

耳聋甲发育不全综合征*

Dominant deafness and onychodystrophy syndrome

袁永一¹ 戴朴¹

[关键词] 聋;耳聋甲发育不全综合征;致病机制;ATP6V1B2 基因

Key words deafness; dominant deafness and onychodystrophy syndrome; pathogenesis; ATP6V1B2 gene

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.16.003

[中图分类号] R764.43 [文献标志码] C



专家简介:袁永一,医学博士,解放军总医院耳鼻咽喉头颈外科副主任医师、副教授,硕士研究生导师,美国 Emory 大学访问学者。临床特色:耳显微外科、耳聋基因诊断及遗传咨询。研究方向:遗传性耳聋致病机制及诊治干预。中国医师协会耳鼻咽喉头颈外科分会“优秀青年医师奖”获得者、全军优秀博士学位论文获得者、北京市科技新星。作为主要完成人获得国家科技进步二等奖、北京市科学技术一等奖、国家人口与计划生育委员会十一五优秀科技成果一等奖、中华医学科技奖三等奖等。获国家发明专利 4 项。主持国家重点研发计划、国家自然科学基金、北京市自然科学基金、北京市科技新星项目、解放军总医院杰青培育项目等课题 6 项,获得资助 532 万。以第一作者通讯作者发表论文 50 篇,SCI 收录 20 篇。主编专著《耳聋基因诊断与遗传咨询》。

遗传性耳聋是最常见的人类遗传疾病之一,平均 1 000 人中就有 1 名为出生时即形成听力障碍的先天性耳聋患者^[1]。遗传性耳聋具有广泛的遗传异质性,30%为综合征型耳聋,70%为非综合征型耳聋。人们对遗传性耳聋的认识是从综合征型耳聋家系的分析开始的,如 Usher 综合征、Waardenburg 综合征等。综合征型耳聋中有一类常伴有其他外胚层发育畸形^[2],如皮肤体壁系统紊乱^[3-4]或骨发育畸形^[5-6]等。外胚层是胚胎时期的 3 个胚层之一,主司中枢神经、周围神经、汗腺、毛发、指甲、釉质等的发育。外胚层发育不良(ectodermal dysplasia)自 1792 年报道至今,已有 200 多种不同的病理损害。遗传性耳聋外胚层畸形综合征的概念最早由 Reed 等在 1967 年提出^[4]。先天性耳聋伴甲发育不全综合征(deafness and onychodystrophy syndrome, DOD)按遗传方式通常可分为两个特殊群体:常染色体隐性遗传的 DOORS 综合征(deafness-onychodystrophy-osteodystrophy-mental retardation syndrome, MIM 220500)和常染色体显性遗传的 DDOD 综合征(dominant deafness and onychodystrophy syndrome, MIM 124480)。DOORS

综合征又称遗传性耳聋-甲发育不良-骨发育不良-智力发育迟缓-癫痫发作综合征,主要表现为先天性感音神经性聋、甲发育不全或缺失、拇指三节指骨以及不同程度的智力发育缓慢、癫痫、哑症等。大多数 DOORS 综合征患者尿及血浆中 α -酮戊二酸浓度增高。TBC1D24 突变导致 DOORS 综合征^[7]。DDOD 综合征具有较轻的以上症状,表现为先天性耳聋、甲发育不全、牙齿圆锥形发育不全,无尿及血浆 α -酮戊二酸的改变,智力障碍鲜见报道。本文着重对 DDOD 综合征进行介绍。

1 DDOD 综合征的发现及诊断历程

DDOD 综合征又称显性遗传性耳聋-甲发育不全综合征,属于罕见病。迄今全球共 11 个 DDOD 综合征家系见诸报道(表 1),其中 3 个来自中国^[8]。1961 年 Feinmesser 等^[9]报道了第 1 个耳聋-甲发育不全综合征家系,该家系父母有血亲关系,子代姐妹两人患病,其遗传模式表现为常染色体隐性。但 James 等^[10](2007 年)认为 Feinmesser 等报道的家系受累患者没有智力发育迟缓,尽管遗传模式表现为隐性,依然不能归为 DOORS 综合征,而应归为 DDOD 综合征。1962 年,Robinson 等^[11]报道了一个三代 17 人的家系,该家系中 5 例患者表现为耳聋-甲发育不全,不伴智力发育障碍。先证者为一 15 岁的女性,先天性耳聋,指甲有裂缝且营养不良,牙齿呈锥形并伴间断缺失,右足第一第二趾为并趾,第三第四趾为并趾。先证者的一名兄弟、一名

* 基金项目:国家重点研发计划(No:2016YFC1000706, 2016YFC1000704);国家自然科学基金面上项目(No:81371098);国家自然科学基金重点项目(No:81730029);解放军总医院杰青培育项目(No:2017-JQPY-001)

¹解放军总医院耳鼻咽喉头颈外科 解放军总医院聋病分子诊断中心(北京,100853)

通信作者:戴朴, E-mail: daipu301@vip.sina.com

姐妹和其母亲表现为相似的牙齿、指甲缺陷和感音神经性聋,该家系遗传模式为显性。1969年 Goodman 等^[12]报道了一对表型为感音神经性聋和甲发育不全的母子,母亲的右手拇指有三节指骨,左手拇指第三节指骨与第二指骨融合。1972年, Moghadam 等^[13]描述了一拇指三节指骨且第三指骨发育不全、指甲发育不全伴有耳聋的菲律宾家系,该家系中母子有相同的表型。1999年 Kondoh 等^[14]报道了又一 DDOD 综合征家系,该家系先证者为一女婴,表现为先天性耳聋、甲发育不全或甲缺失,其母亲 1 岁时诊断为感音神经性耳聋,锥形牙齿,趾甲缺如伴指甲发育不全,先证者的外祖父也有相似的症状。

2 DDOD 综合征致病基因鉴定及表型拓展

2000 年以前关于 DDOD 综合征的文献仅局限于病例报告。2011 年 White 等^[15]报道了一个三代三人受累 DDOD 综合征家系,他们对该家系进行 SNP 微阵列分析,这是关于该病最早的分子病因探索,但最终未发现基因组拷贝数异常。同年,我国学者袁永一、戴朴收集到 3 个中国 DDOD 综合征家系,3 个家系分别来自吉林和山西,久居当地,确无血亲关系。吉林家系(家系 1)先证者,女性,2 岁 11 个月;山西家系(家系 2)先证者,男性,4 岁 1 个月;另一山西家系(家系 3)先证者,女性,27 岁。家系 1 和家系 2 的先证者具有高度一致的表型:先天性极重度感音神经性聋,双足趾甲缺如,双手拇指及小指指甲缺如,双手食指、中指、无名指指甲发育不全(指甲软化、中央凹陷),双手小指第三指骨未发育。家系 2 先证者表型见图 1。家系 3 先证者全部指甲、趾甲缺如,指骨发育正常,该患者已正常生育,下一代未表现出耳聋-甲发育不全表型。3 例患者颞骨 CT 均未发现中耳及内耳畸形。对家系 1 和 2 利用全外显子组测序及生物信息学技术率先鉴定了致病基因 *ATP6V1B2*,该基因位于 8p21.3,由 14 个外显子组成,编码含有 511 个氨基酸的 V-

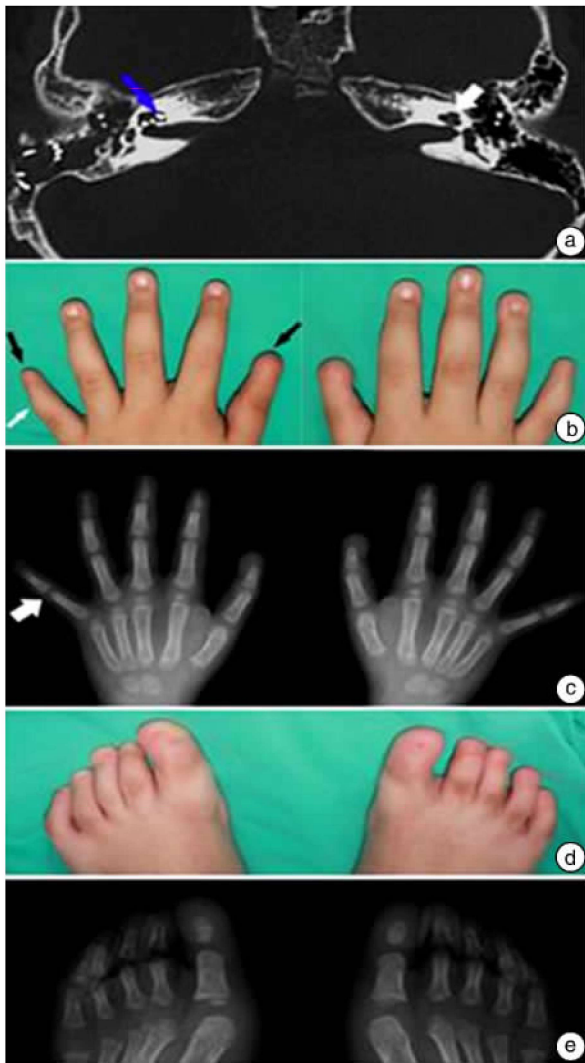
ATPase,在黑猩猩、猕猴、小鼠、非洲爪蟾、斑马鱼等物种高度保守。该课题组研究发现 *ATP6V1B2* 基因新生无义突变 c. 1516C>T (p. R506X) 与 DDOD 综合征患者表型共分离,在 1 053 例中国听力正常对照中进行分子流行病学研究未发现该突变携带者,进一步证实了其致病性。上述结果在家系 3 及后续收集的中国及国外报道的 DDOD 综合征家系中得到了验证^[8,16]。迄今,来自中国的 5 个 DDOD 综合征家系共有 6 例患者,4 例进行了人工耳蜗植入手术(植入年龄 3 例<2 岁,1 例 16 岁)。作者对其中 3 例(其中 2 例为 2 岁内植入)进行了长达 7 年的术后随访,发现患者言语康复效果不佳,而测试显示人工耳蜗工作状态良好。深入跟踪调查提示 DDOD 综合征患者记忆力和理解力弱于同年龄段非综合征型耳聋患者。随后,我们对 2 例 DDOD 综合征患者(1 例未进行耳蜗植入,1 例人工耳蜗植入术后 15 年)分别进行长谷川痴呆量表测试,发现她们均存在轻度认知障碍。上述结果提示,DDOD 综合征表型还应包括学习记忆障碍或轻度认知障碍。这也使我们认识到综合征型耳聋的治疗方案选择及效果评估不能单纯依据耳聋的严重程度,只有明确表型特征及致病机制才能给予患者精准治疗及预后指导。

3 DDOD 综合征致病机制研究

DDOD 综合征致病基因 *ATP6V1B2* 编码囊泡型质子泵蛋白(囊泡型 H^+ -ATPase, V-ATPase)。现已知生物膜 H^+ -ATPase 有三大类型:质膜类型的 H^+ -ATPase(P 型),线粒体类型的 H^+ -ATPase(F 型)和囊泡膜类型的 H^+ -ATPase(V 型)。囊泡型质子泵(囊泡型 H^+ -ATPase, V-ATPase)是一个特殊的多亚基质子泵,水解 ATP 逆浓度梯度转运氢离子^[18-19],它广泛分布于原核和真核生物中,对细胞内的多种重要生物过程如蛋白质的排序、发酵菌的活化、受体调节的内吞作用是必不可少的^[20]。V-ATPase 至少由 14 个不同的亚基组成,在哺乳动

表 1 全球 DDOD 综合征研究现状总结

例序	家系来源	报道年份	作者	意义
1	以色列	1961	Feinmesser 等 ^[9]	率先报道 DDOD 综合征表型
2	英国	1962	Robinson 等 ^[11]	—
3	以色列	1969	Goodman 等 ^[12]	—
4	菲律宾	1972	Moghadam 等 ^[13]	—
5	日本	1999	Kondoh 等 ^[14]	—
6	澳大利亚	2011	White 等 ^[15]	开始病因探索:未发现基因组 CNV 改变
7	丹麦	2013	Vind-Kezunovic 等 ^[17]	—
8	中国	2014	Yuan 等 ^[8]	率先明确致病基因突变 <i>ATP6V1B2</i> c. 1516 C>T 并开展基因功能研究
9	危地马拉	2017	Menendez 等 ^[16]	证实患者携带 <i>ATP6V1B2</i> c. 1516 C>T 突变



a:发育正常的内耳,蓝色箭头所指为植入的人工耳蜗;
b:指甲发育不全,食指中指无名指指甲软化、凹陷,拇
指及小指指甲缺失,拇指指端泡状改变;c:手 X 线片显
示小指仅两节指骨;d:趾甲全部缺失;e:足 X 线未见趾
骨明显异常。

图 1 DDOD 患者表型

物中经常以复合体的形式出现,分为位于胞质中水溶性的 V1 和镶嵌于膜上的疏水性的 V0。V1 用于催化 ATP 的结合和水解,V0 包括质子传输孔,用来转运质子^[21-23]。其中 V0 区至少由 a、d、c、c'、d' 5 个不同的亚基组成,而 V1 区至少由 A、B、C、D、E、F、G、H 8 个不同的亚基组成^[21]。V1 的主要部分是由 3 个 A 与 3 个 B 相间分布形成的 ATPase 的催化核心(A₃B₃),其中 A 为催化位点,B 起调控作用^[21-22]。ATP6V1B2 基因是 V-ATPase 酶 V1 部分的组成单位,其在神经系统、心脏、肺脏、肝脏、脾脏、肠道、肾脏、睾丸及骨骼肌等诸多器官组织中均有表达,足见其功能的重要性。ATP6V1B2 基因的亚细胞定位主要在溶酶体、高尔基体、内涵体、嗜铬颗粒、被膜小泡及细胞膜。

为证实 ATP6V1B2 基因与听觉的关系,Yuan

等^[8]前期研究了 Atp6v1b2 蛋白在内耳的表达定位,发现其主要表达在 Corti 器(内外毛细胞,内毛细胞尤其明显)和螺旋神经节,通过对出生后 1~2 d 的小鼠自耳蜗底转中阶显微注射序列特异的 morpholino(0.5 μg/μl,1 μl)构建了耳蜗 Atp6v1b2 knockdown 小鼠模型,在小鼠出生后 21 d 进行组织学研究及 Western blot 分析发现 Corti 器毛细胞及螺旋神经节神经元 Atp6v1b2 表达显著减少、毛细胞退化,出生后 28 d 进行听性脑干反应测听提示小鼠出现重度耳聋。而注射相同浓度及体积的 scrambled morpholino 对照组小鼠在组织学、蛋白分析及听功能测试上均无异常。随后该团队通过斑马鱼研究探索 atp6v1b2 基因在发育中的作用,分别设计针对 atp6v1b2 基因翻译起始(ATG)、第 4 外显子(E4I4)和第 13 外显子(E13I13)剪切位点的 morpholino,敲低 atp6v1b2 表达,发现在斑马鱼出生后 30 h 起陆续出现血管生成障碍或血管畸形(涉及节间血管、远端纵向吻合血管、背主动脉、后主静脉等)、体长缩短、脑发育异常脑室缩小、心包水肿(出生后 48 h)、毛细胞死亡(出生后 5 d)、胸鳍长度缩短(出生后 6 d)、触碰反应迟钝。上述结果首次证明了 atp6v1b2 基因在机体多器官早期发育中的重要作用。斑马鱼胸鳍与人类四肢发育的分子机制相近,应用斑马鱼模型证实了 ATP6V1B2 基因突变引起的 DDOD 综合征的甲发育不全及指骨发育异常的表型。日前,Atp6v1b2 c.1516C>T (p. R506X)knockin 小鼠模型已经问世,该小鼠表现出的学习记忆障碍,为后续深入研究 DDOD 综合征的致病机制、探索基因治疗提供了可能。

深入分析 DDOD 综合征表型谱、鉴定其致病基因并进行功能研究,对临床医生全面认识 DDOD 综合征、对该病进行分子诊断和遗传咨询、预测人工耳蜗植入术后效果和疾病再发风险、借助产前诊断或胚胎植入前诊断预防 DDOD 综合征患儿出生具有重要意义。DDOD 综合征致病机制研究已取得了一定进展,下一步将聚焦分子信号通路,探索 DDOD 综合征的治疗方法,为涉及多器官异常的综合症型耳聋的治疗提供借鉴。此外,基于基因编辑的 CRISPR-Cas9 技术为 DDOD 综合征的基因治疗带来了希望。

参考文献

[1] FORTNUM H M, SUMMERFIELD A Q, MARSHALL D H, 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.
[2] KONIGSMARK B W. Hereditary deafness in man (first of three parts)[J]. N Engl J Med, 1969, 281:

- 713—720.
- [3] ROBINSON C, MILLER J R, BENSIMON J R. Familial ectodermal dysplasia with sensorineural deafness and other anomalies[J]. *Pediatrics*, 1962, 30: 797—802.
- [4] REED W B, STONE V M, BODER E, et al. Hereditary syndromes with auditory and dermatological manifestations[J]. *Arch Dermatol*, 1967, 95: 456—461.
- [5] STEWART J M, BERGSTROM L. Familial hand abnormality and sensorineural deafness; a new syndrome[J]. *J Pediatr*, 1971, 78: 102—110.
- [6] DUDDING B A, GORLIN R J, LANGER L O. The oto-palato-digital syndrome [J]. *Am J Dis Child*, 1967, 113: 214—221.
- [7] CAMPEAU P M, KASPERAVICIUTE D, LU J T, et al. The genetic basis of DOORS syndrome; an exome-sequencing study[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13: 44—58.
- [8] YUAN Y, ZHANG J, CHANG Q, et al. De novo mutation in ATP6V1B2 impairs lysosome acidification and causes dominant deafness-onychodystrophy syndrome[J]. *Cell Res*, 2014, 24: 1370—1373.
- [9] FEINMESSER M, ZELIG S. Congenital deafness associated with onychodystrophy[J]. *Arch Otolaryngol*, 1961, 74: 507—508.
- [10] JAMES A W, MIRANDA S G, CULVER K, et al. DOOR syndrome; clinical report, literature review and discussion of natural history[J]. *Am J Med Genet*, 2007, 143A: 2821—2831.
- [11] ROBINSON G C, MILLER J R, BENSIMON J R. Familial ectodermal dysplasia with sensorineural deafness and other anomalies [J]. *Pediatrics*, 1962, 30: 797—802.
- [12] GOODMAN R M, LOCKAREFF S, GWINUP G. Hereditary congenital deafness with onychodystrophy [J]. *Arch Otolaryngol*, 1969, 90: 474—477.
- [13] MOGHADAM H, STATTEN P. Hereditary sensorineural hearing loss associated with onychodystrophy and digital malformations[J]. *Can Med Assoc J*, 1972, 107: 310—312.
- [14] KONDOH T, TSURU A, MATSUMOTO T, et al. Autosomal dominant onychodystrophy and congenital sensorineural deafness MOGHADAM H, STATTEN P. Hereditary sensorineural hearing loss associated with onychodystrophy and digital malformations[J]. *J Hum Genet*, 1999, 44: 60—62.
- [15] WHITE S M, FAHEY M. Report of a further family with dominant deafness-onychodystrophy (DDOD) syndrome MOGHADAM H, STATTEN P. Hereditary sensorineural hearing loss associated with onychodystrophy and digital malformations[J]. *Am J Med Genet A*, 2011, 155A: 2512—2515.
- [16] MENENDEZ I, CARRANZA C, HERRERA M, et al. Dominant deafness-onychodystrophy syndrome caused by an ATP6V1B2 mutation[J]. *Clin Case Rep*, 2017, 5: 376—379.
- [17] VIND-KEZUNOVIC D, TORRING P M. A Danish family with dominant deafness-onychodystrophy syndrome[J]. *J Dermatol Case Rep*, 2013, 7: 125—128.
- [18] KAWASAKI-NISHI S, NISHI T, FORGAC M. Proton translocation driven by ATP hydrolysis in V-ATPases[J]. *FEBS Lett*, 2003, 545: 76—85.
- [19] WAGNER C A, FINBERG K E, BRETON S, et al. Renal vacuolar H⁺-ATPase [J]. *Physiol Rev*, 2004, 84: 1263—1314.
- [20] SCHUMACHER K, KREBS M. The V-ATPase; small cargo, large effects[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2010, 13: 724—730.
- [21] FORGAC M. Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 917—929.
- [22] WILKENS S, INOUE T, FORGAC M. Three-dimensional structure of the vacuolar ATPase. Localization of subunit H by difference imaging and chemical cross-linking [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 41942—41949.
- [23] ZHANG Z, ZHENG Y, MAZON H, et al. Crystal structure of A3B3 complex of V-ATPase from *Thermus thermophilus*[J]. *EMBO J*, 2009, 28: 3771—3779.

(收稿日期: 2018-04-17)