

遗传性耳聋家庭的产前诊断

杜莉¹ 韩冰⁴ 关洪波² 何蓉³ 康东阳⁴ 戴朴⁴

(中国医科大学 附属盛京医院 1. 耳鼻喉科; 2. 妇产科; 3. 基因诊断实验室, 沈阳 110004; 4. 解放军总医院耳鼻咽喉-头颈外科, 北京 100853)

摘要:目的 通过1个典型的有再生育要求的遗传性耳聋家庭病例, 阐述聋病基因产前诊断的内容、过程及其在为耳聋家庭提供科学的生育指导中的意义。方法 采集患有先天性耳聋的先证者及其父母的外周血并提取DNA, 进行*GJB2*、*SLC26A4*(*PDS*)基因分析。明确受检者基因型并向该家庭提供遗传学信息后, 在母亲妊娠24周时行羊水穿刺产前诊断取材并提取DNA, 继之行聋病基因诊断, 明确胎儿的基因型。结果 先证者携带*SLC26A4*(*PDS*)中IVS7-2A>G纯合性突变, 后经颞骨CT证实其双前庭水管扩大, 父母携带IVS7-2A>G杂合性突变, 母亲再次怀孕后产前诊断显示胎儿为IVS7-2A>G纯合性突变者。先证者父母选择了终止妊娠。结论 遗传性耳聋的产前诊断可为耳聋家庭提供科学的生育指导, 有效地避免聋儿的出生。

关键词: 遗传性耳聋; 产前诊断; *SLC26A4*(*PDS*)基因; *GJB2*基因; 基因诊断

中图分类号: R764.43

文献标志码: A

文章编号: 0258-4646(2009)05-0382-03

Prenatal Diagnosis of a Family Suffering Hereditary Deafness

DU Li¹ HAN Bing⁴ GUAN Hong-bo² HE Rong³ KANG Dong-yang⁴ DAI Pu⁴

(1. Department of Otolaryngology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; 3. Gene Diagnosis Laboratory, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; 4. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

Abstract Objective To expatiate on the content, procedures and significance of the prenatal diagnosis of deafness gene and guidance for a family with hereditary deafness. **Methods** The peripheral blood was collected from the deaf proband and his parents. After DNA was extracted, direct sequencing was used to detect the *GJB2* and *SLC26A4* mutations. The family was counselled regarding the genetic information and the prenatal diagnosis was carried out at 24 weeks of the second gestation. DNA extracted from the amniotic fluid cast-off cells underwent the genetic testing of *GJB2* and *SLC26A4* mutations. **Results** The proband was proven to carry IVS7-2A>G homozygous mutation while his parents carried IVS7-2A>G heterozygous mutations. The proband's temporal bone CT confirmed that the proband's vestibule canal was enlarged. Genetic testing results showed that the fetus carried the same mutation as the proband. So this family chose to stop the gestation.

Conclusion Prenatal diagnosis accompanied with genetic testing can provide scientific genetic instructions to the hereditary deafness family.

Key words: hereditary deafness; prenatal diagnosis; *SLC26A4*(*PDS*) gene; *GJB2* gene; gene diagnosis

耳聋是一种严重影响语言交流的常见病。至少有50%的先天性耳聋是由遗传性因素造成, 即遗传性耳聋, 它包括综合征性耳聋及非综合征性耳聋。非综合征性耳聋占遗传性耳聋的70%, 其中的77%为常染色体隐性遗传^[1]。最近, 在国内开展的大规模耳聋流行病学研究表明, 相当一部分非综合征性耳聋仅由为数不多的几个基因突变引起^[2], 如*GJB2*^[3]占21%、*SLC26A4*(*PDS*)^[4]占14.5%、及mtDNA12 sRNA^[5]占3.8%等, 因此, 通过聋病基因检测可以为我国近40%的耳聋患者明确遗传学诊断, 并为聋病基因的产前诊断提供了理论依据。本研究通过对一耳聋家庭进行产前诊断的实践, 总结出了

遗传性耳聋的产前诊断的内容、过程及意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

先证者为男性, 3岁, 先天性耳聋。其父母的听力均正常。无先天性耳聋家族史。

1.2 主要仪器与试剂

筛查型的耳声发射仪 DPOAE 或 TEOAE + AABR(丹麦 MADSEN 公司); 诊断型声导抗+诊断型耳声发射+诊断型听性脑干反应 (auditory brain-stem response, ABR)(丹麦 MADSEN 公司); 64 排 CT(美国 PHILIP 公司); Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.3.0(大连宝生物公司); PE-9700 PCR 仪(美国 Perkin-Elmer 公司); ABI 3100 全自动测序分析仪(美国 PE 公司); 分析测序结果使用 Gentool 1.2 软件。

基金项目 辽宁省教育厅高校科研基金资助项目(2008766)

作者简介 杜莉(1969-) 女, 副教授, 博士。

E-mail: duli@yaho.com.cn

收稿日期 2009-01-31

1.3 方法

1.3.1 对先证者进行常规体格检查、听力学检查及颞骨 CT 检查。

1.3.2 采集先证者及其父母的外周血各 3 ml, 常规方法提取组织 DNA、*GJB2* 基因全序列检测、*SLC26A4*(*pos*)(Exon 7+8) IVS7-2A>G 突变检测^[5]。此家庭在接受检测之前签署了聋病基因检测知情同意书。

1.3.3 明确先证者及其父母的基因型确定突变位点后, 向此家庭提供详尽的耳聋遗传信息。

1.3.4 母亲怀孕后自愿要求行聋病基因产前诊断, 在签署聋病基因产前诊断知情同意书后, 于妊娠 24 周行超声引导下羊水穿刺抽取羊水。经离心获得羊水脱落细胞, 提取 DNA(具体方法见试剂盒操作说明书)。检测相应位点即父母与先证者所确定的突变位点, 判断胎儿的基因型, 根据检测结果向父母提供遗传信息及生育指导。

2 结果

2.1 先证者为双耳极重度感音神经性耳聋, ABR 显示双耳>100 dBnHL, 均未引出反应; 耳声发射: 双耳 DPOAE 及 TEOAE 均为异常; 声导抗: 双耳鼓室图为 A 型, 声反射消失。颞骨 CT 检查示: 双侧前庭水管扩大。全身检查无其他系统异常。

2.2 常见耳聋基因检测

先证者 *GJB2* 基因 DNA 全序列分析正常, *PDS* 基因 IVS7-2A>G 位点 DNA 序列分析 (Exon7+8) IVS7-2A>G 纯合性突变 (图 1); 其父母存在 IVS7-2A>G 杂合性突变 (图 2)。

G T T T T A T T T C G G A C G A T A A T T

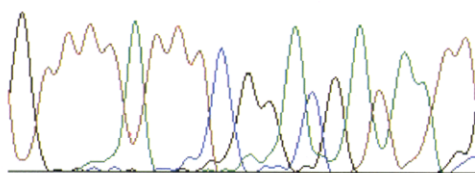


图 1 先证者及胎儿的 IVS7-2A>G 位点 DNA 序列分析: 存在 IVS7-2A>G 纯合性突变

Fig.1 The proband's and the fetus' DNA sequence analysis of IVS7-2A>G site; the proband and the fetus carried IVS7-2A>G homozygous mutation

2.3 先证者遗传咨询

PDS 基因突变与大前庭水管综合征和耳蜗畸形有非常密切的关系, 通过 DNA 序列分析发现先证者

G T T T T A T T T C N G A C G A T A A T T

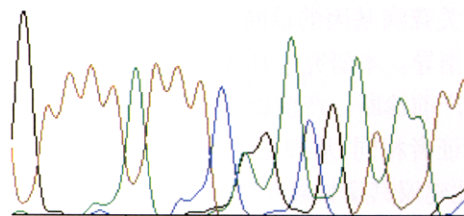


图 2 先证者父母的 IVS7-2A>G 位点 DNA 序列分析: 存在 IVS7-2A>G 杂合性突变

Fig.2 The parents' DNA sequence analysis of IVS7-2A>G site: the parents carried IVS7-2A>G heterozygous mutation.

存在有 IVS7-2A>G 纯合性突变。其父母存在 IVS7-2A>G 杂合性突变。此结果确定先证者为遗传性耳聋。提示 (1)先证者突变的基因分别来自于其父亲和母亲, 两者对先证者耳聋的贡献相同 (2)父母生育第二胎出现聋儿的机会为 25% (3) 可以通过产前诊断指导生育, 以避免再次生育聋儿 (4)先证者的同胞有 50%的几率携带有致病突变基因 (5)建议先证者本人的配偶进行相应位点检测, 从而预防其生育耳聋后代。

2.4 产前诊断

胎儿为 *SLC26A4*(Exon7+8)IVS7-2A>G 纯合性突变 (图 1)。

2.5 胎儿遗传咨询

产前诊断的结果提示, 胎儿与先证者具有相同的聋病基因型, 从理论上会重复先证者的听力表型。故此家庭选择了终止妊娠, 以防止再生育聋儿。

3 讨论

将产前诊断技术结合聋病基因的检测可以使我们了解胎儿携带聋病基因的情况, 从而做出是否为遗传性耳聋的诊断。目前能应用聋病基因产前诊断的对象为常染色体隐性遗传的 *GJB2* 与 *SLC26A4* 耳聋家庭。

耳聋产前诊断的流程如下: 门诊就医行相关检查, 包括常规查体、听力学检查及颞骨 CT, 根据检查结果, 给予初步遗传咨询与指导, 签署知情同意书, 对先证者行聋病基因检测, 根据检测结果确定先证者相关聋病基因的确诊; 确定先证者为遗传性耳聋后, 对其父母行聋病基因检测确定基因型以验证先证者的突变基因分别来自父母; 再次行遗传咨询与指导, 签署产前诊断知情同意书, 母亲怀孕后根据妊娠期不同阶段采取相应的胎儿组织: 妊娠早期 (约 9~12 周) 羊绒毛膜取样, 妊娠中期 (约 16~20 周) 羊

水取样,妊娠晚期(约 22~37 周)脐带血取样,对胎儿行相关聋病基因的诊断,根据诊断结果进行遗传学生育指导。本研究中耳聋家庭正是按上述的流程进行了产前诊断。产前诊断结果提示胎儿的聋病基因与先证者相同,从理论上可重复先证者的听力表型,因此建议其家长放弃妊娠,有效地防止了又一个聋儿的出生。

若先证者常见聋病基因检测结果为阳性,特别是确定为 *GJB2* 与 *SLC26A4* 基因突变导致的耳聋,由于此两种耳聋为常染色体隐性遗传,多数情况下其父母再生育聋儿的风险为 25%,再次怀孕时可进行胎儿的产前诊断。胎儿有 75%的可能会仅携带一条(50%)或不携带(25%)突变的等位基因,预测其不会重复第一个聋儿的听力结构,胎儿有 25%的可能将会与第一个聋儿的基因型相同,理论上提示其出生后将患有遗传性耳聋,应尽早进行选择。本研究中的家庭选择了放弃妊娠。

通过本研究家庭的聋病基因的产前诊断的实践,充分显示了耳聋产前诊断是预防、阻断遗传性耳

聋的有效方法。耳聋的产前诊断必将为我国聋人家庭及通过聋病基因筛查出的携带者家庭中防止聋儿的出生做出它应有的贡献。

本研究在解放军总医院耳聋分子研究中心大力帮助下完成,特致谢意。

参考文献:

- [1] White KR. Early hearing detection and intervention programs: opportunities for genetic services [J]. *Am J Med Genet* 2004, 130A(1): 29-36.
- [2] 刘学忠, 欧阳小梅, Yan D, 等. 中国人群遗传性耳聋研究进展[J]. *中华耳科杂志* 2006, 4(2): 81-89.
- [3] 于飞, 戴朴, 韩东一. *GJB2* 基因突变及语前遗传性非综合征性耳聋[J]. *国外医学耳鼻咽喉科分册* 2005, 29(6): 359-361.
- [4] 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.
- [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杂志* 2005, 40(10): 769-773.

(编辑 王又冬 英文编辑 王又冬)

(上接第 381 页)

- (10): 1129-1131.
- [3] Mace S, Cousin E, Ricard S, et al. ABCA2 is a strong genetic risk factor for early-onset Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Dis* 2005, 18(1): 119-125.
- [4] Mack JT, Townsend DM, Beljanski V, et al. The ABCA2 transporter: intracellular roles in trafficking and metabolism of LDL-derived cholesterol and sterol-related compounds [J]. *Curr Drug Metab*, 2007, 8(1): 47-57.
- [5] Kim WS, Weickert CS, Garner B. Role of ATP-binding cassette transporters in brain lipid transport and neurological disease [J]. *J Neurochem* 2008, 104(5): 1145-1166.
- [6] Mack JT, Beljanski I V, Soulika AM, et al. "Skittish" Abca2 knockout mice display tremor, hyperactivity and abnormal myelin ultrastructure in the central nervous system [J]. *Mol Cell Biol* 2007, 27(1): 44-53.
- [7] Sakai H, Tanaka Y, Tanaka M, et al. ABCA2 deficiency results in abnormal sphingolipid metabolism in mouse brain [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(27): 19692-19699.
- [8] Zhao LX, Zhou CJ, Tanaka A, et al. Cloning, characterization and tissue distribution of the rat ATP-binding cassette (ABC) transporter ABC2/ABCA2[J]. *Biochem J* 2000, 350 Pt (3): 865-872.

- [9] Zhou CJ, Zhao L, Inagaki N, et al. ATP-binding cassette transporter ABC2/ABCA2 in the rat brain: a novel mammalian lysosome-associated membrane protein and a specific marker for oligodendrocytes but not for myelin sheaths[J]. *J Neurosci* 2001, 21(3): 849-857.
- [10] Wang Y, Yamada K, Tanaka Y, et al. Expression of ABCA2 protein in human vestibular schwannoma and peripheral nerve [J]. *J Neurol Sci* 2005, 232(1-2): 59-63.
- [11] Tanaka Y, Yamada K, Zhou CJ, et al. Temporal and spatial profiles of ABCA2-expressing oligodendrocytes in the developing rat brain [J]. *J Comp Neurol* 2003, 455(3): 353-367.
- [12] Jessen KR, Mirsky R. Non-myelin-forming Schwann cells coexpress surface proteins and intermediate filaments not found in myelin forming cells: a study of Ran-2, A5E3 antigen and glial fibrillary acidic protein[J]. *J Neurocytol* 1984, 13(6): 923-934.
- [13] Mirsky R, Jessen KR, Schachner M, et al. Distribution of the adhesion molecules N-CAM and L1 on peripheral neurons and glia in adult rats[J]. *J Neurocytol* 1986, 15(6): 799-815.
- [14] Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. *J Lipid Res* 2001, 42(7): 1007-1017.

(编辑 王又冬 英文编辑 王又冬)