

# X 连锁隐性遗传聋哑(deaf-mute)家系的遗传学特征分析

王秋菊, 杨伟炎, 吴子明, 李庆忠, 郭维维, 仇春燕

(北京复兴路 28 号解放军总医院耳鼻咽喉-头颈外科, 解放军耳鼻咽喉科研究所, 北京 100853)

**摘要:** 在进行中国人群的遗传性耳聋发病情况的调查中, 发现了一个 5 代隔代遗传的聋哑家系(L021 家系)。研究中调查家系成员 64 人, 对其中的 31 人进行了系统的听力学检查, 发现聋哑男性 8 位, 听力表型为全聋及极重度聋, 获得家系成员的血样 31 人份。家系图谱分析显示该家系为 X 连锁隐性遗传性耳聋家系, 为先天性聋哑疾病分子病理机制的研究提供了模板。

**关键词:** 聋哑; 遗传性耳聋; X 连锁; 基因定位

中图分类号: R76

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2004)05-0579-05

## Genetic Analysis in a Chinese Deaf-Mute Family with X linked Recessive Inheritance

WANG Qiu-Ju, YANG Wei-Yan, WU Zi-Ming, LI Qing-Zhong, GUO Wei-Wei, QIU Chun-Yan

(Institute of Otolaryngology, Department of Otorhinolaryngology / Head and Neck Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

**Abstract:** In studying genetic factors in hearing loss among Chinese hearing-impaired population, a Chinese family with deaf-mute that had been reversion inherited through five generations was found (named pedigree L021). X linked recessive inheritance was hypothesized to be the transmission in this family. A total of 64 members in this family were investigated. Of these, audiometric evaluation was performed on 31 members, including 8 males with deaf-mute. Most affected individuals showed deafness or profound sensorineural hearing loss. Blood samples were obtained from 31 consented individuals in this family. Pedigree analysis indicates a X-linked recessive inheritance pattern in pedigree L021. The pedigree described herein provides an excellent model for further study on the molecular mechanism of congenital deaf-mute.

**Key words:** Deaf-mute; Hereditary Hearing Loss; X linked; Gene Mapping

耳聋是导致言语交流障碍的常见疾病。近年来, 遗传性耳聋尤其是遗传性非综合征型耳聋基因研究进展迅速, 已经定位了 98 个非综合征型耳聋基因座(loci), 克隆了 33 个相关基因, 这些基因的克隆为破解听觉障碍的病因病理机制提供了可靠的科学依据<sup>[1,2]</sup>。在非综合征型耳聋中, 常见的遗传方式为常染色体隐性遗传, 占 77%, 临床表型多数为先

天性重度耳聋; 其次为常染色体显性遗传, 占 22%, 临床表型多数为学语后听力下降; X 连锁遗传, 占 1%, 临床表型为先天性耳聋、混合性耳聋及学语后的感音神经性耳聋; 线粒体突变母系遗传, 约为 1%, 临床表型主要为药物性耳聋等<sup>[3]</sup>。非综合征型遗传性耳聋的显性遗传座以前缀“DFNA”表示; 隐性遗传基因座以前缀“DFNB”表示; X 连锁遗传基因

收稿日期: 2003-07-18; 修回日期: 2003-12-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. A30170530 及 No. A30370782) 联合资助 [Supported by grants from National Science Foundation, No. A30170530 and No. A30370782]

作者简介: 王秋菊 (1965-), 女, 辽宁人, 医学博士, 副主任医师, 副教授, 专业方向: 聋病的听力诊断及咨询, 遗传性耳聋基因的定位、克隆。

E-mail: wqcr@263.net; Tel: 010-66936757; Fax: 010-68156974

座以“DFN”表示;修饰基因座以“DFNM”表示。

X 连锁遗传性耳聋在遗传性非综合征型耳聋中所占的比例不大,但是对耳聋基因的发现的贡献却是显著的。第 1 个克隆的非综合征型耳聋基因(*POU3F4* 基因)就是位于 X 染色体上,这个基因的克隆拉开了破解听觉基因的序幕,随后,越来越多的耳聋相关基因被发现<sup>[4]</sup>。目前,X 连锁遗传性耳聋的基因座的排序为 *DFN1* 至 *DFN8*。但其中有意义的基因座只有 *DFN2*、*DFN3*、*DFN4*、*DFN6*、4 个座位,这 4 个基因座中只有 *DFN3* 的相关基因(*POU3F4*)被克隆。而 *DFN1* 基因座及其基因被证明是一个与综合征型耳聋相关的基因<sup>[5,6]</sup>,*DFN5*、*DFN7* 基因座已经被剔除,*DFN8* 基因座的相关信息尚未公开。由此可见,在 X 染色体上的耳聋相关基因的研究尚在初步。在这些定位的基因座中涉及到大小不同的十几个 X 连锁耳聋家系,但至目前,尚无一个中国耳聋家系定位在 X 染色体上。在我们的研究工作中,利用我们建立起来的遗传性耳聋遗传资源收集网络收集的遗传性耳聋家系资源<sup>[7]</sup>,发现了一个典型的 X 连锁隐性遗传聋哑大家系,现将其遗传学特征报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 家系资料的采集

家系的调查由解放军总医院耳鼻咽喉研究所完成,对于该项目的伦理论证由解放军总医院伦理委员会认可。研究中发现的家系位于中国南方某县,先证者为一名 5 岁的先天性聋哑患者。2003 年 3 月,家系采集小组在当地对该患者及其亲属成员进行了家系调查,得到了一个 5 代相传的耳聋家系,将其命名为 L021 家系。本研究获得了 L021 家系现存的 64 人问卷式调查资料及其中的 31 人的系统的听力学检查资料,对签写知情同意的家系成员进行全身系统检查并抽取外周静脉血 10~20 毫升用于基因组 DNA 的提取及保存。

### 1.2 临床听力学检测

本研究中的听力学检测按照如下步骤进行:应用 Madsen 502 便携式听力计(丹麦),耳机为 EAR-3A 插入式耳聋(美国)进行家系成员的纯音测听检查,初步判断听力损失程度;应用 Madsen901(丹麦)声导抗检测仪进行鼓室图及镫骨肌反射的检测,了解中耳传导状况;应用便携式听性脑干诱发电位仪

(SmartEP Intelligent Hearing Systems, America.) 进行听性脑干诱发电位检测,进行听阈阈值测定及是否存在听神经病变的评估。

### 1.3 听力损失的判断标准

根据世界卫生组织(WHO)《障碍、残疾和残废的国际分类》(1980)对语言频率听力损失的 6 个分级即轻度(26~40dB HL)、中度(41~55dB HL)、中重度(56~70dB HL)、重度(71~90dB HL)、极重度(>91dB HL)及全聋<sup>[8]</sup>的标准来诊断的。根据听力下降的频率特性分为(1)高频听力下降型:以 2000~8000Hz 为主的听力损失;(2)低频听力下降型:以 250~1000Hz 为主的听力损失;(3)覆盖(中间)听力下降型:以 250~2000Hz 为主的听力损失;(4)全频听力下降型:以 250~4000Hz 为主的听力损失。

## 2 结 果

### 2.1 L021 家系图谱特征及耳聋成员的性别分布特点

L021 家系图谱的一个显著特征是家系中的聋哑患者均为男性,并且表现出正常女性后代中的男性发病特征(图 1)。图谱中第一个耳聋患者为男性(I-1),其与一个正常女性结婚生育后代为 3 女 1 男,这 4 位成员均无耳聋主诉并具有正常的语言功能。因此,在第二代家系成员中无先天性耳聋患者。到第三代,共有男性 9 人,女性 9 人。发现患者 4 人,均为男性。因此,患者的比例约占男性成员中的 44%。9 位女性均为正常人。此时,系谱图显示的是第一代及第三代隔代发病的情况。至第四代,来自女性后代的男性有 6 人(IV-3,5,9,11,13,14),女性 3 人(IV-2,8,16)。6 位成员中有 3 位为先天性耳聋患者,占男性比例的 50%。而 3 位女性听力均正常。至第五代,1 位患者(V-4)来自听力正常的母亲(IV-8)。而有耳聋的男性患者(IV-5,9)的后代不论男女均为听力正常人。根据如上分析可见,L021 家系图谱的耳聋遗传特征是女性携带,男性发病,隔代遗传的特征。

### 2.2 L021 家系男性耳聋患者的听力学检测结果及表型特征

L021 家系成员中 31 人接受了纯音测听、声导抗测听及听性脑干诱发电位检查,有 8 位男性被诊断为感音神经性耳聋。表 1 显示了 8 位患者的纯音测听的平均听阈(dB HL)结果,平均听阈值计算

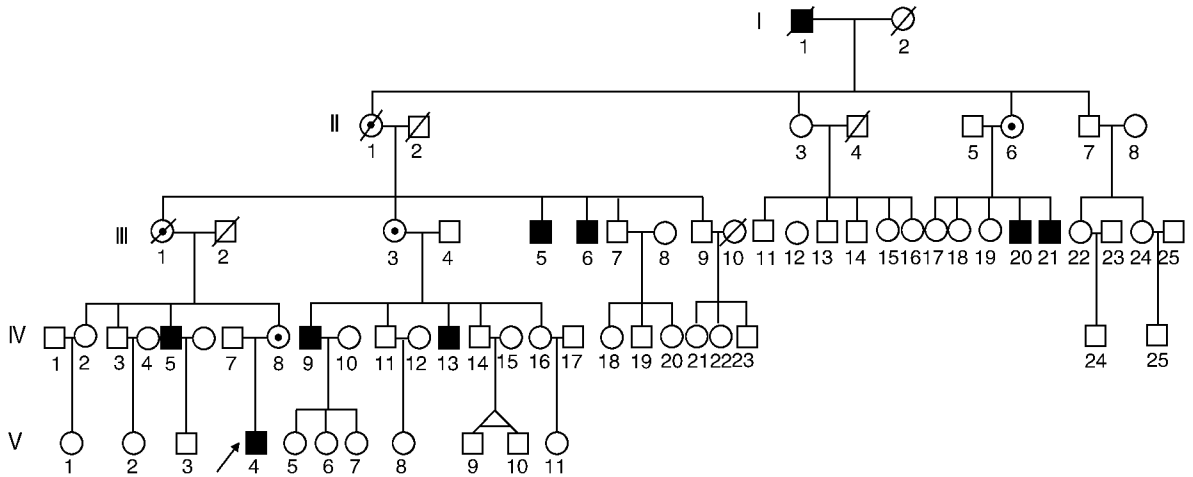


图 1 X 连锁隐性遗传聋哑家系—L021 家系

系谱图说明: □ 男性 ○ 女性 ■ 耳聋患者 ■/∅ 已故 ↗ ■ 先证者 ● 携带者

Fig.1 L021 Pedigree Map — X-Linked Recessive Inheritance of Deaf-Mute

Illustration: □ Male ○ Female ■ Affected ■/∅ Deceased ↗ ■ Proband ● Carrier

表 1 L021 家系耳聋男性患者的听力学检查结果

Table 1 Audiology results for deafness males in L021 pedigree

耳聋患者 Patients	性别 Sex	年龄(岁) Age of test (yrs)	纯音听阈 dB(HL) PTA dB(HL)	听性脑干诱发电位(短声, nHL) ABR(click, nHL)
III-5	男性 Male	55	双耳最大输出频率未引出反应 No response at maxium output on both ears	双耳最大刺激声未引出反应 No response at maxium stimulus sound on both ears
III-6	男性 Male	52	双耳最大输出频率未引出反应 No response at maxium output on both ears	双耳最大刺激声 未引出反应 No response at maxium stimulus sound on both ears
III-20	男性 Male	37	双耳最大输出频率未引出反应 No response at maxium output on both ears	双耳最大刺激声未引出反应 No response at maxium stimulus sound on both ears
III-21	男性 Male	25	双耳最大输出频率未引出反应 No response at maxium output on both ears	双耳最大刺激声 未引出反应 No response at maxium stimulus sound on both ears
IV-5	男性 Male	36	右耳:500Hz 100,1000Hz 105, 余未引出反应 Right: Threshold level is 100 at 500 Hz and 100 for 1000 Hz. The others are no response. 左耳:500Hz 105, 余未引出反应 Left: Threshold level is 100 at 500 Hz and the others are no response.	双耳最大刺激声 未引出反应 No response at maxium stimulus sound on both ears
IV-9	男性 Male	38	右耳:500Hz 110,余未引出反应 Right: Threshold level is 100 at 500 Hz and the others are no response. 左耳:71 Left: PTA is 71	双耳 105 dB(nHL)引出反应 Response at 105 (nHL) on both ear
IV-13	男性 Male	34	右耳:110; Right: PTA is 110 左耳:105 Left: PTA is 105	双耳 105 dB(nHL)引出反应 Response at 105 (nHL) on both ear
V-4	男性 Male	5	不配合检查,以 ABR 测定阈值 No available for testing.	双耳 105 dB(nHL)引出反应 Response at 105 (nHL) on both ear

方法是计算 500Hz, 1000Hz, 2000Hz 频率的气导平均值以及听性脑干诱发电位的检查结果。分析 8 位男性患者的听力学检查结果可见患者 III-5, III-6, III-20, III-2 为双侧对称性全聋, 无残余听力; IV-5, IV-9, IV-13 及 V-4 为极重度耳聋。这 8 位患者在出生后即被发现对声音无反应, 因此为先天性耳聋患者, 由于听力丧失, 患者语言功能未获发育, 成为了聋哑人。8 位耳聋患者均无耳毒性药物的用药史。

### 2.3 L021 家系女性携带者的听力学检测结果

根据 L021 家系男性患者的发病情况, 判断女性携带者分别为 II-1, II-6, III-1, III-3, IV-8。其中 II-1 已逝, 现存 4 位女性携带者, 表 2 显示 4 位携带者的平均听力水平。其中 3 位携带者的年龄超过了 60 岁 (II-6, III-1, III-3), 她们的语言能力完全正常并主诉在 60 岁之前无听力下降, 随着年龄的增长逐渐出现听力损失, 因此考虑为与年龄相关的听力损失。另一位携带者 IV-8 (34 岁) 听力正常。

表 2 L021 家系女性携带者的听力学检查结果

Table 2 Audiology results of female-carriers in L021 pedigree

携带者 Carriers	年龄(岁) Age of test (yrs)	纯音听阈 dB(HL) PTA dB(HL)	
		右耳 Right	左耳 Left
II-6	67	78	52
III-1	65	50	30
III-3	61	35	30
IV-8	34	20	20

### 2.4 L021 家系遗传特征及遗传外显率

对 L021 家系连续 5 代的调查发现家系中的耳聋患者均为男性, 而男性患者的父母亲均为听力语言发育正常的个体, 因此, L021 家系首先被考虑为性连锁遗传性耳聋家系。在性连锁遗传中具有交叉遗传现象的则为 X 连锁隐性遗传。在 L021 家系中 I-1 为男性患者 ( $X^bY$ ) 与正常听力的女性 I-2 ( $X^B X^B$ ) 结婚 (由于第二代中无耳聋患者, 因此设定 I-2 个体为纯合子), 他们的女儿全部为杂合子 ( $X^B X^b$ ), II-1、II-3、II-6, 而儿子 (II-7) 的表型正常, 其从母亲处得到的是  $X^B$ 。在第三代中, 家系中女性后代中有 9 位男性, 患者与正常人的比例为 4:5, 外显率近 50%。至第四代, 携带致病基因的女性 (III-1、III-3  $X^B X^b$ ) 与正常的男性 ( $X^B Y$ ) 结婚, 后代中有 6 位男性, 3 位女

性。6 位男性中患者与正常人的比例为 3:3 即耳聋的外显率为 50%, 3 位女性的表型均正常, 符合 X 连锁隐性遗传的特征。进一步在第五代中又证实了女性携带, 男性发病的交叉遗传的特征, IV-8 的后代男性 (V-4) 发病。

通过遗传系谱分析, 该家系符合 X 连锁隐性遗传特点, 表现为: ①系谱中的患者几乎都是男性; ②男性患者的双亲都无病, 其致病基因来自携带者母亲; ③由于男患者的子女都是正常的, 所以代与代之间可见明显的不连续即隔代遗传的现象。

## 3 讨论

本文报道了一个诊断为“先天性聋哑”的耳聋家系。该家系的临床表型为: (1) 先天性耳聋; (2) 言语功能未发育; (3) 纯音听阈为全聋和极重度聋; (4) 听性脑干反应多数未能引出; (5) 不伴有其他器官系统的异常。遗传特征为 ①男性发病; ②女性为携带者; ③隔代遗传。因此, L021 家系为非综合征型的 X 连锁隐性遗传性聋哑家系。由于该家系的表型特征显而易见, 即先天发病, 言语功能未发育, 表现为聋哑, 因此, 能够与一般的耳聋疾病鉴别出来并能够准确地确立遗传方式。这就使进行进一步的连锁分析, 寻找该家系的致病基因成为可能。

本文所报道的中国 L021-X 连锁隐性遗传性耳聋家系, 具有一定的新颖性。这是因为, 虽然早在 1930 年就有关于 X 连锁遗传性耳聋的家系报道<sup>[9~11]</sup>, 但是这些家系中发病人数少, 遗传方式有的也很难进一步考证。到目前, X 连锁遗传性耳聋的基因座排序上有 8 个, 但具有意义的只有 4 个 *DFN2*、*DFN3*、*DFN4*、*DFN6*。其中 *DFN2* 的表型以重度先天性感音神经性耳聋为主, 为 X 连锁隐性遗传, 定位在 Xq22<sup>[12]</sup>。*DFN3* 的表型可以引起混合型耳聋和镫骨手术时的镫井喷, 定位在 Xq13-q21, 其致病基因已经克隆, 为 *POU3F4* 基因<sup>[4]</sup>。*DFN4* 定位在 Xp21.2, 为 X 连锁显性遗传的感音神经性耳聋家系, 男性患者听力损失为先天性双侧极重度感音神经性耳聋, 并且累及全部频率; 成年女性携带者表现为双侧、轻度到中度的高频感音神经性听力下降<sup>[13]</sup>。*DFN6* 为 X 连锁显性的, 女性携带者为不全外显的, 以进行性感音神经性耳聋为主的耳聋表型, 定位在 Xp22<sup>[14]</sup>。在这些已知的基因座的表型中, *DFN2* 基因座的遗传方式及表型特征与本文报道的

L021 家系相似, *DFN2* 基因尚未被克隆。同时, 我们知道遗传性耳聋最大的特征是遗传的异质性, 即相同表型的耳聋可以由不同基因座的不同基因或者是相同基因的不同突变所造成。因此, 即使表型相似, 基因座未必相同或者是即使基因座相同, 不同的家系的致病基因也不尽相同。因此, 本文报道的 L021 X 连锁隐性遗传性耳聋家系有可能是对 X 连锁有新贡献的家系。在既往的研究中我们可以看到, *DFN2* 基因的定位得益于一个英格兰国家系; *DFN3* 基因的克隆得益于一个荷兰大家系的发现; *DFN4* 的基因定位得益于一个美国国家系和一个土耳其家系; *DFN6* 基因定位得益于一个西班牙家系; 而这些家系的定位工作均在 1999 年之前, 到目前无新的基因座发现。这些已经定位在 X 染色体上的基因座中尚无一个中国家系对此有所贡献。本研究中, 共调查家系成员 5 代, 现存家系成员 4 代, 得到了家系成员 31 人的基因组 DNA。因此, 在遗传方式确定、表型特征明确的情况下进行进一步的基因定位工作简便易行。下一步的工作是应用 ABI Prism Linkage Mapping sets, version 2 基因定位试剂盒中的第 28 panel 对 L021 家系进行 X 染色体的基因定位研究。在第 28 panel 中含有 18 对微卫星遗传标记, 平均距离为 8.6cM, 这 18 对标记含盖了目前已知的 X 染色体上的基因座的信息, 因此, 应用这些标记进行 L021 家系的基因定位工作不论是新的基因座还是已经发表的基因座, 都有望得到该家系耳聋表型在 X 染色体上的定位信息。将一个中国的聋哑家系定位在相关的基因座上, 并应用基因定位的结果对该家系进行进一步的遗传咨询。这些研究一方面对耳聋的分子遗传机制有所贡献, 另一方面对该家系的成员有指导意义, 可以做到防患于未然。

## 参 考 文 献 (References):

- [1] Resendes B L, Williamson R E, Morton C C. At the speed of sound: gene discovery in the auditory system. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(5): 923~935.
- [2] Steel K P, Kros C J. A genetic approach to understanding audi-

tory function. *Nat Genet*, 2001, 27(2): 143~149.

- [3] Morton C C. Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system. *Hum Mol Genet*, 2002, 11: 1229~1240.
- [4] de Kok Y J, van der Maarel S M, Bitner-Glindzicz M, Huber I, Monaco A P, Malcolm S, Pembrey M E, Ropers H H, Cremers F P. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene *POU3F4*. *Science*, 1995, 267(5198): 685~688.
- [5] Jin H, M M, Tranebjaerg L, Kendall E, Fontan G, Jackson J, Subramony S H, Arena F, Lubs H, Smith S, Stevenson R, Schwartz C, Vetrie D., A novel X-linked gene, *DDP*, shows mutations in families with deafness (DFN-1), dystonia, mental deficiency and blindness. *Nat Genet*, 1996, 14(2): 177~180.
- [6] Koehler C M, Leuenberger D, Merchant S, Renold A, Junne T, Schatz G. Human deafness dystonia syndrome is a mitochondrial disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(5): 2141~2146.
- [7] WANG Qiu-Ju, YANG Wei-Yan, HAN Dong-Yi, SHEN Yan. Establishment the system of the collecting, characterizing of the genetic resource for hereditary hearing impairment. *Chin J Otolaryngology*, 2003, 3: 65~69.  
王秋菊, 杨伟炎, 韩东一, 沈岩. 遗传性耳聋遗传资源的收集、保存及利用系统的建立. *中华耳科杂志*, 2003, 3, 65~69.
- [8] International Classification of Impairments, D, and Handicaps World Health Organization Geneva, 1980.
- [9] Dow G S, Poynter C I. The Dar family. *Eugen News*, 1930, 128~130.
- [10] Fraser G R. Sex-linked recessive congenital deafness and the excess of males in profound childhood deafness. *Ann Hum Genet*, 1965, 171~196.
- [11] Deraemaeker R. Sex-linked congenital deafness. *Acta Genet. Statist. Med*, 1958, 228~231.
- [12] Tyson J, Bellaman S, Newton V, Simpson P, Malcolm S, Pembrey M E, Bitner-Glindzicz M. Mapping of *DFN2* to Xq22. *Hum Mol Genet*, 1996, 5(12): 2055~2060.
- [13] Lalwani A K, B J R, Fex J, Grundfast K M, Pikus A T, Ploplis B, San Agustin T, Skarka H, Wilcox E R., A new nonsyndromic X-linked sensorineural hearing impairment linked to Xp21.2. *Am J Hum Genet*, 1994, 55(4): 685~694.
- [14] del Castillo I, V M, Sarduy M, Romero L, Herraiz C, Hernandez F J, Rodriguez M, Borrás I, Montero A, Bellón J, Tapia M C, Moreno F., A novel locus for non-syndromic sensorineural deafness (*DFN6*) maps to chromosome Xp22. *Hum Mol Genet*, 1996, 5(9): 1383~1387.