

# 两个 Usher 综合征家系的临床表型分析及致病基因位点的初步定位

金鑫<sup>1</sup>, 刘铁城<sup>1</sup>, 袁慧军<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(100853)中国北京市,解放军总医院眼科;  
<sup>2</sup>(100853)中国北京市,解放军总医院耳鼻咽喉头颈外科研究所  
作者简介:金鑫,女,博士,主治医师,研究方向:眼底病。  
通讯作者:刘铁城,副主任医师,研究方向:眼底病. ltc301@yaho. com. cn  
收稿日期:2011-08-29 修回日期:2011-10-31

## Analysis of clinical features and the first study of responsible genes for the two Usher syndrome families

Xin Jin<sup>1</sup>, Tie-Cheng Liu<sup>1</sup>, Hui-Jun Yuan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Department of Otorhinolaryngology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

**Correspondence to:** Tie-Cheng Liu. Department of Ophthalmology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. ltc301@yahoo. com. cn

Received:2011-08-29 Accepted:2011-10-31

### Abstract

• **AIM:** To analyze the clinical features of the two Usher Syndrome families USH-001 and USH-002, and screening for possible relevant USH gene map locus.

• **METHODS:** The clinical and pedigree features of USH-001, USH-002 families were analysed. The short tandem repeat markers around the 12 known USH gene map locus were screened to choose the possible relevant genes by use of the principles and methods of linkage analysis.

• **RESULTS:** The phenotypes of the family USH-001 were similar to USH-002, night blindness occurred in 10-13 years old and gradually got worse with age, visual field gradually narrowed to tubular vision, while the decline of visual acuity were not obvious, bone cell-like retinal pigmentation was found in the peripheral retina. Hearing loss in both ears occurred in childhood, it was non-progressive sensorineural hearing loss, with mainly high-frequency hearing loss and normal vestibular function. Their clinical manifestations were consistent with the diagnosis of USH-002. The phenotype did not consecutively transmit. In USH-001 family all the patients shared the same Allele of D11S902 and D17S785 short tandem repeat markers, and all the patients in USH-002 family shared the same Allele of D1S425 and D9S1776 markers.

• **CONCLUSION:** USH-001 and USH-002 are USH2 families and their genetic forms are autosomal recessive. USH1C

and USH1G are likely pathogenic genes for USH-001 family, USH2A and USH2D are likely pathogenic genes for USH-002 family.

• **KEYWORDS:** Usher syndrome; retinitis pigmentosa; autosomal recessive; short tandem repeat markers; gene

Jin X, Liu TC, Yuan HJ. Analysis of clinical features and the first study of responsible genes for the two Usher syndrome families. *Gugji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(12):2190-2192

### 摘要

**目的:**分析2个Usher综合征家系 USH-001, USH-002 的临床表型特征及遗传学特点,对已知致病基因位点进行筛查,确定可能的候选基因。

**方法:**分析 USH-001, USH-002 家系患者的临床表型特征、系谱特征,利用连锁分析的原理和方法,对12个已知致病基因位点周围的微卫星标记进行扫描,筛选可能的致病基因位点。

**结果:**USH-001, USH-002 家系中的患者在10~13岁出现夜盲症状,随年龄增长夜盲逐渐加重,并出现视野逐渐狭窄至管状视野,中心视力下降不明显,眼底周边见骨细胞样色素沉着;患者在儿童期出现双耳听力下降,为非渐进性、中-重度感音神经性耳聋,以高频听力损失为主,前庭功能正常。表型未出现连续遗传的现象。USH-001 家系中所有患者的 D11S902, D17S785 微卫星标记的 Allele 值完全一致,USH-002 家系所有患者的微卫星标记 D1S425, D9S1776 的 Allele 值完全一致。

**结论:**USH-001, USH-002 家系临床表现符合 USH2 型,为常染色体隐性遗传家系。USH1C, USH1G 可能为 USH-001 家系的致病基因;USH2A, USH2D 可能为 USH-002 家系的致病基因。

**关键词:** Usher 综合征;视网膜色素变性;常染色体隐性遗传;微卫星标记;基因

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.12.043

金鑫,刘铁城,袁慧军.两个 Usher 综合征家系的临床表型分析及致病基因位点的初步定位.国际眼科杂志 2011;11(12):2190-2192

### 0 引言

Usher 综合征 (Usher Syndrome, USH) 又称遗传性耳聋-视网膜色素变性综合征,是一种以先天性感音神经性聋、渐进性视网膜色素变性为主要表现的遗传性疾病,遗传方式为常染色体隐性遗传。USH 在全世界的发病率约 2.2/100000 ~ 4.4/100000,不同人群的发病率略有不同,在先天性重度至极重度神经性耳聋患者中 USH 的发生率为 0.6% ~ 28%;视网膜色素变性患者中 USH 患者占

8.0% ~ 33%。美国聋盲患者中 50% 以上为 USH<sup>[1,2]</sup>。中国人群目前尚无相关的流行病学调查资料。USH 临床表现多样,不同家系的患者在发病时间、病变程度和临床表现等方面变异较大,根据耳聋及视网膜色素变性的发病时间、程度以及是否伴有前庭功能障碍,临床上将其分为 3 型<sup>[3]</sup>:USH1 型、USH2 型和 USH3 型,其中以 USH2 型最多见。本研究对两个 USH 家系的临床表现及系谱特征进行分析,并运用连锁分析的原理对其已知的 12 个致病基因位点进行筛查。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** 本研究中涉及的两个 USH 家系 USH-001, USH-002 家系均位于我国河北省。USH-001 家系现存活 4 代共 62 人,USH002 家系能够追溯到的成员为 3 代共 9 人。向所有家系成员解释本研究的目的、方法及意义。在遵守知情同意原则的前提下,对入选的家系成员进行专科检查,并抽取 5mL 外周静脉血用于基因组 DNA 的制备。所有入选成员均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料采集** 详细询问患者视力和听觉功能异常情况,以及是否伴有前庭功能异常。应用 Cyrillic. 210 软件绘制家系图谱,根据家系图谱的特点判断遗传方式。对患者进行眼底、视野以及听力学检查。

**1.2.2 对已知致病基因周围的微卫星标记进行扫描** 选取已知的 12 个 USH 致病基因 (USH1A, USH1B, USH1C, USH1D, USH1E, USH1F, USH1G, USH2A, USH2B, USH2C, USH2D, USH3) 附近的 19 个微卫星标记 (D14S68, D11S937, D11S902, D10S537, D21S1256, D21S1914, D21S263, D10S196, D17S785, D3S1279, D1S425, D1S213, D3S1266, D3S1277, D3S1289, D5S428, D5S644, D9S1677, D9S1776, ABI PRISM Linkage Mapping Sets2 MD-10 试剂盒) 进行多重 PCR 扩增,对扩增产物进行毛细管电泳分析。

**1.2.3 成员外周血白细胞 DNA 提取** 采用小量血液基因组 DNA 抽提试剂盒操作方法(上海华舜生物工程有限公司)从家系成员外周血中提取基因组 DNA。

**1.2.4 微卫星标记的多重 PCR (Mutiplex PCR) 反应** 总反应体积为 5 $\mu$ L,反应体系为 10  $\times$  缓冲剂 0.5 $\mu$ L, dNTP 0.8 $\mu$ L(1 mmol/L),引物 STR marker 0.05 $\mu$ L(10mmol/L), hotstarDNA 聚合酶 0.05 $\mu$ L (2.5U/ $\mu$ L), 20ng 的基因组 DNA,加双蒸水至 5 $\mu$ L。95 $^{\circ}$ C 预变性 3min,95 $^{\circ}$ C 1.5min, 63 $^{\circ}$ C 1.5min,72 $^{\circ}$ C 1.5min 共 14 个循环(每个循环降低 0.5 $^{\circ}$ C), 95 $^{\circ}$ C 1.5min,56 $^{\circ}$ C 1.5min,72 $^{\circ}$ C 1.5min 共 35 个循环,72 $^{\circ}$ C 延长 7min。

**1.2.5 PCR 产物毛细管电泳** PCR 产物 2 $\mu$ L,400HD 标准品 8 $\mu$ L,95 $^{\circ}$ C 变性 5min,迅速冰浴超过 10min,ABI3700 测序仪变性胶电泳。

**1.2.6 数据收集与分析** ABI PRISM 3700R Data Collection 软件收集数据 GeneMarker V1.65 软件测量扩增片段大小。

### 2 结果

**2.1 家系表型特征** USH-001 家系现存活 4 代共 62 人,其中患者 3 例,家系精简系谱图见图 1;USH-002 追溯到 3 代共 9 名成员,其中患者 2 例,家系精简系谱图 2。系谱图分析两家系患者的双亲表型均正常,系谱图中看不到连续

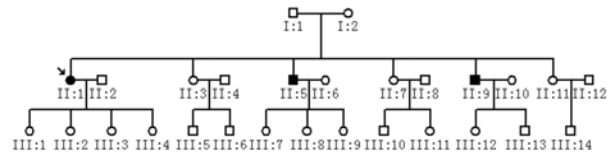


图 1 USH-001 家系精简系谱图 系谱图注释: □ 男性, ○ 女性, ↓ 先证者。

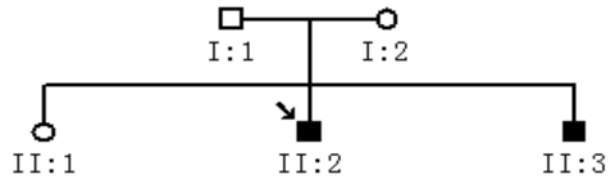


图 2 USH-002 家系精简系谱图 系谱图注释: □ 男性, ○ 女性, ↓ 男性先证者。

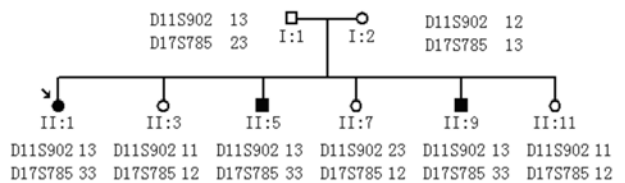


图 3 USH-001 家系微卫星标记扫描结果。

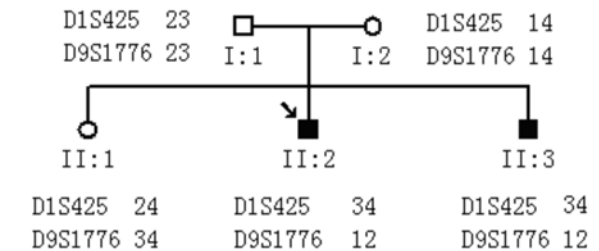


图 4 USH-002 家系微卫星标记扫描结果。

遗传的现象,仅 II 代有患者。USH-001 家系男女均有发病,患者的子女表型正常;USH-002 患者尚无子女。USH-001 家系中患者 3 ~ 4 岁左右出现听力下降,听力下降水平随年龄增长无明显变化,呈双侧对称性、下降型听力曲线,以高频听力损失为主,为中度至重度感音神经性耳聋。10 岁以后出现夜盲,随年龄增长夜盲逐渐加重,并逐渐出现视野缩窄,但中心视力下降不明显。眼底呈典型的中心型视网膜色素变性的改变:视网膜呈青灰色、血管狭窄,视盘呈蜡黄色,周边视网膜见骨细胞样沉着。家系中的患者除听觉和视觉障碍外无前庭功能和其它系统功能异常。USH-002 家系中患者 5 ~ 7 岁左右出现听力下降,听力下降水平随年龄增长无明显变化,为双侧对称性感音神经性聋。6 ~ 8 岁出现夜盲症状,20 岁左右自觉视野明显缩窄呈管状,随年龄增长夜盲和视野缩小的症状逐渐加重,但中心视力仍可得到保留。眼底呈典型的中心型视网膜色素变性的改变。家系中的患者除听觉和视觉障碍外无前庭功能和其它系统功能异常。

**2.2 微卫星标记扫描结果** USH-001 家系中所有患者的 D11S902, D17S785 微卫星标记的 Allele 值完全一致(图 3), USH-002 家系所有患者的微卫星标记 D1S425, D9S1776 的 Allele 值完全一致(图 4)。

### 3 讨论

USH 综合征是一种可以引起听觉和视觉两种功能障碍的遗传病,其遗传方式为常染色体隐性遗传。轻型USH可引起听力减退、视力下降、视野受损;重型可导致聋哑、完全失明。目前国内关于USH的研究报道较少,国外文献报道USH的发病率为2/100000~4.5/100000左右,因此我们推测国内的USH病例并不罕见。目前对于USH的临床分型主要以听力损失的程度、性质以及前庭功能为标准:USH1型:先天性感音神经性耳聋,听力损失重,患者多为全聋,USH1型患者常合并前庭功能障碍,当患者成年后尤其是当出现视力下降、视野受限时,可出现典型的平衡功能障碍症状,如眩晕、走路不稳等。青春期前出现视网膜色素变性症状,部分患者还可合并智力迟缓、精神障碍。USH2型:先天性感音神经性耳聋,听力损失相对较轻,为中-重度耳聋,听力损失为非渐进性下降,患者前庭功能正常。20~30岁出现视网膜色素变性症状。USH3型:为语后聋,听力损失为渐进性加重,患者偶可伴前庭功能减退。视网膜色素变性发生年龄不确定。USH-001,USH-002家系的患者的表型分析符合USH2型诊断标准,为典型的USH2型家系。

目前已经发现的与USH相关的位点有12个,并确定了8个基因与USH相关<sup>[4]</sup>。我们利用连锁分析的原理,选择12已知位点周围的微卫星标记进行PCR扩增、扫描、构建单倍体,通过观察微卫星标记与疾病表型之间是否存在连锁关系,从而筛选可能的致病基因。在USH-001家系中,USH1C位点周围的D11S902,USH1G位点周围D17S785与疾病表型共分离,因此USH1C,USH1G可能为USH-001家系的致病基因;而USH-002家系中,USH2A位点周围的D1S425,USH2D位点周围D9S1776与疾病表型共分离,因此USH2A,USH2D可能为USH-002家系的致病基因。经典连锁分析需要有足够的信息量,连锁分析的基础是经典遗传学中的基因重组与交换现象,要

求被检家系能够提供足够的遗传信息量。单个家系的价值在于这个家系可能提供的信息含量。但我们采集到的2个USH家系均缺乏足够的信息量,因此我们没有采用经典的连锁分析策略来确定致病基因位点,而是利用其原理选择已知致病基因周围的遗传标志,对已知致病位点进行筛查。应用这种方法只能为致病的确提供可能的结果,一方面遗传标志与致病基因之间的距离以及遗传标志的杂合度可以影响结果:遗传标志与已知致病基因之间的物理距离越大,两者之间存在重组的几率越高;遗传标志的杂合度越低,结果的假阳性率越高;另一方面家系可以提供的信息量也可以影响结果:一般来说,三代家系与两代家系相比可以多提供20%~30%的信息量,并可以较容易地定出单倍型、确定重组点,同时也便于进一步精细定位。三世代的家系可较容易地定出单体型,并且检出重组事件的几率较高,确定重组点较为容易,也能较为可靠地用于判断疾病位点在遗传标记的“端粒侧”或“着丝粒侧”,便于精细定位中的区域缩小。

通过本部分研究我们初步将USH-001和USH-002家系的致病基因分别确定在USH1C,USH1G和USH2A,USH2D,下一步研究我们将对这4个的致病基因进行PCR扩增和直接测序来寻找2个USH家系中的致病基因突变。

#### 参考文献

- 1 Moller CG, Kimberling WJ, Davenport SLH, *et al.* Usher syndrome: A notoneurologic study. *Laryngoscope* 1989;99:3-79
- 2 Boughman JA, Vernon M, Shaver KA, *et al.* Usher syndrome: definition and estimate of prevalence from two high-risk population. *J Chronic Dis* 1983;36:595-603
- 3 Smith RJ, Berlin CI, Hejtmanck JF, *et al.* Clinical diagnostic of the Usher syndrome. Usher Syndrome Consortium. *Am J Med Genet* 1994; 50:32-38
- 4 Camp GV, Smith R. The Hereditary Hearing loss Homepage. <http://hereditaryhearingloss.org>