

高通量测序技术对 II 型 Waardenburg 综合征患者的基因突变分析

任淑敏¹ 孔祥东¹ 吴庆华¹ 焦智慧¹ 陈晨¹ 秦兆冰²

¹郑州大学第一附属医院遗传与产前诊断中心, 郑州 450000; ²郑州大学第一附属医院耳科, 郑州 450000

通信作者: 孔祥东, Email: kongxd@263.net

【摘要】 目的 对 4 个 II 型 Waardenburg 综合征 (WS) 患者进行耳聋基因突变筛查, 探讨可能的分子遗传学机制。方法 回顾性分析 2015 年 8 月至 2018 年 12 月间就诊于郑州大学第一附属医院遗传与产前诊断中心的 4 个 II 型 WS 家系的临床资料。抽取患者及家系成员外周血标本, 应用高通量测序技术 (next generation sequencing, NGS) 对患者进行耳聋基因检测, 并对可疑基因突变进行 Sanger 测序验证和家系验证。结果 4 例患者均携带 SOX10 基因杂合突变, 突变位点分别为 c.355_356insTCAGGCAGCGC、c.1106_1107insTGGGGCCCCCACAATA、c.511T>C (p.Y171H)、c.91_100del, 根据美国医学遗传学与基因组学学会 (the American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 制定的变异解读指南, 3 个移码突变判定为致病突变, 1 个错义突变判定为可能致病突变。结论 应用高通量测序技术可以高效准确地对 WS 患者进行基因诊断。

【关键词】 Waardenburg 综合征; 高通量测序; 基因

DOI:10.3760/ema.j.cn112137-20190730-01692

Analysis of genetic variation in patients with Waardenburg syndrome type II by next generation sequencing

Ren Shumin¹, Kong Xiangdong¹, Wu Qinghua¹, Jiao Zhihui¹, Chen Chen¹, Qin Zhaobing²

¹Genetic and Prenatal Diagnosis Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; ²Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Kong Xiangdong, Email: kongxd@263.net

【Abstract】 Objective To detect gene mutation associated with deafness in four Waardenburg syndrome (WS) type II patients, and to explore the possible mechanism of molecular genetics. **Methods** All patients with WS were identified at the genetic and prenatal diagnosis center of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from August 2015 to December 2018. Clinical materials and peripheral blood were collected from patients and family members. The genes associated with deafness of the patients were tested by next generation sequencing (NGS). And suspected mutations were verified by Sanger sequencing. **Results** All patients carried heterozygous mutations in SOX10, they were c.355_356insTCAGGCAGCGC, c.1106_1107insTGGGGCCCCCACAATA, c.511T>C (p.Y171H), c.91_100del. According to the guidelines for genetic variation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), three frameshift mutations were pathogenic mutations, one missense mutation was likely pathogenic mutation. **Conclusion** Application of next generation sequencing technologies make gene diagnosis of Waardenburg syndrome efficiently and accurately.

【Key words】 Waardenburg syndrome; Next generation sequencing; Gene

DOI:10.3760/ema.j.cn112137-20190730-01692

Waardenburg 综合征 (Waardenburg syndrome, WS) 又称听力-色素综合征 (auditory-pigmentary syndromes), 是一种较常见的综合征型遗传性疾

病, 以感音神经性聋、皮肤低色素 (白化病)、白额发或早白发、虹膜异色为主要临床症状, 发病率约为 1/42 000, 占有先天性耳聋患儿的 1%~3%^[1]。依

据临床表现不同可分为 4 个亚型: I 型表现为语前感音神经性聋、色素异常和内眦移位; II 型没有内眦移位,其他表现同 I 型; III 型在 I 型基础上合并上肢畸形; IV 型在 II 型基础上合并无神经巨结肠;其中以 II 型最为多见。目前研究发现 PAX3、SOX10、MITF、SNAI2、EDNRB、EDN3 这 6 个基因与 WS 相关^[2]。为了同时筛查所有可能与 WS 和遗传性耳聋相关的基因,本研究对 4 例临床特征符合 WS 的患者进行了高通量测序,探讨其分子致病机制。

对象与方法

1. 对象:回顾性分析 2015 年 8 月至 2018 年 12 月就诊于郑州大学第一附属医院遗传与产前诊断中心进行遗传咨询的 4 个 WS 家系,共计 6 例患者(其中家系 1 先证者之女只收集部分临床资料,未采集外周血标本),年龄最低 2 月龄,最高 71 岁,所有患者排除耳外伤、中耳炎、耳毒性药物所致的听力下降。200 名健康对照者系从我中心 DNA 库中随机挑选,对照人群均排除耳科、眼科及全身疾病。所有研究对象均签署知情同意书,且本研究获得郑州大学第一附属医院医学伦理委员会批准(KS-2018-KY-36)。

2. 临床检查:对所有患者及家系成员进行包括毛发、皮肤色素、骨骼肌肉、四肢关节、眼科、耳科等的全面体格检查及智力评估,并进行详细的听力学检查。临床听力学检测包括纯音测听、声导抗、多频稳态诱发电位(ASSR)、听性脑干诱发电位(ABR)、中耳 CT 及 MRI。全部检查均在相应科室由专科医生完成。

3. 诊断标准:根据 Warrensburg 协会^[3]推荐的标准进行诊断并分型。主要诊断标准包括:(1)先天性感音神经性聋;(2)虹膜色素分布异常;(3)头发低色素改变,表现为白额发;(4)内眦外移(平均 W 指数>1.95);(5)一级亲属患病。次要诊断标准包括:(1)遗传性白斑病;(2)连字眉,眼眉浓粗;(3)鼻根宽大;(4)鼻翼发育不良;(5)毛发早白(30 岁之前头发变白)。符合 2 个主要诊断或 1 个主要诊断加 2 个次要诊断者为 I 型;I 型中无内眦异位者为 II 型(以 W 指数>1.95 作为内眦外移的诊断标准);I 型中伴有上肢畸形、肌肉骨骼发育异常者为 III 型;II 型中伴有先天性巨结肠、胃肠道闭锁者为 IV 型。参考文献计算患者的 W 指数^[4]:测量患

者内眦间距(A)、瞳孔间距(B)、外眦间距(C),按照如下公式计算得出: $W=X+Y+(A/B)$, $X=(2A-0.2119C-3.909)/C$, $Y=[2A-0.2749B-3.909]/B$ 。

4. 基因组 DNA 提取:抽取患者及家系成员外周静脉血各 2 ml,抗凝后保存备用。应用北京天根 DNA 提取试剂盒提取样本 DNA,用超微量分光光度计测定 DNA 浓度,冻存于-20℃备用。

5. 高通量测序和数据分析:用外显子捕获芯片,将患者 DNA 送至北京迈基诺基因检测公司,选择遗传性耳聋检测包(包含 168 个已知致病基因,包括核基因、相关线粒体区域及 miRNA,其中包含与 WS 相关的 6 个基因:PAX3、SOX10、MITF、SNAI2、EDNRB、EDN3)进行高通量测序检测。

(1)数据质量要求:靶向测序平均深度为 100×,测序深度大于 20×的达到 95% 以上;测序数据的分布具有较好的随机性,双向测序数据比接近 1:1,不存在偏倚性;筛选的位点突变比例>30%。(2)数据分析:将原始测序数据去除污染和接头序列,将过滤后的序列比对到 NCBI 数据库人类基因组参考序列(hg19)上,利用 GATK 软件分析得出单核苷酸变异(SNV)和插入缺失突变(INDEL)的相关信息,然后通过 ANNOVAR 软件对所有的单核苷酸多态(single nucleotide polymorphism, SNP)和 INDEL 进行注释,筛选掉已报道过的 SNP、同义突变(有文献报道的除外)以及正常人数据库中频率>0.05(隐性遗传)或>0.001(显性遗传)的突变位点,正常人数据库包括千人基因组计划、gnomAD 和 EXAC。错义突变使用 SIFT、PolyPhen-2、MutationTaster 软件进行致病性预测和保守性预测,剪切位点的改变用 SPIDEX 软件分析其致病性。

6. Sanger 测序验证:参考 Ensembl 数据库中基因序列,应用 Gene Tool 软件设计 SOX10 基因的引物,引物由上海生工生物有限公司合成(引物序列及产物长度见表 1)。PCR 产物纯化后利用 ABI BigDye3.1 测序试剂盒,在 ABI 3130X1 基因测序仪上对产物直接进行双向测序,用 Sequencing Analysis 5.1.1 软件将数据进行比对分析。

7. 突变命名及致病性判定:新突变的命名参照国际基因突变命名体制提供的命名法命名(<http://www.hgvs.org/mutnomen>);根据美国医学遗传学与基因组学学会(the American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南,对发现的突变位点进行致病性评判。

表1 SOX10基因第2~第4外显子引物序列信息

外显子	正向引物序列(5'-3')	反向引物序列(5'-3')	产物长度(bp)
exon2	GTGGGCGTTGGACTCTTTG	CTACCCTGAATCCACCCGAA	571
exon3	CATCTCTCAGTCCAGAAATCATAGG	CGATCTCCTGTCTCCACTGACTG	506
exon4	CTCTAACCTGCTTCCCCTTG	CCTTTAGGGCCGGGACAGT	759

结 果

1. 临床分析:共收集了4个WS家系中6例患者的临床资料(表2),并绘制遗传图谱(图1)。家系1、2、4患者均具有典型感音神经性聋、虹膜异色的表型特征,家系3患者具有典型感音神经性聋、头发低色素的表型特征,所有患者均无消化系统或骨骼肌肉异常,且W指数均<1.95,按照 Warrensburg 协会的诊断标准,所有患者均诊断为II型WS。

2. 高通量测序结果:通过生物信息分析筛选,4例先证者与耳聋表型相关的基因突变信息如表3所示,所有先证者均未检测到已知致病突变(包含与WS相关的6个基因:PAX3、SOX10、MITF、SNAI2、EDNRB、EDN3),每例先证者均检测到SOX10基因的杂合突变,同时还检测到多个常染色体隐性遗传方式的杂合突变,根据常染色体隐性杂合突变不足以致病以及先证者典型WS的临床表

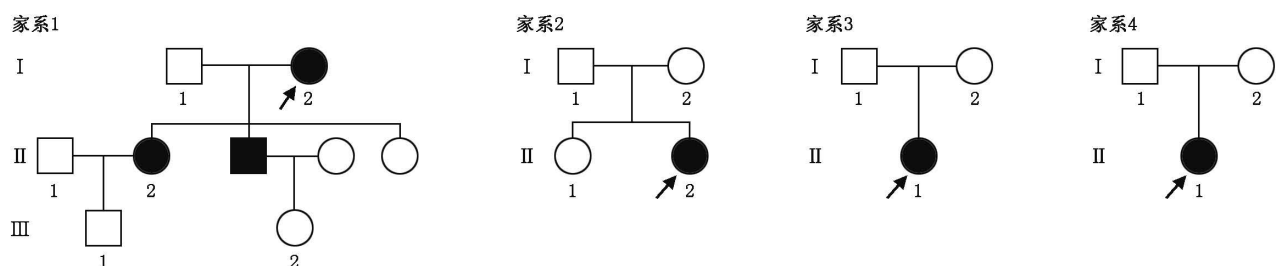
现,研究初步判定4例先证者的临床表型为SOX10基因突变所致。

3. Sanger测序及家系验证:采用Sanger测序法对4例WS先证者检测到的SOX10基因突变位点进行双向验证,结果与高通量测序一致,高通量测序的准确率达到100%。经家系验证分析,家系1先证者之子同样携带SOX10基因c.355_356insTCAGGCAGCGC杂合突变,而先证者丈夫该位点无突变,符合常染色体显性遗传方式及突变-表型共分离的规律;家系2、3、4先证者父母均未在SOX10基因检测到相应的突变,判定为自发突变(图2);经专业版人类基因突变数据库(the Human Gene Mutation Database, HGMD)查询,本研究发现的SOX10基因的4个突变位点均无相关文献报道。同时本研究从中心DNA库中随机挑选200例健康对照者进行SOX10基因4个突变位点的检测,结果显示健康对照者均未检测到上述4个突变,排除为

表2 4个Waardenburg综合征家系先证者及家系成员一般情况分析

家系及成员	年龄	性别	症状及体征	W指数	耳聋侧别	听阈(dBHL)
家系1						
先证者	71岁	女	双侧虹膜亮蓝色;耳聋	1.88	双侧	86
先证者女儿*	51岁	女	左侧虹膜亮蓝色;耳聋	-	双侧	-
先证者儿子	49岁	男	双侧虹膜亮蓝色;耳聋	1.85	双侧	91
家系2						
先证者	5岁	女	双侧虹膜亮蓝色;耳聋	1.79	双侧	90
家系3						
先证者	5岁	女	眉毛稀疏,头发细黄,少量白发;耳聋;半规管发育不良;双眼虹膜正常	1.83	双侧	100
家系4						
先证者	2月龄	女	出生时前额少量白发,现已消失;双侧虹膜亮蓝色;耳聋	1.91	双侧	97

注:“-”:家系1先证者女儿因在外地,临床资料为家属代述,故未进行听力及基因检测



注:□:正常表型男性;○:正常表型女性;■:男性患者;●:女性患者;箭头所指为先证者

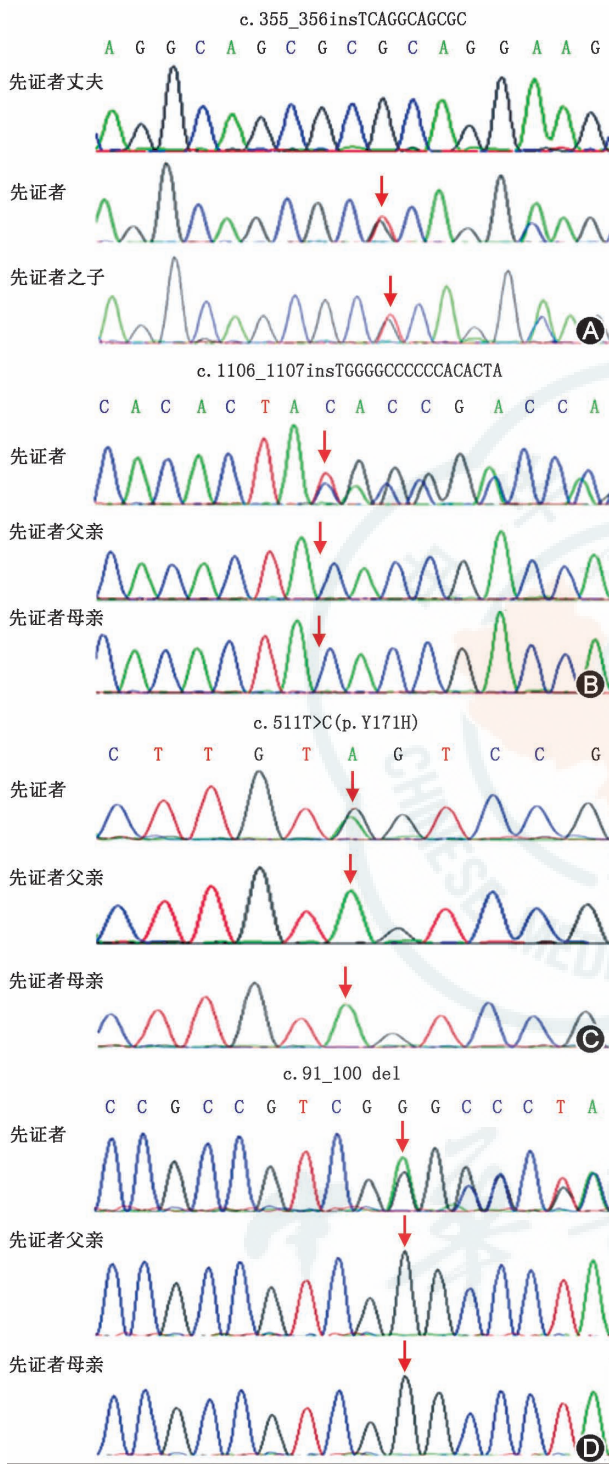
图1 4个Waardenburg综合征家系遗传图谱

表 3 4 例 Waardenburg 综合征先证者基因突变信息

家系	基因	转录本	核苷酸改变	氨基酸改变	杂合性	频率	致病性预测		疾病(遗传方式)
							Poly Phe2	Mutation Taster	
家系 1	SOX10	NM_006941	c.355_356ins TCAGGC AGCGC	p.R119 Lfs*31	杂合	-	-	有害	1. 周围脱髓鞘神经病、中央髓鞘形成障碍、瓦登伯格综合征及 hirschsprung(AD) 2. 瓦登伯格综合征 2E(AD) 3. 瓦登伯格综合征 4C(AD)
	COL4A6	NM_001847	c.2656G>T	p.V886F	杂合	0.003 2	有害	良性	X 连锁耳聋 6 型(XR)
	OTOGL	NM_173591	c.2255C>A	p.S752Y	杂合	0.000 2	有害	有害	常染色体隐性耳聋 84B 型(AR)
	COL9A2	NM_001852	c.1753G>A	p.V585M	杂合	0.000 2	有害	良性	1. 遗传多发性骨骺发育异常 2 型(AD) 2. 史蒂克勒氏综合征 5 型(AR)
	TJP2	NM_004817	c.2270C>T	p.T757I	杂合	0.000 8	良性	有害	1. 进行性家族性肝内胆淤积症 4 型(AR) 2. 家族性超胆烷(AR)
家系 2	SOX10	NM_006941	c.1106_1107ins TGGGGCCC CCCACACTA	p.Y369fs	杂合	-	-	有害	1. 周围脱髓鞘神经病、中央髓鞘形成障碍、瓦登伯格综合征及 hirschsprung(AD) 2. 瓦登伯格综合征 2E(AD) 3. 瓦登伯格综合征 4C(AD)
	CLRN1	NM_001195794	c.9C>A	p.S3R	杂合	0.001 4	良性	有害	1. Usher 综合征 III A(AR) 2. 视网膜色素变性 61 型(AR)
	PCDH15	NM_033056	c.1385A>G	p.Y462C	杂合	0.000 4	有害	有害	1. 双基因 Usher 综合征 ID/F 型(AR) 2. 常染色体隐性耳聋 23 型(AR) 3. Usher 综合征 IF 型(AR)
	HARS2	NM_012208	c.1489G>A	p.A497T	杂合	-	良性	有害	Perrault 综合征 2 型(AR)
家系 3	SOX10	NM_006941	c.511T>C	p.Y171H	杂合	-	有害	有害	1. 周围脱髓鞘神经病、中央髓鞘形成障碍、瓦登伯格综合征及 hirschsprung(AD) 2. 瓦登伯格综合征 2E(AD) 3. 瓦登伯格综合征 4C(AD)
	TPRN	NM_001128228	c.1352C>G	p.P451R	杂合	-	有害	有害	常染色体隐性耳聋 79 型(AR)
	CDH23	NM_022124	c.3619G>T	p.V1207L	杂合	-	良性	有害	1. 双基因 Usher 综合征 ID/F 型(AR,DR) 2. 常染色体隐性耳聋 12 型(AR) 3. 垂体腺瘤 5(AD)
	USH2A	NM_206933	c.6958-8A>T	-	杂合	-	-	有害	1. 视网膜色素变性 39(AD) 2. Usher 综合征 II A 型(AR)
家系 4	SOX10	NM_006941	c.91_100del	p.R31G fs*75	杂合	-	-	有害	1. 周围脱髓鞘神经病、中央髓鞘形成障碍、瓦登伯格综合征及 hirschsprung(AD) 2. 瓦登伯格综合征 2E(AD) 3. 瓦登伯格综合征 4C(AD)
	USH2A	NM_206933	c.6628C>G	p.P2210A	杂合	0.001 6	良性	有害	1. 视网膜色素变性 39 型(AR) 2. Usher 综合征 II A 型(AR)
	TPRN	NM_001128228	c.1839_1844del GGAGGA	p.613_615 delEEE insE	杂合	-	-	良性	常染色体隐性耳聋 79 型(AR)

注:频率:千人基因组频率;AD:常染色体显性遗传;AR:常染色体隐性遗传;“-”示无频率数据或无法预测致病性

多态性位点的可能。



注:A图:家系1;B图:家系2;C图:家系3;D图:家系4;箭头所示为突变位点

图2 Waardenburg综合征先证者及家属的Sanger测序图

4. 新发现突变的致病性:根据 ACMG 遗传突变分类标准与指南,SOX10 基因 c.355_356insTCAGGCAGCGC、c.1106_1107insTGGGGCCCCCACACTA、c.91_100del 均判定为致病性突变,致病性证据

分别为 PVS1+PM2+PP1、PVS1+PS2+PM2、PVS1+PS2+PM2;c.511T>C(p.Y171H) 突变判定为可能致病突变,致病性证据为 PS2+PM2+PP3。

讨论

SOX10 基因位于染色体 22q13.1 区,含有 5 个外显子,其中第 1 和第 2 外显子不编码蛋白,共编码 466 个氨基酸,包含 1 个高度保守的 HMG 功能结构域,HMG 结构域由 102~181 位共 80 个氨基酸组成,包含 3 个“L”型弯曲排列的 α 螺旋区,识别并结合特异 DNA 序列,导致 DNA 的构象发生改变,除 HMG 结构域外,SOX10 基因还包含核定位信号区域(nuclear localization signal, NLS)、1 个高度保守的 Group E 结构域和 C 端转录激活域 TA。SOX10 蛋白主要通过与其靶基因(如 MITF、TYR、TYRP1、DCT)的增强子或启动子结合来发挥其转录调节功能,在黑色素细胞发育过程中起到重要的调控作用^[5-6]。研究发现^[7-8],SOX10 蛋白可通过与 MITF 启动子中特定序列结合而使 MITF 的转录活性提高 100 倍,且 SOX10 与 PAX3 的协同作用可增强这种激活效应。HMG 域的两侧各有 1 个核定位信号,可使 SOX10 蛋白在细胞质与细胞核之间穿梭运动,进而可能影响黑色素细胞或神经嵴的发育^[9]。传统认为 SOX10 基因突变仅导致严重表型的 IV 型 WS,在 45%~55% 的 IV 型 WS 患者中可检测到 SOX10 突变造成的大片段缺失,但有研究发现^[10],在轻度表型的 II 型 WS 病例中也检测到 SOX10 大片段缺失突变,使 SOX10 基因首次成为 II 型 WS 的致病基因,并估计 15% 的 II 型 WS 病例是由于 SOX10 基因突变导致的。最近 Sun 等^[11]又发现在中国汉族 II 型 WS 患者中,SOX10 基因的突变比例高达 45%(13/29)。SOX10 基因突变致病遵循常染色体显性遗传规律,且具有外显不全的特点,其基因型和表型之间缺乏对应关系。截至 2019 年 2 月,在 HGMD 专业版数据库中已发现 SOX10 基因突变 157 种,点突变约占 46%(72/157),微小缺失约占 24%(38/157),大片段缺失约占 13%(21/157),小片段插入约占 8%(12/157)。

本研究中,通过高通量测序及数据分析,发现家系 1 先证者及先证者儿子(同为患者)均携带 SOX10 基因 c.355_356insTCAGGCAGCGC 杂合突变,其配偶(表型正常)未携带该位点突变,经 gnomAD、ExAC、1000genome 数据库查询均无该位点的相关频率数据,HGMD 专业版数据库中无相

关文献报道, MutationTaster 软件预测该突变可使 SOX10 蛋白编码提前终止形成截短蛋白, 为致病性突变, 通过基因检测结果并结合先证者及其子女典型的临床表现及显性遗传方式, 分析认为 SOX10 基因 c.355_356insTCAGGCAGCGC 杂合突变是家系 1 患者的主要致病原因, 根据 ACMG 指南判定为致病性突变。家系 2~家系 4 先证者为散发病例, 父母临床表型均正常, 检测发现家系 2~家系 4 先证者分别携带 SOX10 基因 c.1106_1107insTGGGGCCCCCACTA、c.511T>C(p.Y171H) 及 c.91_100del 杂合突变, 而 3 例先证者的父母均未检测到相应突变, 考虑为自发突变, 经 gnomAD、ExAC、1000genome 数据库查询 3 个突变位点均无相关频率数据, HGMD 专业版数据库中也无相关文献报道, MutationTaster 软件预测 c.1106_1107insTGGGGCCCCCACACTA 使 SOX10 蛋白延长了 40 个氨基酸长度, c.91_100del 突变使 SOX10 蛋白编码提前终止形成截短蛋白, c.511T>C 突变使 171 位氨基酸由酪氨酸变成了组氨酸, 蛋白功能可能受到影响, 3 个突变均预测为致病性突变, 故研究认为 SOX10 基因 c.1106_1107insTGGGGCCCCCACACTA、c.511T>C(p.Y171H)、c.91_100del 杂合突变是这 3 例 WS 患者的致病原因, 根据 ACMG 指南, c.1106_1107insTGGGGCCCCCACACTA 和 c.91_100del 判定为致病性突变, c.511T>C(p.Y171H) 判定为可能致病突变。

本研究中, 家系 1、2、4 患者 SOX10 基因突变类型为移码突变, 该突变类型造成野生型蛋白严重缺失, 而家系 3 患者基因突变类型为错义突变, 突变效应较移码突变轻, 突变蛋白尚具有一定功能, 推测此为家系 3 患者仅出现耳聋症状而未出现虹膜异色的原因, 此假设尚需进一步功能验证。本研究还发现, 家系 1 中携带同一突变的患者, 临床表现也不完全相同, 先证者双侧虹膜为亮蓝色, 双耳听力异常, 先证者女儿单侧虹膜为亮蓝色, 双耳听力异常, 先证者儿子双侧虹膜为亮蓝色, 单耳听力异常, 可看出 WS 临床表现存在高度异质性, 一种基因突变可导致不同表型, 这与文献报道是一

致的^[12]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Koyama H, Kashio A, Sakata A, et al. The hearing outcomes of cochlear implantation in Waardenburg syndrome[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016:2854736. DOI: 10.1155/2016/2854736.
- [2] Zazo Seco C, Serrão de Castro L, van Nierop JW, et al. Allelic mutations of KITLG, encoding KIT ligand, cause asymmetric and unilateral hearing loss and Waardenburg syndrome type 2 [J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 97(5):647-660. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.09.011.
- [3] 周亦燕, 刘晓丹, 宋勤浩, 等. 一例综合征型耳聋患者 SOX10 基因新发突变的产前诊断[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2019, 36(5):477-479. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.
- [4] Read AP, Newton VE. Waardenburg syndrome[J]. *J Med Genet*, 1997, 34(8):656-665.
- [5] Chen H, Jiang L, Xie Z, et al. Novel mutations of PAX3, MITF, and SOX10 genes in Chinese patients with type I or type II Waardenburg syndrome [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 397(1):70-74. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.05.066.
- [6] Hou L, Arnheiter H, Pavan WJ. Interspecies difference in the regulation of melanocyte development by SOX10 and MITF[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(24): 9081-9085. DOI: 10.1073/pnas.0603114103.
- [7] Bondurand N, Pingault V, Goerich DE, et al. Interaction among SOX10, PAX3 and MITF, three genes altered in Waardenburg syndrome[J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9(13): 1907-1917. DOI: 10.1093/hmg/9.13.1907.
- [8] Potterf SB, Furumura M, Dunn KJ, et al. Transcription factor hierarchy in Waardenburg syndrome: regulation of MITF expression by SOX10 and PAX3[J]. *Hum Genet*, 2000, 107(1): 1-6. DOI: 10.1007/s004390000328.
- [9] Sinner D, Kordich JJ, Spence JR, et al. Sox17 and Sox4 differentially regulate beta-catenin/T-cell factor activity and proliferation of colon carcinoma cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(22):7802-7815. DOI: 10.1128/MCB.02179-06.
- [10] 张华, 冯娟, 陈红胜, 等. Waardenburg 综合征致病基因 SOX10 重组真核细胞表达质粒构建、表达及意义[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(1):49-55. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2015.01.011.
- [11] Sun L, Li X, Shi J, et al. Molecular etiology and genotype-phenotype correlation of Chinese Han deaf patients with type I and type II Waardenburg syndrome[J]. *Sci Rep*, 2016, 19(6):35498. DOI: 10.1038/srep35498.
- [12] Shelby MV. Waardenburg syndrome expression and penetrance[J]. *J Rare Dis Res Treat*, 2017, 2(6):31-40.

(收稿日期: 2019-07-30)

(本文编辑: 张媛)