

PAX3 基因新突变致 I 型 Waardenburg 综合征 家系基因型与表型特征分析*

李霞¹ 赵声波² 毕先云¹ 娄凡¹ 曾文娟¹ 高燕¹ 毛志勇¹ 马静^{1,3}

[摘要] 目的:通过对云南地区 I 型 Waardenburg 综合征(WS)一家系的突变基因致病性进行鉴定分析,探讨可能的分子生物学致病原因。方法:经知情同意,对具有 WS 表型的先证者及其家属进行病史采集、体格检查、听力学评估。获取外周血,提取基因组 DNA,高通量测序方法对耳聋相关基因进行检测,对先证者及其家属进行突变位点的 Sanger 测序验证分析。结果:先证者高通量测序发现 PAX3 基因第 5 外显子 c. 602C>G 突变,该突变为无义突变。导致编码蛋白质第 201 位氨基酸由丝氨酸变为终止密码子,氨基酸提前终止翻译,蛋白质截短。经 Sanger 测序验证先证者父亲携带相同位点的突变,弟弟该位点未突变。根据美国医学遗传学与基因组学学会遗传变异分类标准与指南(ACMG),判定为致病性(PVS1+PM2+PP3)。保守性分析提示多个物种氨基酸序列一致,具有高度保守性。结论:结合临床诊断及基因诊断结果,初步认定该突变为患儿致病原因。本研究丰富了 PAX3 基因的突变图谱,为临床分子诊断及遗传咨询提供了一定参考。

[关键词] 耳聋基因;Waardenburg 综合征;PAX3;基因型;DNA 突变分析

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2021.07.010

[中图分类号] R764.43 **[文献标志码]** A

Genotype and phenotype analysis of a family with Waardenburg syndrome type I caused by a novel mutation in PAX3 gene

LI Xia¹ ZHAO Shengbo² BI Xianyun¹ LOU Fan¹ ZENG Wenjuan¹ GAO Yan¹
MAO Zhiyong¹ MA Jing^{1,3}

(¹Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Kunming Children's Hospital, [Children's Hospital Affiliated to Kunming Medical University], Kunming, 650228, China; ²Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Zhaotong First People's Hospital; ³Kunming Key Laboratory for Prevention and Control of Congenital Birth Defects of Children) Corresponding author: MA Jing, E-mail: majing@etyy.cn

Abstract Objective: To identify gene mutation and analysis the association between clinical characterizes and the mutations in a family of Waardenburg syndrome (WS) type I in Yunnan, China. **Methods:** With informed consent, the proband with WS phenotype and his family members were given medical history collection, physical examination and audiological evaluation. Peripheral blood was obtained, genomic DNA was extracted, and deafness related genes were detected by high-throughput sequencing. Sanger sequencing was used to verify the mutation sites of proband and his family members. **Results:** C. 602C>G mutation in exon 5 of PAX3 gene was identified, which is nonsense mutation and may cause a truncated protein. The mutation cause 201 amino acid of the protein changed from serine to stop codon. According to the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), it is considered as Pathogenicity(PVS1+PM2+PP3). This mutation has not been included in the database also not been reported in the literature. **Conclusion:** Combined with the results of clinical diagnosis and gene diagnosis, this mutation was considered as the cause of the disease. This study enriched mutation spectrum of PAX3 gene.

Key words deafness gene; Waardenburg syndrome; PAX3; genotype; DNA mutational analysis

Waardenburg 综合征(Waardenburg syndrome, WS)又称听力-色素综合征,是综合征型耳

聋常见类型之一,由荷兰眼科医生及遗传学家 Waardenburg 于 1951 年首次报道^[1]。李进等(2020)报道 WS 的突出表现为感音神经性听力损失及色素沉着异常(虹膜异色、早白发、面部雀斑等)。临床上将 WS 分为四型, I 型与 II 型均具有上述表型,但 I 型较 II 型内眦间距更宽, III 型在 I 型基础上合并上肢畸形, IV 型在 II 型基础上合并先天性巨结肠或肠道闭锁。目前,已发现 WS 与 7 个基因相关,分别是 *MITF*、*PAX3*、*SOX10*、*SNAI2*、

*基金项目:云南省儿童听力障碍及语言疾病综合防治省创新团队(No:2019HC026);云南省中青年学术和技术带头人后备人才培养项目(No:2019HB102)

¹昆明市儿童医院(昆明医科大学附属儿童医院)耳鼻咽喉头颈外科(昆明,650228)

²昭通市第一人民医院耳鼻咽喉头颈外科

³昆明市儿童先天出生缺陷防控研究重点实验室

通信作者:马静, E-mail: majing@etyy.cn

EDN3、*EDNRB*、*KITLG*, 其中 *PAX3* 与 *WS I* 和 *WS III* 相关联, *SOX10*、*MITF*、*KITLG* 和 *SNAI2* 通常导致 *WS II*, *SOX10*、*EDNRB* 和 *EDN3* 则与 *WS IV* 相关^[2-6]。

PAX3 基因(pair box3, 配对盒基因), 位于染色体 2q35-2q37, 包含 10 个外显子, 编码 479 个氨基酸, 是配对盒转录因子 *PAX* 家族成员之一。*PAX3* 蛋白含有 4 个高度保守的结构域: 配对框结构域(PD), 同源结构域(HD), 八肽和一种富含丝氨酸-苏氨酸-脯氨酸的转录激活结构域^[7]。*PAX3* 在黑色素母细胞、背根神经节细胞、血旺前体细胞等源自神经嵴细胞分化成的各种细胞内表达。在黑色素母细胞谱系中, *PAX3* 的表达有助于多种内耳成分的发育。黑色素细胞是构成耳蜗内血管纹的重要成分, *PAX3* 影响黑色素细胞合成, 表现为不同程度的感音神经性聋^[8]。黑色素细胞发育不良, 黑色素合成减少, 也会表现出皮肤、毛发、虹膜低色素等临床症状。*PAX3* 突变还可造成颅面骨骼、牙齿及四肢等异常, 可表现为 *WS* 或颅面-耳聋-手综合征(OMIM 数据库编号 122880)。李进等(2020)报道 *PAX3* 基因是 *WS I* 和 *WS III* 的主要致病基因, 约 80% 的 *WS I* 患者可检出 *PAX3* 的突变。该基因突变导致的症状较多, 严重程度也不尽相同。本文通过对 1 例 *PAX3* 突变患儿及家系分析, 探索其可能的致病原因, 并结合既往报道的相关资料, 统计 *PAX3* 突变的位点情况, 分析 *PAX3* 蛋白相关结构的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

研究对象来自我国云南地区, 2020 年 7 月于我院就诊的 1 例先天性感音神经性聋合并虹膜异色的患儿, 该患儿家系共 2 代 6 人。采集患儿和家系的临床资料, 系统进行耳科、眼科、毛发、皮肤、四肢关节、消化系统等全面体格检查及智力评估。计量先证者内眦距离(A)、瞳孔距离(B)及外眦距离(C), 计算 W 值 $\{X=[2A-(0.2119C+3.909)]/C, Y=[2A-(0.2497B+3.909)]/B, W=X+Y+(A/B)\}$, 并进行临床听力学检测, 颞骨 CT、颅脑 MRI、腹部 B 超检查, 完善检查后欲行人工耳蜗置入手术。本研究经我院医学伦理委员会批准, 基因诊断取得患儿家属的同意并签署知情同意书, 患儿由监护人代签。此外本研究招募了 100 名年龄在 7~30 岁的正常对照者, 其中包括没有相关遗传疾病的 50 例男性和 50 例女性。本研究的所有参与者获得书面知情同意。

1.2 基因检测方法

1.2.1 DNA 文库制备 使用 DNA 提取试剂盒(天根生物技术有限公司)从外周血中提取基因组 DNA。使用 Nanodrop 2000(Thermo Fisher Sci-

entific, Inc. Wilmington, DE, USA)对 DNA 进行定量。随后, 将 $>3 \mu\text{g}$ DNA 用于 Illumina 文库的构建(Illumina, Inc., 圣地亚哥, 加利福尼亚, 美国)。使用 Covaris-S220(美国马萨诸塞州沃本市的 Covaris, Inc.)将总共 $3 \mu\text{g}$ 的基因组 DNA 片段化。每个 DNA 片段的 3' 末端都连接一个“A-tail”。将 Illumina 衔接子连接至片段。目标样品大小为 350~400 个碱基对(bp)产品, 选择符合大小的 DNA 片段, 通过聚合酶链式反应(Applied Biosystems 2720 PCR; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)进行扩增, 方法如下: 98℃初始变性 1 min, 在 98℃变性 20 s, 变性 9 个循环, 在 65℃退火 30 s, 在 72℃扩展 30 s, 最后扩展至 72℃, 5 min。用 Nanodrop 2000 或 Qubit 4 荧光计(Thermo Fisher Scientific, Inc.)检查所有样品, 以确定它们是否代表合格的捕获文库。选择 350~450 bp 的 DNA 片段, 并选择包含衔接子序列的寡核苷酸作为 DNA 文库。

1.2.2 目的基因捕获和测序 使用 Gen Cap 试剂盒(My Genostics Inc., 北京), 基因捕获策略选择与遗传性听力损失疾病相关的 406 个基因。将基因组 DNA 随机打断成片段, 与 Illumina PE 接头寡核苷酸混合物链接, 对产物进行链接介导的聚合酶链式反应(LM-PCR)扩增纯化后得到 DNA 文库, 并对其进行质量检测, 将上述 PCR 产物与目标区域捕获芯片进行杂交以富集目标区域序列, 借助 Illumina HiSeq 2000 第 2 代测序仪进行双端测序, 读长为 150 bp。对原始数据进行初步处理, 包括图像识别和样本区分。

1.2.3 筛选 在该实验中, 芯片捕获的区域包括了人类基因组中的所有外显子及其侧翼序列(约 100 bp)。来自高通量测序的原始数据通过 Illumina pipeline(版本 1.8.2)产生。去除低质量数据, 通过 BWA(Burrows-Wheeler 比对器)将“干净”读数与人类基因组的参考序列(UCSC, hg19)比对。分别用 SOAPsnp 和 GATK 软件收集 SNPs 和 INDELS。参考 dbSNP 数据库、1000 基因组数据库、ESP-da-tabase(NHLBI 外显子组测序项目)和 100 例健康对照者的数据, 选择频率小于 0.05 的突变位点作为可疑的病理突变。

1.2.4 Sanger 测序 来自先证者亲本的基因组 DNA 从静脉血中提取用于 Sanger 测序。基于高通量测序的结果, 设计引物(正向: 5'CTGTCTG-GACTGAAGTAGGACAC3', 反向: 5'CATG-GAAGACATTGGGAATG3')。PCR 扩增步骤: 在 95℃下初始变性 5 min; 34 个循环的 94℃变性 30 s, 60℃复性 30 s, 72℃延伸 45 s; 最后在 72℃下延伸 5 min。通过凝胶电泳分析长度为 420 bp 的 PCR 产物, 然后纯化。通过 ABI PRISM 3730

测序仪进行毛细管电泳测序,并分析突变。使用 SeqMan7.1 软件将 Sanger 测序结果与 PAX3 参考序列(NM_181457.3)比对。

1.3 统计学分析

LRT_pred, MutationTaster_pred 软件对突变进行预测分析。使用 Bioedit 软件在人类、黑猩猩、褐鼠、欧亚野猪、牛、绵羊、犬、鱼分析位于外显子上的突变位点附近基因序列的保守性。各物种 PAX3 基因序列来自于 NCBI 网站数据库。

2 结果

2.1 WS I 患儿家系的临床资料

该家系共两代,家系成员 6 人,绘制家系图谱(图 1)。先证者女(II-3),16 岁,回族,双耳听力差,右眼虹膜异色,宽鼻根,面部轻度色素沉着,内

眦间距 41 mm,外眦间距 92 mm,WS 指数:2.61 (>1.95),视力及智力正常(图 2a);父亲(I-1)右眼虹膜异色,听反应不佳,宽鼻根,白色头发、胡须(图 2b);母亲(I-2)、两个哥哥(II-1、II-2)和弟弟(II-4)无特殊临床表型。先证者行纯音测听检查示:双耳极重度感音神经性听力损失,右耳气导平均听阈 104 dB HL(图 3a),左耳气导平均听阈 100 dB HL(图 3b),听性脑干反应(ABR)95 dB nHL click 诱发无波(图 3c),声导抗双耳鼓室曲线 A 型(图 3d)。父亲纯音测听检查示:双耳中度感音神经性听力损失,右耳气导平均听阈为 48 dB HL(图 4a),左耳气导平均听阈为 41 dB HL(图 4b)。先证者母亲和兄弟未诉听力不佳。先证者颞骨 CT、颅脑 MRI 及腹部彩超无明显异常。

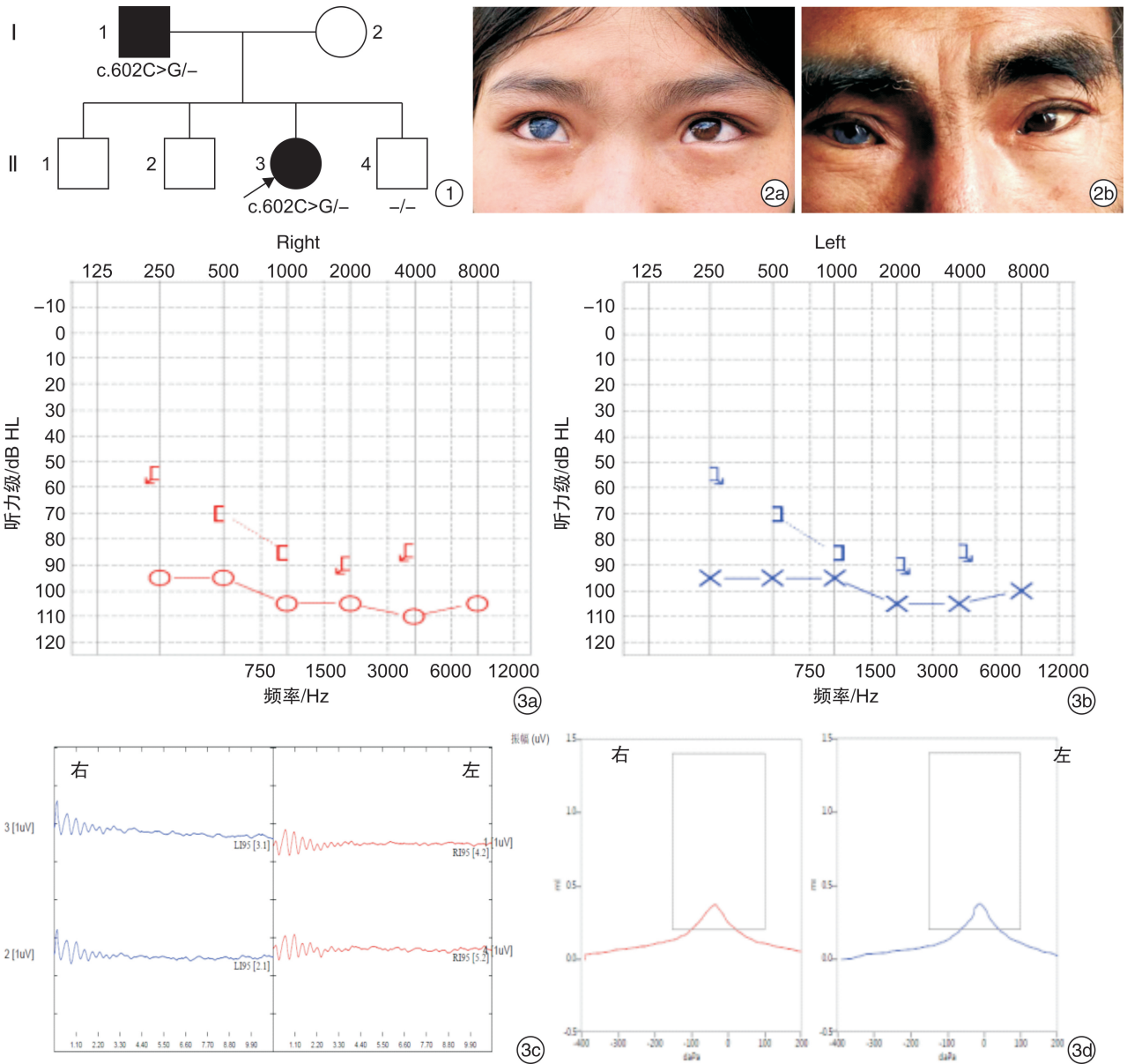
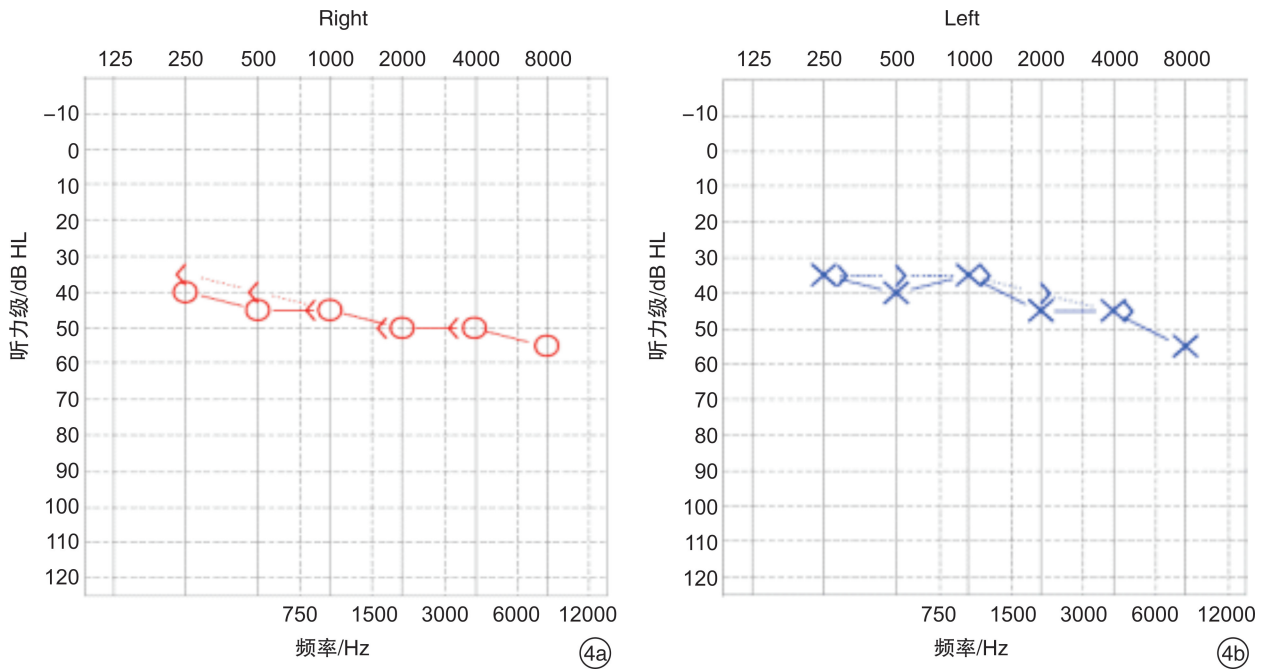


图 1 家系图 父亲(I-1),母亲(I-2),两个哥哥(II-1、II-2),先证者(II-3),弟弟(II-4); 图 2 临床表型 2a:先证者(II-3);2b:父亲(I-1); 图 3 先证者(II-3)听力检查 3a:右耳气导平均听阈为 104 dB HL;3b:左耳气导平均听阈为 100 dB HL;3c:ABR 双耳 95 dB nHL click 诱发无波;3d:声导抗示双耳鼓室曲线 A 型。



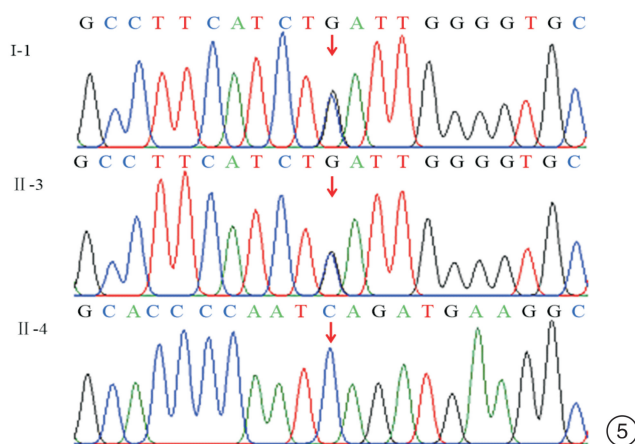
4a:右耳气导平均听阈为 48 dB HL;4b:左耳气导平均听阈为 41 dB HL。

图 4 父亲 (I-1) 听力检查

2.2 PAX3 突变检测结果

先证者进行 406 个已知耳聋基因相关位点检测,经过 dbSNP 数据库、千人基因组数据库,ESP 数据库过库分析排除健康人群中携带率高的变异,依据 ACMG 指南对变异进行分类。检测到先证者 PAX3c. 602C>G(p. Ser201*) 杂合变异,为无义突变,该突变导致第 201 位氨基酸由丝氨酸变为终止密码子,预计会产生截短表达的蛋白质而丧失其

正常功能(PVS1),同时正常对照人群数据库(Exome Sequencing Project EAST, 1000 Genomes Project,gnomAD_genome_ALL 等数据库)中均未发现该变异(PM2);LRT_pred,MutationTaster_pred 预测为 Dileterious(PP3)。经 Sanger 测序验证,患儿父亲携带该位点的变异,弟弟未携带,余亲属未采样(无 WS 表型)(图 5、6)。



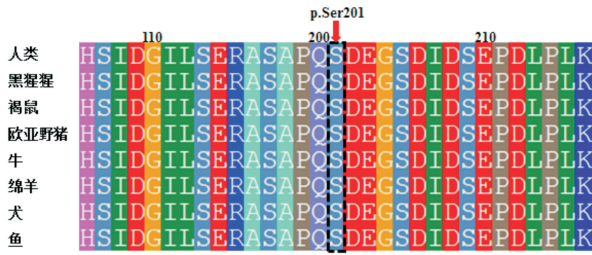
野生型	AAG	GCC	AAA	CAC	AGC	ATC	GAC	GGC
K	A	K	H	S	I	D	G	G
ATC	CTG	AGC	GAG	CGA	GCC	TCA	GCA	
I	L	S	E	R	A	S	A	
CCC	CAA	TCA	GAT	GAA	GGC	TCT	GAT	
P	Q	S	D	E	G	S	D	
ATT	GAC	TCT	GAA	CCA	GAT	TTA	CCA	
I	D	S	E	P	D	L	P	
CTA	AAG	AGG	AAA	ACT	TTT	TAG	
L	K	R	K	T	F	Ter	
突变型	AAG	GCC	AAA	CAC	AGC	ATC	GAC	GGC
K	A	K	H	S	I	D	G	G
ATC	CTG	AGC	GAG	CGA	GCC	TCA	GCA	
I	L	S	E	R	A	S	A	
CCC	CAA	TGA						
P	Q	Ter						

图 5 Sanger 测序图 父亲 (I-1) PAX3 c. 602C>G 杂合突变,先证者 (II-3) PAX3 c. 602C>G 杂合突变,弟弟 (II-4) 未携带该位点突变; 图 6 氨基酸变化示意图 先证者第 602 位碱基由 C 替换为 G,导致 201 位氨基酸由丝氨酸变为终止密码子, Ter 表示终止密码子。

先证者 PAX3 基因 c. 602C>G(p. Ser201*) 突变类型为无义突变,201 位氨基酸由丝氨酸突变为终止密码子,导致蛋白提前终止翻译,造成 PAX3 蛋白大片段截断。通过 Ensembl 数据库

(<http://asia.ensembl.org/index.html>) 检索氨基酸序列,BioEdit 软件进行保守性分析。结果显示,本研究的 PAX3 基因变异对应氨基酸位点 p. Ser201 在同源物种间呈高度保守(图 7),证明

p. Ser201 是 PAX3 蛋白的重要位点,对该蛋白发挥正常功能十分重要。



p. Ser201 在多个物种具有高度的序列保守性。

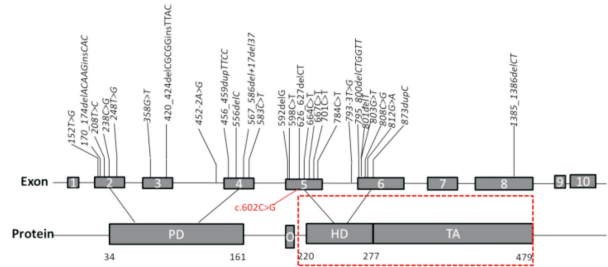
图 7 保守性分析

3 讨论

PAX3 基因位于 2 号染色体,由 10 个外显子组成,编码 PAX3 转录因子,是转录因子家族中的一员,具有高度保守性。位于外显子 3 上的第 108 位氨基酸为可变受体剪接位点,可产生含有或缺乏谷氨酰胺的同工异构体 Q+ 或 Q- 型,其具有独特的 DNA 结合特性^[8]。Q+ 型 PAX3 蛋白 8 号外显子末端蛋白终止翻译,形成具有 479 个氨基酸的蛋白质^[9]。PAX3 蛋白包含四个结构域,其中配对盒结构域(PD)位于 34~161 位氨基酸之间,由 2、3 和 4 号外显子编码;同源结构域(HD)位于 220~277 位氨基酸之间,含有 8 个氨基酸的高度保守的锌肽序列,位于 PD 和 HD 之间,是 PAX3 的抗原决定簇^[10],5 号和 6 号外显子编码保守的八肽和同源结构域;富含丝氨酸-苏氨酸-脯氨酸的转录激活域(TA),位于 278~479 位氨基酸之间,由 7 号和 8 号外显子编码。PD 和 HD 是 PAX3 蛋白的 DNA 结合域,可识别结合各自的 DNA 序列,协同作用激活调控下游靶基因转录^[10]。PAX3 可通过 PD 域和 HD 域与 MITF 转录起始点上游的顺式作用元件结合激活下游靶基因的转录,参与调控黑色素细胞的生长、发育与分化^[11]。同时,PAX3 也可与 SOX10 协同上调 MITF 的表达,SOX10 通过与 MITF 启动子的高度保守序列结合后使 MITF 转录活性提高,PAX3 可增强这种作用^[12]。研究证明,位于 PAX3 蛋白 PD 和 HD 结构域上的无义突变会影响 PAX3 与 SOX10 的相互作用^[13],从而影响黑色素细胞发育。

本家系中,基因检测结果发现先证者及其父亲 c. 602C>G 杂合突变,考虑先证者 PAX3 突变遗传自父亲。研究报道,PAX3 的突变大多位于 2~6 号外显子^[14],这些突变可能影响了 PD 域和 HD 域的完整性,从而影响 PAX3 转录因子的功能,c. 602C>G 位于 5 号外显子,在 2~6 号外显子之间,与报道相吻合。截止 2021 年 1 月,检索 HGMD 数据库及相关文献,中国人群中 PAX3 突变

且诊断为 WS I 的致病突变共计 34 种,突变位置如图 7 所示。据统计,约有 77% 的 PAX3 突变发生在 PD 域和 HD 域上或其之间。本家系中,先证者 c. 602C>G 杂合突变位于 PD 和 HD 结构域之间(图 8)。综上,我们初步判断,本家系中 PAX3 突变可能是 WS I 患者的分子病因。



红色字体表示先证者突变位点,红框表示 PAX3 蛋白截断区域。

图 8 中国人群 PAX3 突变位置信息

本研究发现 PAX3 的一个新发突变位点 c. 602C>G(p. Ser201*),该突变导致 PAX3 基因编码区第 602 位发生碱基替换,引起了 201 位氨基酸由丝氨酸变为终止密码子,导致氨基酸提前停止翻译,该突变位点位于 PD 域与 HD 域之间,导致从 201 位氨基酸后的序列缺失(如图 8 所示,虚线框部分),即该突变导致 HD 和 TA 结构域缺失。根据上文所述,PD 域和 HD 域对 PAX3 蛋白的功能维持具有重要作用。PAX3 上的无义突变导致 HD 结构域缺失后,与 DNA 结合受阻,影响了下游靶基因的转录和蛋白表达。在 WS 中,可能表现为 PAX3 与 SOX10 协同作用减弱,与 MITF 结合受阻,影响神经嵴细胞分化及黑色素细胞合成,表现出相关的临床表型。

PAX3 突变导致的 WS I 常见症状主要包括单、双侧感音神经性聋,虹膜色素异常,内眦异位及额白发。Song 等^[16]报道,PAX3 突变患者中 50% 存在听力损失,听力损失可能是大多数患者就诊的首要原因,本研究家系中先证者也是因为耳聋至我院就诊。对于皮肤色素异常,中国人群相关报道较少^[17],据报道在巴西人群中,19 例 PAX3 突变相关 WS 中有 6 例皮肤白斑^[18],推测皮肤色素异常在中国人群可能较少发生。

本研究中,先证者检出的突变位点上(c. 602C>G p. Ser201*)存在另一个变异 c. 602C>A (p. Ser201*),该突变同样引起 201 位氨基酸由丝氨酸变为终止密码子,并且被报道为致病突变,结合临床表型诊断为 WS I,表现为右耳先天性低频感音神经性聋,内眦异位,虹膜异色,白发^[19]。本家系中,先证者双耳听反应差,右眼虹膜异色,具有

内眦异位,宽鼻根,面部轻度色素沉着,但无毛发色素异常。可见,同一氨基酸的改变可造成不同表型。此外,本家系中 2 例患者突变位点一致,表型却存在一定差异。先证者表型如前所述,与父亲同样具有虹膜异色和听力损失,但听力损失程度不同,先证者耳聋程度较父亲严重,父亲还表现出白发、白须,先证者则无毛发色素异常,以上结果提示, *PAX3* 可能存在外显不全。我们推测本研究中 2 例患者存在的表型差异还可能与环境、个体差异、随机因素有关,但是目前尚无法阐明造成该差异的原因。此外,研究证明无义介导的 mRNA 降解的监视机制可降解无义突变的 mRNA,减少截短蛋白在体内的累积,这可能是某些 *PAX3* 无义突变却具有较轻 WS 表型的原因^[20-21]。

综上,本研究发现一个新的 *PAX3* 突变位点,丰富了 *PAX3* 的突变谱,为临床诊断 WS 提供了一定的参考依据。该家系中,先证者和父亲发生相同突变,但临床表型存在差异。*PAX3* 的临床异质性可能与多种因素有关,需进一步分析基因与表型的关系,利用蛋白质组学检测,寻找可能与 *PAX3* 存在相互作用的蛋白,探索可能的致病机制。

参考文献

- [1] Waardenburg PJ. A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows and nose root with pigmentary defects of the iris and head hair and with congenital deafness[J]. *Am J Hum Genet*, 1951,3(3):195-253.
- [2] Yu Y, Liu W, Chen M, et al. Two novel mutations of *PAX3* and *SOX10* were characterized as genetic causes of Waardenburg Syndrome[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020,8(5):e1217.
- [3] Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, et al. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome[J]. *Hum Mutat*, 2010,31(4):391-406.
- [4] 马静,明澄,林晔,等. II 型 Waardenburg 综合征患儿二例基因诊断分析[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2021,56(1):4754.
- [5] Ma J, Lin K, Jiang HC, et al. A novel mutation of the *PAX3* gene in a Chinese family with Waardenburg syndrome type I[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019,7(7):e00798.
- [6] 刘梦婷,张天虹. 综合征型耳聋的诊断与治疗策略[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2021,35(3):285-288.
- [7] Huang S, Song J, He C, et al. Genetic insights, disease mechanisms, and biological therapeutics for Waardenburg syndrome[J]. *Gene Ther*, 2021, 25.
- [8] Kim H, Ankamreddy H, Lee DJ, et al. *Pax3* function is required specifically for inner ear structures with melanogenic fates[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014,445(3):608-614.
- [9] Vogan KJ, Underhill DA, Gros P. An alternative splicing event in the *Pax-3* paired domain identifies the linker region as a key determinant of paired domain DNA-binding activity[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(12):6677-6686.
- [10] Boudjadi S, Chatterjee B, Sun W, et al. The expression and function of *PAX3* in development and disease[J]. *Gene*, 2018,666:145-157.
- [11] 王晶,赵娜,薛煜,等. 全外显子测序技术在 Waardenburg 综合征家系致病基因突变分析中的应用[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2018,41(3):656-660.
- [12] 郝子琪,周永安,李鹏丽,等. 七例 Waardenburg 综合征患者基因突变分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2016,33(3):312-315.
- [13] 刘亚兰,张华,冯永. 神经嵴发育异常导致综合征型耳聋的机制[J]. *遗传*, 2014,36(11):1131-1144.
- [14] Lang D, Epstein JA. *Sox10* and *Pax3* physically interact to mediate activation of a conserved c-RET enhancer[J]. *Hum Mol Genet*, 2003,12(8):937-945.
- [15] Jalilian N, Tabatabaiefar MA, Farhadi M, et al. A novel mutation in the *PAX3* gene causes Waardenburg syndrome type I in an Iranian family[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2015,79(10):1736-1740.
- [16] Song J, Feng Y, Acke FR, et al. Hearing loss in Waardenburg syndrome: a systematic review[J]. *Clin Genet*, 2016,89(4):416-425.
- [17] Li W, Mei L, Chen H, et al. New Genotypes and Phenotypes in Patients with 3 Subtypes of Waardenburg Syndrome Identified by Diagnostic Next-Generation Sequencing[J]. *Neural Plast*, 2019,2019:7143458.
- [18] Bocángel M, Melo US, Alves LU, et al. Waardenburg syndrome: Novel mutations in a large Brazilian sample[J]. *Eur J Med Genet*, 2018,61(6):348-354.
- [19] Merchant SN, McKenna MJ, Baldwin CT, et al. Otopathology in a case of type I Waardenburg's syndrome[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2001,110(9):875-882.
- [20] Shelby MV. Waardenburg Syndrome Expression and Penetrance[J]. *J Rare Dis Res Treat*, 2017,2(6):31-40.
- [21] Da CP, Menezes J, Romao L. The role of alternative splicing coupled to nonsense-mediated mRNA decay in human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017,91(Pt B):168-175.

(收稿日期:2021-04-08)