

## 白族、彝族非综合征性耳聋人群 SLC26A4 基因突变分析\*

林 垦<sup>1</sup>, 马 静<sup>1</sup>, 王美兰<sup>1</sup>, 李正才<sup>1</sup>, 娄 凡<sup>1</sup>, 毛志勇<sup>1</sup>, 张铁松<sup>1</sup>, 阮 标<sup>2</sup>

(1. 昆明市儿童医院耳鼻喉头颈外科, 昆明 650228;

2. 昆明医科大学第一附属医院耳鼻咽喉科, 昆明 650000)

**摘要:**目的 分析云南地区白族、彝族非综合征性耳聋人群 SLC26A4 基因的突变特征。方法 采集 2010 年 1 月~2016 年 5 月昆明市儿童医院耳鼻喉科门诊散发的 234 例非综合征性耳聋患者(白族 132 例, 彝族 102 例)外周静脉血, 提取基因组 DNA, 应用飞行时间质谱技术对 SLC26A4 基因(281C→T, 589G→A, IVS7-2A→G, 1174A→T, 1226G→A, 1229C→T, IVS15+5G→A, 1975G→C, 2027T→A, 2162C→T, 2168A→G)的 11 个常见突变位点进行检测分析。所有患儿经过临床检查均确诊为非综合征性中度、重度以上感音神经性耳聋。**结果** 132 例白族患者中 SLC26A4 基因突变 12 例, 突变率 9.09%, 突变方式有纯合突变(IVS7-2A→G 4 例), 复合杂合突变(IVS7-2A→G/1229C→T 2 例), 杂合突变(IVS7-2A→G 2 例, IVS15+5G→A 2 例, 2027T→A 2 例); 102 例彝族患者中 SLC26A4 基因突变 12 例, 突变率 11.76%, 突变方式有纯合突变(IVS7-2A→G 3 例), 杂合突变(IVS7-2A→G 3 例, 1174A→T 6 例)。白族、彝族所有病例中有 10 例影像学诊断为大前庭导水管综合征(双侧)。**结论** IVS7-2A→G 突变是白族、彝族非综合征性耳聋人群中 SLC26A4 基因的主要突变位点, 并且部分突变患者对应其颞骨 CT、头颅 MRI 显示为前庭导水管扩大及内淋巴囊扩大, 通过 SLC26A4 基因检测可以明确前庭导水管扩大患者的症前诊断。

**关键词:** 白族; 彝族; 非综合征性耳聋; SLC26A4 基因; 突变

**中图分类号:** R764.43; Q754 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)06-028-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.06.008

## Analysis of SLC26A4 Gene Mutations in Bai and Yi People with Non-Syndromic Hearing Loss

LIN Ken<sup>1</sup>, MA Jing<sup>1</sup>, WANG Mei-lan<sup>1</sup>, LIN Zheng-cai<sup>1</sup>, LOU Fan<sup>1</sup>, MAO Zhi-yong<sup>1</sup>,  
ZHANG Tie-song<sup>1</sup>, RUAN Biao<sup>2</sup> (1. Department of Otolaryngology Head and Neck,  
Kunming Children's Hospital, Kunming 650228, China; 2. Department of Otolaryngology,  
the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650000, China)

**Abstract:** **Objective** To study mutation characteristics of SLC26A4 gene in Bai and Yi people with non-syndromic hearing loss (NSHL) in Yunnan province. **Methods** Peripheral blood was collected and the DNA templates were extracted from 234 NSHL Bai (132) and Yi (102) people who were sporadically identified in otology clinics of Kunming Children's Hospital in January 2010~May 2016. TOF-MS Technology was used to detect the eleven mutations sites of SLC26A4 including 281C→T, 589G→A, IVS7-2A→G, 1174A→T, 1226G→A, 1229C→T, IVS15+5G→A, 1975G→C, 2027T→A, 2162C→T, 2168A→G. All children received clinical examination have been diagnosed medium and severe sensorineural deafness with non-syndrome. **Results** In the 132 Bai patients, 12 cases (9.09%) of SLC26A4 mutations were detected. The way of SLC26A4 gene mutations including homozygous mutation (IVS7-2A→G, n=4), heterozygosity mutation (IVS7-2A→G, n=2, IVS15+5G→A, n=2, 2027T→A, n=2), double heterozygosity mutation (IVS7-2A→G/1229C→T, n=2) were found in Bai people. In the 102 Yi patients, 12 cases (11.76%) of SLC26A4 mutations were detected. The way of SLC26A4 gene mutations including homozygous mutation (IVS7-2A→G, n=3), heterozygosity mutation (IVS7-2A→G, n=3, 1174A→T, n=6). Were found in Yi people. In all patients 10 cases diagnosed as large vestibular conduct syndrome (double side) by imaging. **Conclusion** IVS7-2A→G was the main mutant form of SLC26A4 gene. In Bai and Yi people with non-syndromic hearing loss. Vestibular aqueduct and the large endolymphatic sac showed by temporal bone CT, head MRI in some patients with mutations. Through SLC26A4 gene be detected can get a definitive diagnosis of vestibular aqueduct expand before Onset of symptoms. **Keywords:** bai; yi; non-syndromic hearing loss; SLC26A4 genes; mutation

\* 基金项目: 云南省科技厅应用基础研究项目(2013FZ243), 云南省卫生科技计划项目(2014NS054), 云南省应用基础研究(昆医联合专项 2015FB090)。

作者简介: 林 垦(1982-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事小儿耳鼻喉头颈外科, Tel: 13769186698, E-mail: 526823761@qq.com。

通讯作者: 马 静, 男, 博士, 副教授, 主要从事小儿耳鼻喉头颈外科, Tel: 13888959101, E-mail: majing@etyy.cn。

SLC26A4 基因位于人类染色体 7q31, 其 mRNA 全长 4 930 bp, 含 21 个外显子, 开放阅读框 2 343 bp, 编码 780 个氨基酸 Pendrin。SLC26A4 基因突变可导致常染色体隐性耳聋和 Pendred 综合征。非综合征型耳聋占有遗传性耳聋的 70%, 这其中 80% 为常染色体隐性遗传。大前庭导水管综合征 (enlarge vestibular aqueduct syndrome, EVAS) 是常染色体隐性遗传性耳聋的常见类型。EVAS 的发生与 SLC26A4 基因突变关系密切。云南目前少数民族聋病的分子遗传学的病因研究报道相对较少。本文针对云南地区白族、彝族非综合征型耳聋患者检测 SLC26A4 基因编码区的核苷酸序列变化, 探索聋病的分子病因, 为少数民族聋病的遗传咨询和预防提供重要依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 研究对象: 采集 2010 年 1 月~2016 年 5 月昆明市儿童医院耳鼻喉科门诊散发的 234 例白族、彝族中度、重度以上的非综合征型耳聋患者外周血, 提取 DNA。所有患儿经过临床检查均确诊为非综合征性中度、重度以上的感音神经性聋。包括 132 例白族, 女性 46 例, 男性 86 例, 年龄 10 月~18 岁; 102 例彝族, 男性 63 例, 女性 39 例, 平均年龄 8 月~18 岁。该研究经本院医学伦理委员会决议通过, 家属签署知情同意书。

1.1.2 主要仪器和试剂: ABI 3730XL 测序仪, 美国 ABI9700 PCR 仪, Mass ARRAY 微量点样系统以及试剂盒, 美国 Sequenom 公司的 Mass ARRAY DNA 质谱阵列基因分析系统。

### 1.2 方法

1.2.1 临床资料采集: 通过监护人及本人掌握被检测者的病史及家族史资料, 其内容包括耳聋病史、家族史、聋儿出生史、个人史 (耳毒性药物应用情况、头部外伤史) 等。对所有耳聋患者进行全面的临床检查 (颞骨 CT 和头颅 MRI 检查) 和听力学评估 (耳声发射、听性脑干诱发电位), 并抽取外周静脉血 5ml 以进行基因组 DNA 的制备及基因突变筛查。

1.2.2 飞行时间质谱 (time of flight mass spectrometry, TOF-MS) 技术检测: 采集患者 5 ml 外周静脉血液样本行备用检测, 对样本提取 DNA 后行定量和纯度检测, 引物扩增和延伸, 利用虾碱式磷酸酶对 PCR 产物进行处理, 以去除扩增反应中剩余的 dNTP, 产物纯化, 去除盐离子。实验过程及数据统计由华大基因公司协助完成。

## 2 结果

2.1 TOF-MS 检测 云南地区白族、彝族非综合征型耳聋人群中 SLC26A4 基因突变频率最高的位点为 IVS7-2A>G, 突变峰图见图 1。

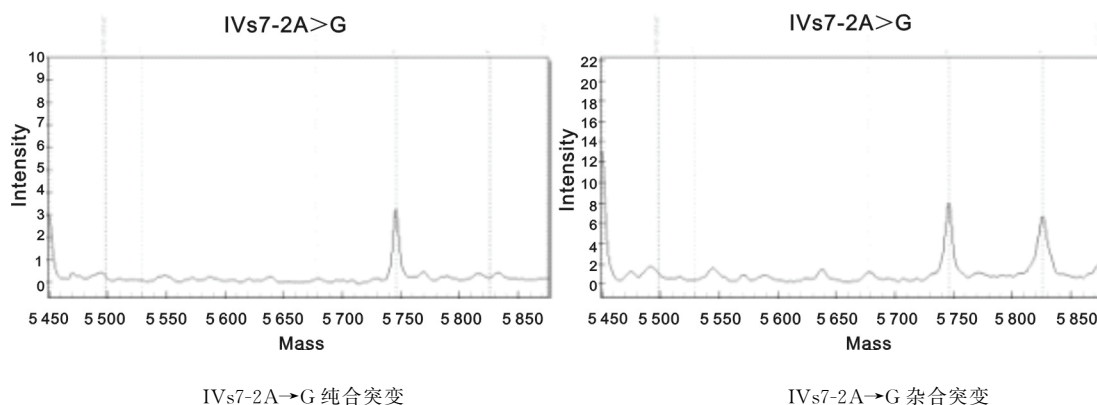


图1 TOF-MS检测 SLC26A4 基因突变峰图

2.2 基因突变情况 132 例白族、102 例彝族非综合征型耳聋患者 SLC26A4 基因总突变率分别为 9.09% 和 11.76%, 其突变位点和突变方式见表 1。281C→T, 589G→A, 1226G→A, 1975G→C, 2162C→T, 2168A→G 位点在白族、彝族被检人群中未发现突变。

2.3 影像学检查 颞骨薄层高分辨率 CT 及头颅 MRI 检查, 针对筛查出 SLC26A4 基因突变的患者进行影像学结果分析, 对应其 CT 及 MRI 结果显

示约 42% 的患者有前庭导水管扩大及内淋巴囊扩大 (见图 2), 24 例 SLC26A4 基因突变患者中有 10 例颞骨 CT 显示双侧前庭导水管扩大及内淋巴囊扩大。

3 讨论 大量研究表明前庭导水管扩大性耳聋与 SLC26A4 基因突变有密切相关。71.9% 的大前庭导水管综合征患者中可以发现 SLC26A4 基因突变, 2% 的正常人可携带 SLC26A4 基因突变, 其影像学检查结果多显示前庭导水管或内淋巴囊扩

大<sup>[1]</sup>。但耳聋基因突变在不同种族、不同地域有很大的差异<sup>[2]</sup>。因此研究云南地区少数民族耳聋患者易感基因的突变有重要意义。居住相对集中的白族和彝族人口基数大,取材相对其他少数民族较易,故针对白族和彝族耳聋人群基因进行调查分析。

表 1 132 例白族、102 例彝族非综合征型耳聋患者 SLC26A4 基因突变情况(例)

| 项 目    |   | 白 族       |         |            |         | 彝 族       |         |
|--------|---|-----------|---------|------------|---------|-----------|---------|
|        |   | IVs7-2A→G | 1229C→T | IVS15+5G→A | 2027T→A | IVs7-2A→G | 1174A→T |
| 杂合突变   | 男 |           |         | 2          | 2       | 3         | 3       |
|        | 女 | 2         |         |            |         |           | 3       |
| 纯合突变   | 男 | 4         |         |            |         |           |         |
|        | 女 |           |         |            |         | 3         |         |
| 复合杂合突变 | 男 |           | 2       |            |         |           |         |
|        | 女 |           |         |            |         |           |         |
| 突变率(%) |   | 6.06*     |         | 1.52       | 1.52    | 5.88      | 5.88    |

注:突变率是 IVs7-2A→G 与 1229C→T 的和/132 而来。

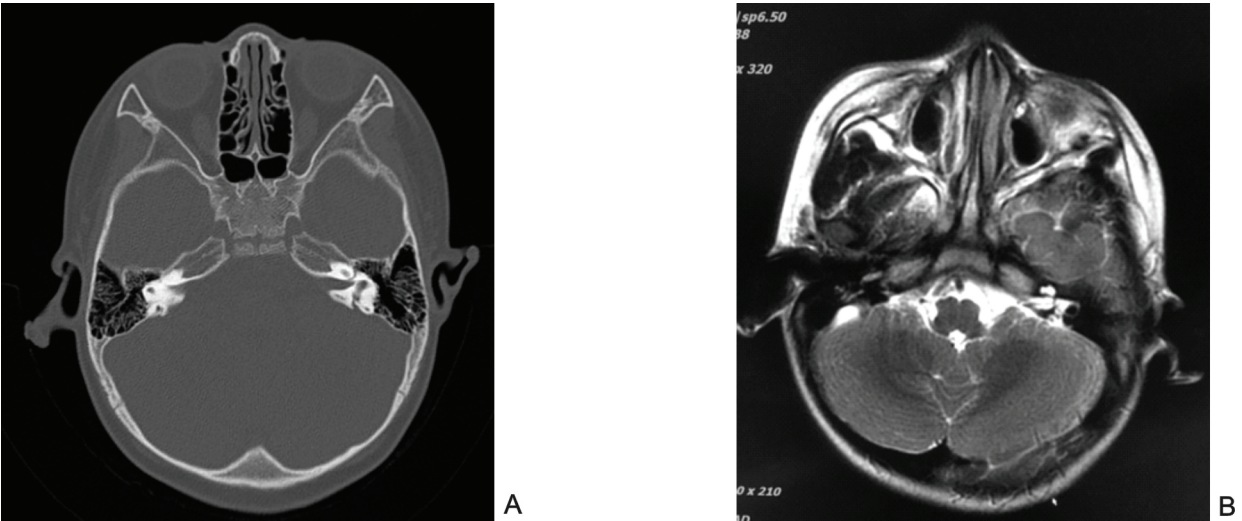


图 2 A 图为 CT 示左侧前庭导水管扩大明显;B 图为 MRI 显示左侧内淋巴囊扩大

SLC26A4 基因在中国突变频率最高的类型是 IVS7-2A>G(纯合)<sup>[3]</sup>, IVS7-2A>G(杂合)<sup>[4]</sup>(也称作 c. 919-ZA>G)位于外显子 8 剪切位点的位置,即内含子 7 的 3'末端,其突变使前体 mRNA 不能正常剪接,外显子 8 整个丢失,外显子 7 和外显子 9 直接相连,从而导致 Pendrin 的翻译发生移框或提前终止,影响 Pendrin 的结构和功能。袁永一等<sup>[5]</sup>在对 263 例大前庭导水管患者进行 SLC26A4 基因热点突变区域筛查方案探讨时发现,除了已知的 IVS7-2A>G 外,中国人群中 SLC26A4 基因热点突变还包括 IVS15+5G→A, 281C→T, 2027T→A, 589G→A, 1174A→T, 2168A→G, 1226G→A, 1229C→T, 1975G→C, 2162C→T。SLC26A4 基因突变可导致前庭导水管扩大或伴其它内耳畸形。前庭导水管扩大综合征患者其 SLC26A4 基因在不同地区和国家突变类型也不尽相同。该研究应用飞行时间质谱技术

对云南地区白族、彝族非综合征型耳聋人群 SLC26A4 基因的 11 个位点进行筛查,与其它基因检测方法比较,具有高通量、准确、覆盖率高、低成本等特点<sup>[7]</sup>。发现白族、彝族非综合征型耳聋人群 SLC26A4 基因突变的主要位点是 IVS7-2A>G。其 SLC26A4 基因纯合突变的患者在听力障碍方面发病时间不一,听力损失水平也有极大的个体差异<sup>[8]</sup>,并且部分患者颞骨 CT 及 MRI 显示前庭导水管扩大及内淋巴囊扩大,这在前庭导水管综合征的分子病因及影像学诊断有高度一致性,对筛查出 SLC26A4 基因纯合突变、复合杂合突变的患者进行听力指导有重要意义。陈鑫苹等<sup>[8]</sup>报道的 IVS7-2A>G 突变其颞骨 CT 前庭导水管的影像学表现并不一致,可能在致聋病因中,存在其他基因突变可能。针对此种情况,本研究就影像确诊为前庭导水管综合征,而未明确 SLC26A4 分子病因的患者,需进一步行直接测序,筛查是否存在新的

突变位点,以待发现少数民族 SLC26A4 基因新的突变特征。本研究采用的是对常见的目的基因进行检测,对发现少数民族耳聋基因新的突变位点存在缺陷,但是通过收集的病例检测证实 IVS7-2A>G 也是白族、彝族的主要突变位点。王艳莉等<sup>[9]</sup>在宁夏 336 例非综合征型聋学生中检测到 IVS7-2A>G 和 2168A>G(H723R)等位基因频率分别为 9.08% 和 2.98%;贾婧杰等<sup>[10]</sup>在山东省滨州特教学校 78 名重度聋学生中检测到 SLC26A4 IVS7-2A>G 的携带率为 5.13%。本次研究白族 SLC26A4 基因 IVS7-2A>G 突变率 6.06%,彝族 SLC26A4 基因 IVS7-2A>G 突变率 5.88%,未检出 2168A>G(H723R)突变,IVS7-2A>G 其突变率接近国内报道水平。由于耳聋病因学非常复杂,涉及的相关基因也非常之多,需要更多的临床数据归类总结。本次数据结果是针对昆明市儿童医院耳鼻喉科门诊就诊的散发白族、彝族耳聋患者,在今后的研究中需进一步补充数据。在临床中针对筛查出携带致聋基因突变的人群,对其婚配、用药和听力损失防护等方面可进行很好的干预和指导<sup>[11]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 戴 朴,韩东一,冯 勃,等.大前庭水管综合征的基因诊断和 SLC26A4 基因突变分析[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2006,13(5):303-307.  
Dai P, Han DY, Feng B, et al. Genetic testing for the enlarged vestibular aqueduct syndrome and mutation analysis of the SLC26A4 gene[J]. Chinese Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2006, 13 (5):303-307.
- [2] Häkli S, Luotonen M, Sorri M, et al. Audiological follow-up of children with the m. 1555A>G mutation in mitochondrial DNA [J]. Audiol Neurotol, 2013, 18 (1):23-30.
- [3] 戴 朴,朱秀辉,袁永一,等. Pendred 综合征基因热点突变筛查赤峰市聋哑学校大前庭水管综合征患者 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006, 41(7): 497-500.  
Dai P, Zhu XH, Yuan YY, et al. Patients suffered from enlarged vestibular aqueduct syndrome in Chifeng deaf and dumb school detected by Pendred's syndrome gene hot spot mutation screening[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2006, 41(7): 497-500.
- [4] Yang JJ, Tsai CC, Hsu HM, et al. Hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct and Mondini dysplasia is caused by splice-site mutation in the PDS gene[J]. Hear Res, 2005, 199(1-2): 22-30.
- [5] 袁永一,王国建,黄德亮,等.大前庭水管相关 SLC26A4 基因热点突变区域筛查方案探讨[J]. 中华耳科学杂志, 2010, 8(3): 292-295.  
Yuan YY, Wang GJ, Huang DL, et al. Screening strategies for SLC26A4 gene hot spot mutation regions in patients with enlarged vestibular aqueduct in China [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2010, 8(3): 292-295.
- [6] 曾 云,姜 丹,冯大飞,等.飞行时间质谱检测技术在非综合征型耳聋基因检测中的应用[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(12): 985-990.  
Zeng Y, Jiang D, Feng DF, et al. Application of MALDI-TOF-MS in gene testing for non-syndromic hearing loss[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2013, 48(12): 985-990.
- [7] 王翠翠,戴 朴,韩东一.微创人工耳蜗植入术后残余听力保留的效果观察[J]. 中华耳科学杂志, 2013, 11 (3): 375-379.  
Wang CC, Dai P, Han DY. Preservation of residual hearing after minimally invasive cochlear implantation [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2013, 11 (3): 375-379.
- [8] 陈鑫苹,符 征,符生苗,等.海南地区非综合征遗传性耳聋四个常见基因突变的分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(5): 34-37.  
Chen XP, Fu Z, Fu SM, et al. Study the mutation screening of GJB3, GJB2, mtDNA, SLC26A4, gene in hainan population with non-syndromic hearing impairment [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(5): 34-37.
- [9] 王艳莉,朱一鸣,刘晓雯,等.宁夏回族自治区 336 例非综合征型耳聋患者分子遗传病因学分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2012, 47(9): 760-763.  
Wang YL, Zhu YM, Liu XW, et al. Analysis of the hereditary etiology of 336 patients with non-syndromic sensorineural hearing loss from Ningxia Hui Autonomous Region of China [J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2012, 47 (9): 760-763.
- [10] 贾婧杰,袁永一,戴 朴,等.山东省滨州市特教学校耳聋学生分子病因学分析[J]. 中华耳科学杂志, 2010, 8(4): 407-410.  
Jia JJ, Yuan YY, Dai P, et al. Molecular etiology analysis among students with profound hearing loss in a special education school in Shandong [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2010, 8(4): 407-410.
- [11] Schimmenti LA, Warman B, Schleiss MR, et al. Evaluation of newborn screening bloodspot-based genetic testing as second tier screen for bedside newborn hearing screening [J]. Genet Med, 2011, 13 (12): 1006-1010.

收稿日期:2016-07-25

修回日期:2016-09-26