

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.27.037

黑龙江省部分地区非综合性耳聋的分子病因学调查*

王春英¹ 汤唯波² 徐平^{1△} 冯森¹ 崔忠涛¹ 柏智刚¹ 蔡勋功¹ 姜鹏¹ 崔庆佳³

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 黑龙江省医院体检中心 黑龙江 哈尔滨 150036;

3 首都医科大学附属北京同仁医院 北京 100730)

摘要 目的:采用基因诊断的方法调查和分析黑龙江省部分地区非综合性耳聋(NSHL)的分子病因学。**方法:**调查对象为哈尔滨医科大学附属第四医院耳鼻咽喉科门诊收治的 116 例来自黑龙江省部分地区的散发非综合征型耳聋患者和 29 例听力正常样本,均经过纯音听阈、声导抗、耳声发射、听性脑干诱发电位等检查,其中 51 例属于重度或极重度感音神经性耳聋,采集其外周血并提取 DNA 行 GJB2、Slc26A4、GJB3、SrRNA1555 基因编码区测序。**结果:**与耳聋相关的基因突变位点主要为 GJB2-235、Slc26A4-IVS7-2 和 GJB2-299,其中 GJB2-235 基因变异为最主要方式,约占总检出耳聋患者的 45.2%,其次为该基因的 299 位点,突变比率为 16.1%。另一个主要突变基因是 Slc26A4,主要在 IVS7-2 位点发生突变,约占 Slc26A4 基因位点突变的 84.6%,在整个耳聋基因突变群体中约占 17.7%。但上述基因突变位点在 29 例听力正常样本中无发生。**结论:**黑龙江省部分地区 NSHL 患者存在 GJB2-235、Slc26A4-IVS7-2 和 GJB2-299 位点突变。

关键词:遗传;非综合征性耳聋;Slc26A4;GJB2;GJB3;基因突变

中图分类号:R764.43 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)27-5334-05

The Investigation of Molecular Etiology to Genetic Deafness in Some Areas of Heilongjiang Province*

WANG Chun-ying¹, TANG Wei-bo², XU Ping^{1△}, FENG Miao¹, CUI Zhong-tao¹, BAI Zhi-gang¹, CAI Xun-gong¹,JIANG Peng¹, CUI Qing-jia³

(1 The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 The Center of health care, Heilongjiang Province Hospital, Harbin, Heilongjiang, 150036, China;

3 Affiliated Beijing Tongren Hospital of the Capital Medical University, Beijing, 100730, China)

ABSTRACT Objective: This study is aimed to analysis the mutations of the four common deafness genes GJB2,SLC26A4 SrRNA1555 and GJB3 in Some areas of Heilongjiang Province, and to investigate the molecular etiology to genetic deafness through the gene diagnosis method. **Methods:** 116 unrelated patients with non-syndromic hearing impairment and 29 cases had normal hearing sample were recruited from Department of otolaryngology, Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University. 51 patients were diagnosed Profound or severe sensor ineural hearing impairment with otoacoustic emission, auditory brainstem response audiometry and acoustic immit tance. Blood samples were collected, and four common genes GJB2,SLC26A4 and GJB3, SrRNA1555 were sequenced. **Results:** In these 62 patients, there was no significant correlation between the way of born and deafness, and patients without family history had high proportion, and there was direct relation with medical history. The deafness-related spots were GJB2 c.235delC, SLC26A4 c.IVS7-2 A>G and GJB2 c.299_300delAT. 45.2% was GJB2 c.235delC, 16.1% was GJB2 c.299_300delAT, and 17.7% was SLC26A4 c.IVS7-2 A>G. The hot spot of SLC26A4 was c.IVS7-2 A>G, was 84.6%. But the gene mutation had not occurred in the sample with normal hearing. **Conclusion:** The deafness gene mutation can lead to hearing impairment in this study. The diagnosis in molecular etiology is aimed at support the follow-up treatment, and provide important hereditary information such as genetic counseling premarital health guidance.

Key words: Non-syndromic; Deafness; Slc26A4; GJB2; GJB3; Gene mutation/heredity

Chinese Library Classification(CLC): R764.43 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)27-5334-05

耳聋是一种最常见的感觉障碍疾病,严重影响患者的生活质量和人际交流。据统计,在新生耳聋儿童中,约 50%的耳聋是由遗传基因缺陷引起的。遗传性耳聋按表型不同分为综合征性耳聋(syndromic hearing loss, SHL)和非综合征性耳聋(nonsyn-

dromic hearing loss, NSHL),其中综合征性耳聋约占 30%。非综合征性耳聋中常染色体隐性遗传性耳聋 (DFNB) 占主导地位(80%左右),常染色体显性耳聋(DFNA)约占 20%^[1-3]。正确的病因分析和早期干预是降低耳聋发病率的有效途径^[4,5]。随着人们

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31170806;30770533;30270423);黑龙江省自然科学基金项目(D201068)

作者简介:王春英(1965-)女,主任医师,主要研究方向:耳聋的防治,E-mail:chunying0218@sina.com

△通讯作者:徐平(1963-)男,主任医师,主要研究方向:耳聋的防治,E-mail:doctorxu@163.com

(收稿日期:2014-02-17 接受日期:2014-03-12)

对耳聋相关基因研究的不断深入,越来越多的研究尝试将分子诊断技术应用于产前诊断,旨在达到预防聋儿出生、指导聋儿康复、降低耳聋发生率的目的。1993年,Fischel-Ghodsian 研究小组首次发现氨基糖甙类抗生素致聋患者存在线粒体 DNA12S rRNA 基因第 1555 位 A→G 均质性突变^[6]。1998年,国外一些学者发现线粒体 DNA A1555G 点突变在致聋方面可以自发起作用,氨基糖甙类药物加快了这个过程。此外,国内外多项研究结果显示 12SrRNA 为线粒体的高突变区,与非综合征性遗传性耳聋密切相关^[7,8]。2008年,戴朴等对噪声性聋人群线粒体 DNA 的研究发现有 98 种线粒体 DNA 基因变异,其中 41 种存在于 12SrRNA 中^[9]。近年来,我们将耳聋基因芯片筛查技术运用到临床工作中,开展了患儿家庭的耳聋基因筛查和遗传咨询等工作,旨在开展黑龙江省感音神经性耳聋患者的耳聋基因诊断和筛查,指导患者家族内成员的婚育,并做出后代患耳聋风险的预测。本研究选取国内报道频率比较高的耳聋基因,采用酶切法、芯片法和测序法对来哈尔滨医科大学附属第四医院耳鼻喉科收治的来自黑龙江省部分地区的感音神经性耳聋患者进行了耳聋基因筛查,以期对预测和预防感音神经性耳聋提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

研究对象的病例组来自于哈尔滨医科大学附属第四医院耳鼻喉科收治的黑龙江省部分地区的 116 例耳聋患者,并不是某特定区域的聋哑学校的学生。正常对照组来自我科就诊的听力正常人,且没有家族遗传病史和耳疾病史。采用问卷调查,病例组由患者家属填写信息,同时签署知情同意书(年龄不满 18 岁者由其父母代签)。调查表内容主要包括:基本信息、耳聋史、家族史、出生史、个人史(传染病、耳毒性药物应用、头部外伤等)、体检等部分。由经过培训的专业人员选择参选对象,并进行纯音听阈测试、声导抗、耳声发射、多频稳态、听性脑干诱发电位和高分辨薄层中耳 CT 扫描及内耳核磁等影像学检查,所选对象明确诊断为 NSHL。

1.2 方法

每位患者取肝素抗凝外周静脉血 10mL 进行 DNA 提取、纯化。引物设计根据 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>,分别检索到耳聋基因 Slc26A4、GJB2、GJB3 的 mRNA 序列,设计其序列的引物(由表 1 所示)。采用热启动 PCR 程序在 10 μL 反应体系扩增各对引物。测序结果用 DNASTar 软件中的 EaiSeq 和 SecMan 程序分析,以 NCBI 数据库中的 Slc26A4、GJB2、GJB3 的 mRNA 序列为参考,进行序列对比,并检测出基因的变异情况,再统计变异的频率。

2 结果

2.1 三种耳聋基因突变的结果

本实验共对 116 例 NSHL 患者(病例组)和 29 例听力正常样本(对照组)进行了 Slc26A4、GJB2、GJB3、SrRNA1555 基因突变检测。病例组年龄从 4 个月到 29 岁;男性 52 人,女性 64 人;汉族 98 人,满族 1 人,没有注明民族信息的有 17 人,共检出具有 Slc26A4、GJB2、GJB3 三种基因突变的患者 62 例,不具备和/或未检查出这三种耳聋敏感基因突变的患者共有 37 例,因时间关系需要待检查的耳聋患者 17 例。对照组年龄从 24 岁至

表 1 扩增 Slc26A4、GJB2、GJB3 基因编码区的引物序列

Table 1 Primer's sequence to amplify gene coding regions of Slc26A4, GJB2 and GJB3

Gene	amplified fragments	Primer sequences	Product size
Slc26A4	Slc26A4A	F:5'-tctcgtatccagcagcaatg-3' R: 5'-ctgtgagaccagcacttgga-3'	223bp
	Slc26A4B	F:5'-ggcttgacagattggattcat-3' R: 5'-gtgagcaatccagcagtgaa-3'	221 bp
	Slc26A4C	F:5'-gtgacgtcatttcgggagtt-3' R: 5'-cattgctgctggatacgaga-3'	246 bp
	Slc26A4D	F:5'-tccccaataaccagtgcaag-3' R: 5'-gccatgctcagaacaacaga-3'	244 bp
	Slc26A4E	F:5'-gtgacgtcatttcgggagtt-3' R: 5'-gccatgctcagaacaacaga-3'	210 bp
	Slc26A4F	F:5'-gtgccaatccatagcctgt-3' R: 5'-tagcatcatggaccgtcaaa-3'	219 bp
	Slc26A4G	F:5'-agtccaatccatagcctgt-3' R: 5'-tagcatcatggaccgtcaaa-3'	221 bp
	Slc26A4H	F:5'-gcgtacactgcatcctgaa-3' R: 5'-ctagccattttgccatgtt-3'	208 bp
	Slc26A4I	F:5'-aggctttgactctggggact-3' R: 5'-tctttaggcagggtgactg-3'	220 bp
	Slc26A4J	F:5'-tgagctgcactgatcaccat-3' R: 5'-ttggcctgtgtctgtactt-3'	227 bp
	GJB2A	F: 5'-gtttaacgcattgccagtt-3' R: 5'-ggcctacagggtttcaaat-3'	149bp
	GJB2B	F: 5'-caaaccgcccagagtagaag-3' R: 5'-tgtgggagatgggaagtag-3'	240bp
GJB3	GJB3A	F: 5'-gagtggtgcagggtgaagca-3' R: 5'-gtataccagcaccggaaga-3'	233 bp
	GJB3B	F: 5'-aggtcctacaggggctgagt-3' R: 5'-gctagcagtgccctaagtgg-3'	212 bp

48 岁,均为汉族人,其中男性 10 人,女性 19 人。因基因突变在人出生后的成长中发生突变的概率极低,因此对照中不存在年龄等分布不平衡。在 62 例病例组基因突变样本中,单纯发生 Slc26A4 基因突变的患者有 13 例,单纯发生 GJB2 基因突变的患者有 45 例,单纯发生 GJB3 基因突变的患者 0 人,同时具有两个耳聋基因突变的患者 2 例,其中 1 例兼有 GJB3 基因突变。具体实验结果和基因突变的位点信息如表 2 所示。而在 29 例正常样本中没有发生上述的基因突变。

从表 2 可见,在被检出的耳聋基因突变中,主要是 GJB2 基因变异,以 235 位点发生变异的频率最高,有 28 例,约占总检出耳聋患者的 45.2%;其次为 299 位点,其突变比率为 16.1%;另一个主要突变基因是 Slc26A4,该基因主要在 IVS7-2 位点发生突变,约占 Slc26A4 基因位点突变的 84.6%,占总检出耳聋患者的 17.7%。因此,上述三种基因突变以 GJB2 和 Slc26A4 为主,主要的突变位点依次是 GJB2-235、Slc26A4-IVS7-2 和 GJB2-299。此外,值得注意的是 GJB2 基因 79 位点发生变异的比率高,为 21%。

2.2 具有基因突变的耳聋患者的其它资料分析

表 2 NSHL 耳聋患者中 Slc26A4、GJB2、GJB3 基因突变的情况
Table 2 The gene mutations of Slc26A4, GJB2 and GJB3 in patients with NSHL

Serial number	Genetic mutat	Gene mutation type	Gene mutation site	The number of genetic mutations	Mutations in the proportion of total ones
1	Slc26A4	Heterozygous mutations	IVS7-2	6	9.68%
			2168	1	1.61%
			IVS7-2and2168	2	3.23%
		Homozygous mutations	IVS7-2	3	4.84%
			79	5	8.06%
			299	4	6.45%
			235	10	16.13%
			235and35	1	1.61%
			235and299	3	4.84%
			235、299and300	1	1.61%
			109	1	1.61%
			79、358	1	1.61%
			299and176	1	1.61%
2	GJB2	Homozygous mutatios	79	5	8.06%
			299	1	1.61%
			235	11	17.74%
			176	1	1.61%
		Absence of heterozygous	235	1	1.61%
		Absence of heterozygous and Heterozygous mutations	79absence of heterozygous and176/191 heterozygous mutations	1	1.61%
3	GJB2and SLC26A4	Heterozygous	GJB2-235andSLC26A4-IVS7-2	1	1.61%
4	GJB2and GJB3	Heterozygous	GJB2-79andGJB3-250	1	1.61%

对于前来就诊的耳聋患者,除了对他们进行耳聋基因筛查之外,还通过调查问卷和听力检测等手段了解有关信息。此次临床检查与问卷调查主要涉及出生方式、耳聋家族史、个人病史、耳声发射、脑干诱发电位、声导抗、耳聋表型以及治疗情况,以了解 NSHL 与外界因素有无相互影响的关系。具体信息如表 3 所示。

从表 3 可见,被检出的 62 例耳聋患者中,患者的出生方式对耳聋无明显影响。具有耳聋家族史的患者比例较低,这可能与致聋基因的主要类型及隐性遗传的特点有关,大多表现为耳聋基因携带者,基因突变致聋主要来自没有耳聋家族史的家庭。此外,有无病史对该基因突变的耳聋也无明显影响。以上结果表明这类耳聋都可能是由遗传基因决定的,与出生方式及后来生活的外部因素无关。有潜在致聋危险说明积极开展耳聋基因筛查的必要性。从听力学的临床检查来看,耳声发射、听性脑干诱发电位和声导抗等都证明了基因突变所致的遗传性耳聋在听功能上产生严重的损伤。常常导致重度或极重度感音神经性耳聋。

3 讨论

耳聋是世界范围内最常见的感觉障碍疾病。据统计,每

1000 个新生儿中就有 1-3 名耳聋儿童,其中约有一半与遗传因素有关^[9]。国内外学者对此病均进行了较深入的研究。由于大约一半以上的非综合征性遗传性耳聋是因 GJB2 (gap junction beta2)基因突变引起的,所以 GJB2 一直是国内外耳聋分子遗传学研究领域的热点,其突变位点多达 140 多个,且有明显的种族特性。有研究表明 35delG 是欧美人群中常染色体隐性遗传性聋最常见的突变位点,而 235delC 则是东亚地区耳聋人群最常见的突变^[11]。本课题研究也发现黑龙江部分地区被检出存在基因突变的耳聋患者多是 GJB2 基因发生了突变,少数患者表现为 Slc26A4 突变。此结果不仅在黑龙江部分地区得到了验证,在中国其它地区也是如此。

GJB2 基因编码的 Cx26 属于缝隙连接蛋白,与相邻细胞的缝隙连接蛋白组成一个完整的缝隙连接通道,在信息传导和物质交换中起重要作用,是完成电解质、第二信使和代谢产物的细胞间转换的重要通道^[12-15]。目前的研究普遍认为 GJB2 基因突变使得钾离子回流进入内淋巴的循环受到影响,导致感音神经性耳聋。在 GJB2 基因变异的耳聋患者中,60.9%表现为 GJB2 基因 235 位点变异,共 28 例属于该类耳聋。235delC 导致移码突变,使翻译提前终止于 81 号密码子,比野生型的 Cx26 (缝隙连接蛋白)截短了 145 个氨基酸,产生无功能的 Cx26,致

表 3 临床检查与问卷调查信息汇总

Table 3 The information summary about clinical examination and questionnaire

Item			Age groups (years)						Total
			0-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	
Case			34	14	5	1	4	4	62
Birth type	Caesarean birth		12	1	1	0	0	0	14
	Eutocia		17	8	2	1	2	0	30
	Unspecified		5	5	2	0	2	4	18
	Deafness		9	3	0	0	0	0	12
Family history of deafness	Non-deafness		21	8	4	0	3	2	38
	Unspecified		4	3	1	0	2	2	12
	Non-illness		24	9	4	0	2	2	41
History of illness	Illness		3	2	0	0	0	0	5
	Unspecified		7	3	1	0	3	2	16
	Not through		34	14	5	0	5	4	62
Otoacoustic emission	Through		0	0	0	0	0	0	0
	Not induced out		34	14	5	0	3	3	59
Auditoru brainstem response	Induced out		0	0	0	0	2	1	3
	A		33	14	4	0	4	4	59
Acoustic immittance measurment	Tympanogram	B	0	0	0	0	1	0	1
		C	1	0	1	0	0	0	2
	Acoustic appear		0	0	0	0	0	0	0
Deafness type	stapedius reflex	disappear	34	14	5	0	5	4	62
		Double deafness	31	12	3	0	0	0	46
		Volatility deafness	1	0	0	0	1	0	2
		Unspecified	2	2	2	0	4	4	14
Treatment	Cochlear implant		9	6	2	0	0	0	17
	Hearing aid		17	7	2	0	0	1	27
	Non-treatment		8	1	1	0	5	2	17

Note:

① tympanum pressure at-150~+150, compliance>0.27, type A curve tympanum pressure>150or<-150,compliance>0.27, type C curve compliance<0.27,Curve flattens, type B curve

② Abnormal of auditory brainstem response:Waveform poorly differentiated,its Repetition rate poor, volatility Low, abnormal wave incubation period, abnormal wave interphase

缝隙连接缺损,使细胞间信息传递受阻或紊乱,从而引起听力损失。王冰等也认为,GJB2 235delC 是中国人 NSHI 患者中的主要突变方式,其实验检测的中国人发生 GJB2 基因突变的检出率为 21.01%,GJB2 基因相关性耳聋(双等位基因突变)有 14.96%^[6],两者共计 35.97%,而本研究的检出率高达 42.3%,高于其他学者在中国其他地区的调查水平。GJB2 基因相关耳聋患者的螺旋神经节细胞数量正常,引起的耳聋大多表现为语前发病,呈对称性,且呈中重度或极重度耳聋,故通过基因检查确诊为 GJB2 基因致聋,适合人工耳蜗的植入,并预示着良好的疗效。但目前有学者认为,GJB2 基因引起的耳聋在听力损失程度、始发年龄及是否为对称性方面都存在着一一定的多样性。本次调查中,GJB2-79 位点的突变率也高于国内其他地区的调查报告结果(116 例中检出 13 例,在 62 例有基因突变的耳聋患者中占 21%),这是否预示着黑龙江省遗传性 NSHI 的一种独特表现形式,亦或是 79 位点的一种多态性,尚有待于进一步研

究。

在基因突变检测阳性的人群中,有 1 例同时具有 GJB2-79 基因纯合突变和 GJB3 基因 250 位点杂合突变。GJB3 基因突变既可表现为隐性遗传,又可表现为显性遗传。GJB3 基因与 GJB2 基因虽然不在同一条染色体上,但都编码连接蛋白,在内耳离子平衡中发挥作用。按照双等位基因致聋的模式,GJB2 基因有可能与 GJB3 基因共同导致耳聋患者的发病。关于 GJB3-250 在致聋中的具体作用及其与 GJB2-79 的关系,我们将追踪其家族成员,做进一步调查分析。

本组受检人群中,除了 GJB2 之外,另一主要致聋基因是 SLC26A4 基因。该基因在黑龙江部分地区的检出率为 11.2 (13/116=11.2%,在 62 例中占 21%),主要突变位点为 IVS7-2 和 2168,其突变检出率分别为 7.8 (11/116=7.8%)%和 1.7% (4/116=1.7%)%,而两者杂合位点位点突变为 1.7 (2/116=1.7%)%。

从表3可以看出,个人有无病史对该基因突变的耳聋也没有直接的关系。这都说明这类耳聋都是先天的基因决定的,与出生方式及后来生活的外部因素无明显关联。同时也说明对新生儿进行听力筛查的同时融入耳聋基因筛查是非常必要的。

临床上很多耳聋患者的父母听力都是正常的,这说明大部分耳聋基因都是隐性遗传的,父母仅是易感基因的携带者,但很可能会生育先天性耳聋的患儿。若先证者聋病基因检测结果为阳性,多数情况下其父母再生育聋儿的风险为25%,再次怀孕时必须进行胎儿的产前诊断,这对优生优育具有深刻指导意义。

通过上述的听力筛查与研究,儿童和青少年患有遗传性耳聋的比率超出了我们的想象,这些耳聋需要早筛查和早治疗,有利于儿童的语言学习和生活能力的培养等。虽然我们在中国黑龙江做耳聋基因筛查是部分的人群,由于他们是随机来我院就诊,在某种程度上也能反映出黑龙江地区耳聋致病基因的情况。这对今后做好黑龙江地区婴幼儿听力筛查和早期诊断十分有意义,为今后基因致聋的预防和控制提供了很好的途径。因此,要积极开展耳聋的产前诊断,这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。需要指出的是黑龙江是一个多民族的地区,有研究表明致聋基因突变有着明显的地域性和种族差异,全面而准确的描绘黑龙江省地区耳聋基因的概况,还需要进一步调查研究。

参考文献(References)

- [1] Zhu Yu-hua, Zhai Suo-qiang, Dai Pu, et al. Relevance Chinese population GJB2 gene variation and the genetic susceptibility to age-related hearing loss analysis [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2008, 6(4): 375-380
- [2] Jiang Lu, Fengn Yong, Chen Hong-sheng, et al. Hunan area China non syndromic deafness patients with mutations of the SLC26A4 gene[J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2010, 24(13): 587-591
- [3] Liu Ming, Xu Zhi-yong, Gao Guo-feng, et al. The mutation analysis of SLC26A4 IVS7-2A>G gene of hereditary deafness pedigrees [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2009, 7(3):234-236
- [4] Shi Ming, Yang Yi-bing, Zhao Mei, et al. Deafness gene analysis of cochlear implant children parents hearing normal phenotype [J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2012, 26(19)
- [5] Bo Yun-fei, Lv Xiao-guang, Wang Yang, et al. Site analysis of 22 cases of pathogenic genes in patients with non syndromic hearing loss mutation [J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing, 2010, 30 (3): 390-393
- [6] Prez and TR, Agapian JV, Bohlman MC. RNA mutation associated with both antibideafness[J]. Nat Genet, 1993, 4(3): 289-292
- [7] Kalatzis V, Petit C. The fundamental and medical impacts of recent progress in research on hereditary hearing loss [J]. Hum Mol Genet, 1998, 7(10): 1589-1597
- [8] Li Z, Li R, Chen J, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss [J]. Hum Genet, 2005, 117 (1): 9-15
- [9] Zhang Yan, Dai Pu, Xue Xi-jun, et al. Study on mtDNA gene mutation and GJB2 military noise induced hearing loss group [J]. Journal of Audiology and Speech Pathology, 2009, 17(6): 137-139
- [10] Morton CC. Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system[J]. Hum Mol Genet, 2002, 11(10): 1229-1240
- [11] Abe S, Usami S, Shinkawa H, et al. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese[J]. J med Genet, 2000, 37(1):37-41
- [12] Zhu Yi-ming, Guo Yu-fen, Liu Xiao-wen, et al. The susceptible gene of deafness deaf mute Students in Shanxi Province, epidemiological studies[J]. Journal of Audiology and Speech Pathology, 2010, 18 (3): 225-228
- [13] Li Qi, Fang Ru-ping, Huang De-liang, et al. A comparative study of "Xinjiang Han and Uighur deafness gene mutations [J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2010, 24 (1): 11-15
- [14] Tao Zheng, Ma Yan, Ouyang Zhi-guo, et al. 205 cases of congenital non syndromic deafness in children with GJB2 gene mutation analysis [J]. Journal of Audiology and Speech Pathology, 2010, 18 (1):67-68
- [15] Hui Pei-lin, Guo Yu-fen, Bao Xiao-lin, et al. The frequency of mutation analysis of GJB2 China northwest deafness pedigrees gene [J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2008, 6 (4):385-388
- [16] Wang Bing, Yao Hong-bing, Xu Jie, et al. Syndromic deafness in children with GJB2 235delC and 12S rRNA mitochondrial DNA A1555G mutation analysis [J]. Journal of Third Military Medical University, 2009, 15: 1451-1452
- [17] 何庆泗, 张楠, 姜希宏. 4种肿瘤标记物对大肠癌定性诊断价值的研究[J]. 山东医科大学学报, 2000, 38(1): 23-25
- [18] He Qing-si, Zhang Nan, Jiang Xi-hong. Value of 4 tumor markers in diagnosis of colorectal cancer [J]. Acta Academiae Medicinae Shandong, 2000, 38(1): 23-25
- [19] Hartwig S, Kotzka J, Müller H, et al. Enhancing mass spectrometry based serum profiling by a combination of free flow electrophoresis and ClinProt[J]. Arch Physiol Biochem, 2009, 115(5): 259-266
- [20] Du J, Yang S, Lin X, et al. Use of anchorchip-time-of-flight spectrometry technology to screen tumor biomarker proteins in serum for small cell lung cancer[J]. Diagn Pathol, 2010, 5: 60
- [21] He A, Bai J, Huang C, et al. Detection of serum tumor markers in multiple myeloma using the CLINPROT system [J]. Int J Hematol, 2012, 95(6): 668-674

(上接第5303页)

- [13] Okamoto A, Yamamoto H, Lmei A, et al. Protein profiling of post-prostatic massage urine specimens by surface-enhanced laserdesorption/ionization time-of-flight mass spectrometry to discriminate between prostate cancer and benign lesions[J]. Oncol Rep, 2009, 21(1): 73-79
- [14] Diamandis EP. Analysis of serum proteomic patterns for early cancer diagnosis: drawing attention to potential problems [J]. J Nat Cancer Inst, 2004, 96(5): 353-356
- [15] Ruan SL, Wang R, Chen XY, et al. Initial research on FTIR spectroscopy of lyophilized serum from colorectal cancer patients [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(2): 354-358
- [16] 冀子中, 詹利永. 肿瘤标记物联合检测在大肠癌诊断及随访中的价值[J]. 中华消化杂志, 2004, 24: 237-238
- [17] Ji Zi-zhong, Zhan Li-yong. Combined detection of tumor markers in colorectal cancer diagnosis and follow-up value[J]. Chin J Dig, 2004,