群 (分析后者人口来源主要是高加索人), c. 235del C 则是东亚人的常见突变热点, 而德系犹太人是 c. 167del T<sup>[8]</sup>。韩国、日本常住人群和中国人同属于蒙古人种, 有相似的遗传背景, GJB2c. 235del C 都是其常见的耳聋致病基因。

喀什市受检民族有维吾尔族、汉族、柯尔克孜族、乌兹别克族 4 种, 其中维吾尔族的受检高危人群比例显著高于其他民族, 达到 92.85% (维吾尔族是喀什地区主体民族), 其次是汉族 (6.52%), 其他民族所占比例均小于 1%。根据流行病学调查显示, 我国常见的致聋基因是 GJB2、SLC26A4 和 mtRNA。C. 235delC、176-191del16 和 299-300delAT 是我国 GJB2 常见的突变类型, 其中 c. 235delC 为携带频率最高的突变位点, 但 GJB2 等位基因突变在 4.0%~30.4% 之间都有报道, 存在明显的地域、民族差异。国外研究者报道与我国有

所不同, GJB2 基因的突变形式在不同的国家、种族间存在差异。Popova 等<sup>[9]</sup> 报道保加利亚、土耳其耳聋人群中 GJB2 突变率为 39%, 是主要致聋责任基因, 突变热点是 c. 35delG; 沙特阿拉伯原始部落聋哑人中 GJB2 的突变检出率只有 3%, 且没有明显突变热点, 而在沙特阿拉伯国家西部省份 GJB2 突变检出率为 15.59%, 且以 c. 35del G 多见<sup>[10]</sup>, 分析可能与沙特阿拉伯国家西部省份和以周边高加索白种人为主的埃及、约旦等国长期经济往来、婚姻互通有关。

新疆喀什处于欧亚大陆中部、我国的西北部, 受交通、文化的影响, 与中国内陆地区交流少于周边接壤的国家, 如: 塔吉克斯坦、巴基斯坦、乌兹别克斯坦、印度等。维吾尔族融合吸收了蒙古、汉、藏等民族的成分, 且不同地区因为融合种族亚群分布的不同, 其体质特征也有差别, 因而喀什地区的维吾尔族基因相对保守, 受地域限制特征明显, 耳聋基因 GJB2 突变检出率只有 6.51%。戴朴等<sup>[11]</sup> 对中国 18 个省市聋校进行筛查发现 GJB2 突变率高达 18.16%; 江常伟等<sup>[12]</sup> 对新疆伊犁、木垒、昌吉、阿勒泰地区的 97 例哈萨克族聋患者行 GJB2 基因检测, 仅 c. 235delC 和 c. 35delG 两个突变位点的检出率就高达 16.5%; 陈俞等<sup>[13]</sup> 报道新疆哈萨克民族中未检测出 c. 235delC。新疆哈萨克民族人种特征及生活习惯、宗教信仰虽然与维吾尔族相近, 但起源与维吾尔族不同, 且主要是新疆北方的乌孙后裔, 是其融合了不同种族亚群的原因, 有必要进一步研究。本研究维吾尔族 NSHL 患者中 GJB2c. 235delC 和 c. 35delG 常见突变位点的检出率无明显差异, 陈俞等<sup>[13]</sup> 报道 c. 35delG 在维吾尔族和哈萨克族中检出率高, 几乎占据了 GJB2 的 2/3。除了受试人群地域上的差异外, 其他原因待排。

有人提出现代维吾尔族是蒙古人种和欧罗巴人种的后裔, 新疆喀什地区的维吾尔族更是融合了波斯人和阿拉伯人的血统, 且其蒙古人种的体质特征及生物遗传特性正在逐渐减弱, 而欧罗巴人种的体质特征及生物遗传特性正逐渐增强。有关耳聋基因的研究涉及到了人类群体遗传学甚至人种起源的问题, 有待进一步考证。

遗传性耳聋虽然是典型的单基因疾病, 但是通过检测发现有很多耳聋患者存在一种以上已知的耳聋基因, 我们不能排除有的患者携带有多种耳聋基因的可能, 因为还有其他未知的耳聋基因。这种现象应该是耳聋患者间相互择偶, 放弃与正常人群婚配的权利而造成的基因杂合。由于耳聋是个特殊疾病群体, 他们为了避免近亲结婚, 在避开亲缘关系择偶的同时, 又不得不选择同样患病的耳聋人群, 因此耳聋基因在不同家系中得以遗传、交叉, 违背了随机原则, 打破了原有的遗传平衡定律。看似

一个社会的问题,实则改变了遗传性耳聋基因在人群中的分布规律。我们设想今后的耳聋基因筛查,是否应该剔除这种有亲缘关系的人群,或者只选择先证者为代表,这是本课题不足之处。筛查方案的制定有待进一步提高。

参考文献

[1] [No authors listed]. Hearing loss: an important global health concern[J]. Lancet, 2016, 387: 2351-2351.

[2] 王洪阳,熊文萍,关静,等. 伴发单侧突发性聋的遗传性聋 1 例: Gjb2 235delc 纯合突变相关的迟发型中度听力损失[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 30(14): 1136-1138.

[3] 瞿剑伟,王建峰,徐思思,等. 线粒体 DNA 突变\_氨基糖苷类抗生素与耳聋[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 29(22): 1936-1940.

[4] FAUNDES V, PARDO R A, CASTILLO TAUCHER S. Genetics of congenital deafness [J]. Med Clin (Barc), 2012, 139: 446-451.

[5] KELSELL D P, DUNLOP J, STEVENS H P, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness[J]. Nature, 1997, 387: 80-83.

[6] MARTÍNEZ A D, ACUÑA R, FIGUEROA V, et al. Gap-junction channels dysfunction in deafness and hearing loss[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11: 309-322.

[7] GREEN G E, SCOTT D A, MCDONALD J M, et al.

Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness [J]. JAMA, 1999, 281: 2211-2216.

[8] CRYNS K. A genotype-phenotype correlation for GJB2(connexin 26) deafness[J]. J Med Genet, 2004, 41: 147-154.

[9] POPOVA D P, KANEVA R, VARBANNOVA S, et al. Prevalence of GJB2 mutations in patients with severe to profound congenital nonsyndromic sensorineural hearing loss in Bulgarian population[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2012, 269: 1589-1592.

[10] IMTIAZ F, TAIBAH K, RAMZAN K, et al. A comprehensive introduction to the genetic basis of non-syndromic hearing loss in the Saudi Arabian population[J]. BMC Med Genet, 2011, 12: 91-91.

[11] 戴朴,刘新,于飞. 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 235del C 和线粒体 DNA 12S rRNA A1555G 突变筛查报告[J]. 中华耳科学杂志, 2006, 4(1): 1-5.

[12] 汪常伟,蔡小牛,邹广华,等. 新疆哈萨克族非综合征性聋 GJB2 基因突变的研究分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 28(10): 676-679.

[13] 陈俞,赵娟,皮力东·库亚西,等. 新疆不同民族聋人群耳聋基因常见突变的筛查[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 34(8): 850-854.

(收稿日期:2016-12-28)

(上接第 618 页)

M, et al. Surgical management of 246 previously untreated pleomorphic adenomas of the parotid gland [J]. Br J Surg, 1997, 84: 399-403.

[7] 阎威,陈勇,郭荣珍,等. 应用面神经总干法行腮腺切除术的初步观察[J]. 河北医药, 2007, 29(10): 1082-1084.

[8] 区德明,吴颖,刘军,等. 腮腺手术中顺行法与逆行法解剖对面神经功能影响的比较研究[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(7): 712-714.

[9] 吴煜农,武和民,陶震江. 程序化功能性腮腺切除术的初步探讨[J]. 口腔医学, 2005, 25(6): 348-350.

[10] VIEIRA M B, MAIA A F, RIBEIRO J C. Randomized prospective study of the validity of the great auricular nerve preservation in parotidectomy[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2002, 128: 1191-1195.

[11] RYAN W R, FEE W E Jr. Great auricular nerve morbidity after nerve sacrifice during parotidectomy[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2006, 132: 642-649.

[12] 俞辉明,杨建荣,房进. 腮腺手术中耳大神经的解剖与保留[J]. 口腔医学, 2011, 31(12): 740-742.

[13] 毛玉虎,王玫. 保留耳大神经耳后支、耳垂支的腮腺肿瘤切除术 39 例报告[J]. 临床口腔医学杂志, 2011, 27(9): 542-542.

[14] 李明月,张伟,刘宁,等. 腮腺筋膜和耳大神经保留的改良方法[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2009, 7(4): 366-369.

[15] 邱蔚六. 口腔颌面外科理论与实践[M]. 北京:人民卫生出版社, 1998: 1123-1124.

[16] 曲延刚,孙乐刚,王丽芳,等. 腮腺手术植入涤纶薄片预防 Frey 综合征[J]. 实用口腔医学杂志, 2002, 18(2): 175-177.

[17] SINHA U K, SAADAT D, DOHERTY C M, et al. Use of A lloDerm in plant to prevent frey syndrome after parotidectomy[J]. Arch Facial Plast Surg, 2003, 5: 109-112.

[18] ASAL K, KOYBASIOGLU A, INAL E, et al. Sternocleidomastoid muscle flap reconstruction during parotidectomy to prevent Frey's syndrome and facial contour deformity [J]. Ear Nose Throat J, 2005, 84: 173-176.

[19] 许彪,王卫红,范红渠,等. 旋转腮腺筋膜瓣预防腮腺术后味觉出汗综合征[J]. 实用口腔医学杂志, 2005, 21(1): 135-136.

[20] 王良忠,曲延刚,何开云. 保留腮腺筋膜预防味觉出汗综合征的临床应用[J]. 口腔医学, 2009, 29(7): 386-387.

(收稿日期:2016-11-06)