

与耳聋相关的线粒体 tRNA 突变*

郑 静¹⁾ 郑斌娇¹⁾ 方 芳¹⁾ 朱 翌²⁾ 吕建新¹⁾ 管敏鑫^{1, 3)**}

¹⁾ 温州医学院 Attardi 线粒体生物医学研究院和浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035;

²⁾ 温州医学院附属第一医院耳鼻喉科, 温州 325035;

³⁾ Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA)

摘要 线粒体 tRNA 基因突变是导致感音神经性耳聋的原因之一。有些 tRNA 突变可直接造成耳聋的发生, 称之为原发突变。如 tRNA^{Leu(UUR)} A3243G 等突变与综合征型耳聋相关, 而 tRNA^{Ser(UCN)} T7511C 等突变则与非综合征型耳聋相关。此外, 继发突变如 tRNA^{Thr} G15927A 等突变则对原发突变起协同作用, 影响耳聋的表型表达。这些突变可引起 tRNA 二级结构改变, 从而影响线粒体蛋白质合成, 降低细胞内 ATP 的产生, 由此引起的线粒体功能障碍可导致耳聋的发生。主要讨论与耳聋相关的线粒体 tRNA 突变及其致聋机理。

关键词 线粒体 tRNA, 耳聋, 原发突变, 继发突变

学科分类号 Q75, R394

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00025

耳聋是临床上最常见的疾病之一, 每 1 000 名新生儿中就有 1~3 例听力障碍患儿, 且约 30% 成年人在 65 岁后出现明显听力下降^[1-2]。遗传因素和环境因素(如耳毒性药物、噪音、外伤等)均可引起听力下降, 其中约 50% 的耳聋由遗传因素造成^[1]。线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)突变是导致耳聋发生的重要原因之一^[2]。突变形式主要有大片段缺失和点突变, 大多发生在 rRNA 和 tRNA 基因上。其中, 位于线粒体 12S rRNA 基因的 A1555G 和 C1494T 突变与氨基糖甙类抗生素耳毒性和非综合征型耳聋相关^[2], 而线粒体 tRNA 基因是母系遗传性耳聋的突变热点区域之一^[2]。本文主要介绍与耳聋相关的线粒体 tRNA 突变及其致聋机理。

1 线粒体与线粒体 tRNA

线粒体是真核细胞重要的细胞器之一, 为细胞各种生理活动提供能量, 同时, 在信号传导、细胞凋亡调控中发挥重要作用。人类体细胞含有成百上千个线粒体, 每个线粒体携带多拷贝 mtDNA。若细胞或组织中所有 mtDNA 都相同(全部突变型 mtDNA 或全部野生型 mtDNA), 称为同质性; 若同一细胞或组织中同时存在突变型 mtDNA 和野生

型 mtDNA, 则称为异质性。mtDNA 突变基因的表型表达具有阈值效应, 即只有突变型 mtDNA 分子达到一定数量或线粒体功能缺陷达到一定程度时, 才引起器官或组织的功能异常, 从而产生相应的临床表型。阈值效应和细胞或组织的能量需求密切相关, 即能量需求高的组织如骨骼肌、脑、心、肾和内分泌腺等更易受线粒体功能缺陷的影响。

人类 mtDNA 共编码 22 个 tRNA 基因, 散布于多肽和 rRNA 基因之间。其中, Glu、Ala、Asn、Cys、Tyr、Ser(UCN)、Gln 和 Pro 由轻(L)链编码; 其余 14 个由重(H)链编码, 分别是 Phe、Val、Leu(UUR)、Leu(CUN)、Ile、Met、Ser(AGY)、Trp、Asp、Lys、Gly、Arg、His 和 Thr。与胞质 tRNA 一样, 线粒体 tRNA 也存在转录后修饰, 修饰的核苷酸对于 tRNA 结构功能的稳定非常重要。但与经典细菌 tRNA、胞质 tRNA 相比, 线粒体 tRNA 含有较多的 G-U 配对和错配, 这也是线粒体 tRNA

* 国家自然科学基金(81070794)和国家重点基础研究发展计划(973)(2004CCA02200)资助项目, 浙江省重大科技专项社会发展项目(2007C13021)。

** 通讯联系人。

Tel: 0577-86689717, E-mail: gminxin88@gmail.com

收稿日期: 2011-04-07, 接受日期: 2011-08-11

不如胞质 tRNA 稳定的重要原因^[3]。线粒体 tRNA 上某些错配和 G-U 配对在进化上高度保守或参与高级结构的形成, 对于维持 tRNA 稳定性和特异性具有重要意义^[3]。

2 线粒体 tRNA 突变与耳聋

根据是否伴有其他症状, 耳聋可分为综合征型耳聋和非综合征型耳聋, 其中约 70% 的患者为非综合征型耳聋, 仅表现听力障碍。综合征型耳聋除听力下降外, 还伴有其他临床疾病, 如肌阵挛癫痫合并破碎红纤维综合征(myoclonic epilepsy and ragged

red fibers, MERRF)、线粒体脑肌病伴乳酸血症和卒中样发作综合征(mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes, MELAS)及母系遗传糖尿病合并耳聋综合征(maternally inherited diabetes mellitus and deafness, MIDD)等。目前已报道, 线粒体 tRNA 基因上有 40 余种突变与耳聋相关(图 1)。这些线粒体 tRNA 突变可分为原发突变和继发突变: 单一的原发性 mtDNA 突变即可引起听力障碍, 临床表型及严重程度随突变位点不同而异; 而继发突变本身不足以引起耳聋症状, 但对原发突变的耳聋表型表达有修饰作用^[4]。

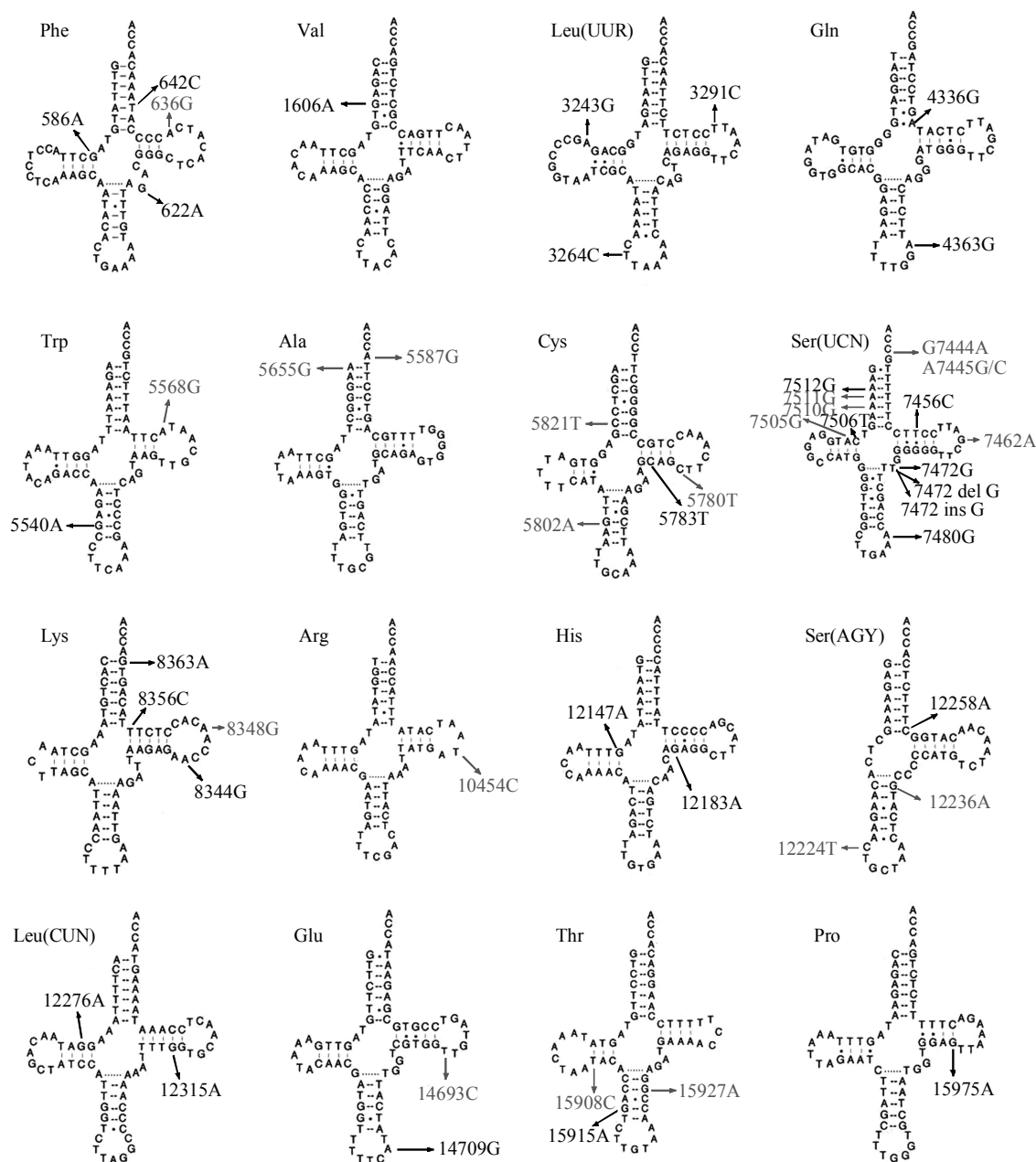


Fig. 1 Mitochondrial tRNA mutations associated with hearing loss

图 1 耳聋相关的线粒体 tRNA 突变

黑色位点表示综合征型耳聋相关 tRNA 突变, 灰色位点表示非综合征型耳聋相关 tRNA 突变。

2.1 与综合征型耳聋相关的 tRNA 原发突变

1992 年, 在 MIDD 患者中首次发现 tRNA^{Leu(UUR)} A3243G 突变^[5]. 该突变通常以异质性形式存在, 当细胞中 A3243G 突变型 mtDNA 占 70% 以上时, 导致较严重的线粒体疾病如 MELAS 和 MERRF 等, 而当患者血液中该突变型 mtDNA 低于 30% 时则表现为糖尿病, 这些患者往往伴随听力障碍, 且以高频听力下降为主. 该 tRNA 基因上 T3264C 和 T3291C 等突变也与综合征型耳聋相关^[6-7]. tRNA^{Leu(UUR)} A3243G 突变可影响 tRNA^{Leu(UUR)} 高级结构的形成, 影响氨酰化 tRNA 与核糖体结合^[8-9]; 同时, 还可引起反密码子第 1 位碱基(34U)的修饰缺陷, 影响该 tRNA 上反密码子的识别结合能力^[10], 从而造成线粒体转录翻译缺陷, 最终导致线粒体功能障碍.

线粒体 tRNA^{Lys} 基因突变往往导致 MERRF, 同时合并耳聋症状的突变有 A8344G、T8356C 和 G8363A 等突变, 多以异质形式存在^[11-13]. A8344G 突变可能引起 tRNA^{Lys} 高级结构发生改变, 造成 tRNA^{Lys} 稳定性和氨酰化能力明显下降^[14], 同时, 还可引起 34U 修饰缺陷, 造成 Lys 密码子不能参与翻译过程, 导致线粒体多肽合成提前终止, 可能影响线粒体整体蛋白质合成水平^[10, 14].

在一个意大利家系中首次报道 tRNA^{Ser(UCN)} 7472insC 异质性突变, 患者表现为耳聋或伴随肌肉组织或神经系统病变^[15], 而在其他一些综合征型耳聋家系中也发现 7472insC 同质性突变^[16]. Toompuu 等^[17]发现 7472insC 突变可造成 tRNA^{Ser(UCN)} 和氨酰化的 tRNA^{Ser(UCN)} 水平分别下降约 70% 和

25%. 赵建越等^[18]还报道了 tRNA^{Ser(UCN)} 7472delC 突变可能是一个中国耳聋 - 癫痫家系的发病原因.

1995 年, Nakamura 等^[19]在一个 MELAS、MERRF 伴听力下降的日本家系中发现 tRNA^{Ser(UCN)} T7512C 异质性突变. 此外, tRNA^{Ser(UCN)} 上 A7456G、T7480C 及 G7506A 突变均有报道可能与综合征型耳聋相关^[20-22].

线粒体 tRNA^{Glu} T14709C 异质性突变首次在一个意大利综合征型耳聋患者中发现^[23]. 该突变邻近 tRNA^{Glu} 反密码子, 可能影响其与密码子的识别结合. 转线粒体细胞实验发现, T14709C 突变可引起 tRNA^{Glu} 含量轻微降低^[24]. 在一个复杂的脑肌病、肌病合并听力障碍患者的肌肉组织中发现了 tRNA^{Val} G1606A 异质性突变^[25], 该突变位于 tRNA^{Val} 氨基酸受体臂, 突变成 A 后造成原来 G-C 配对消失, 从而可能影响与 Val 结合. 2003 年, 意大利学者首先报道了 3 例携带 tRNA^{His} G12183A 突变遗传不相关的患者, 该突变异质程度的不同导致患者间临床表型的差异^[26]. G12183A 突变位于 tRNA^{His} TψC 臂, 该位点在进化上高度保守, 可能影响 tRNA 高级结构的形成. 另外, 在一个 MLEAS、MERRF 伴听力障碍的男性患者中还发现 tRNA^{His} G12147A 突变^[27]. 线粒体 tRNA^{Ser(AGY)} C12258A 突变首次在一个色素性视网膜炎伴渐进性耳聋的英国家系中发现^[28]. 如表 1 所示, 在一些散发的综合征型耳聋患者中还报道了其他线粒体 tRNA 突变, 但有待进一步功能研究证实^[29-39].

Table 1 Mitochondrial tRNA mutations associated with hearing loss

表 1 与耳聋相关的线粒体 tRNA 突变

耳聋类型	基因	突变	表型	异质性 / 同质性突变	原发性 / 继发性突变	参考文献
综合征型耳聋	tRNA ^{Phe}	G586A	精神障碍、痴呆等伴听力下降	异质性	原发性	[29]
		G622A	运动障碍、皮肤感觉异常等伴听力下降	异质性	原发性	[30]
		T642C	PEO 等伴听力下降	异质性	原发性	[31]
	tRNA ^{Val}	G1606A	听力障碍、色素性视网膜炎、肌阵挛等	异质性	原发性	[25]
	tRNA ^{Leu(UUR)}	A3243G	MIDD/MELAS/MERRF	异质性	原发性	[5]
		T3264C	MIDD、MERRF、CPEO	异质性	原发性	[6]
		T3291C	渐进性认知行为退化伴听力下降	异质性	原发性	[7]
	tRNA ^{Gln}	T4336C	听力下降、偏头疼等	同质性	原发性	[32]
		T4363C	发育延迟、色素性视网膜炎等伴听力下降	同质性	原发性	[33]
	tRNA ^{Tyr}	G5540A	脑肌病等伴听力下降	异质性	原发性	[34]
	tRNA ^{Cys}	G5783A	肌病等伴听力下降	异质性	原发性	[35]

Continued

耳聋类型	基因	突变	表型	异质性 / 同 质性突变	原发性 / 继 发性突变	参考文献
非综合征型耳聋	tRNA ^{Ser(UCN)}	A7456G	糖尿病、色盲伴听力下降	同质性	原发性	[20]
		7472insC	听力下降、小脑共济失调、肌阵挛等	同质性 / 异质性	原发性	[15-16, 40-41]
		7472delC	耳聋、癫痫	同质性	原发性	[18]
		A7472C	肌病、糖尿病等伴听力下降(7472insC 突变) ¹⁾	同质性 / 异质性	原发性	[40-41]
		T7480C	肌病等伴听力下降	异质性	原发性	[21]
		G7506A	PEO、听力下降	异质性	原发性	[22]
		T7512C	MELAS/MERRF	异质性	原发性	[19]
	tRNA ^{Lys}	A8344G	MERRF、高血压 / 肌病伴听力下降等	异质性	原发性	[11]
		T8356C	MELAS、MERRF	异质性	原发性	[12]
		G8363A	MERRF/ 心肌病伴听力下降等	异质性	原发性	[13]
	tRNA ^{His}	G12147A	MELAS、MERRF	异质性	原发性	[27]
		G12183A	听力障碍、色素性视网膜症等	异质性	原发性	[26]
	tRNA ^{Ser(AGY)}	C12258A	听力障碍、色素性视网膜症 / 白内障、糖尿病等	异质性	原发性	[28]
	tRNA ^{Leu(CUN)}	G12276A	共济失调等脑肌病伴听力下降	异质性	原发性	[37]
		G12315A	CPEO、色素性视网膜症等伴听力下降	异质性	原发性	[36]
	tRNA ^{Glu}	T14709C	MIDD、肌病伴听力下降等	同质性 / 异质性	原发性	[23]
	tRNA ^{Thr}	G15915A	脑肌病等伴听力下降	异质性	原发性	[38]
	tRNA ^{Pro}	C15975T	共济失调、色素性视网膜症等伴听力下降	异质性	原发性	[39]
非综合征型耳聋	tRNA ^{Phe}	A636G	感音神经性耳聋	同质性	原发性	[42]
		tRNA ^{Tyr}	A5568G	感音神经性耳聋	同质性	原发性
	tRNA ^{Ala}	T5587C	感音神经性耳聋(T7505C 突变)	同质性	继发性	[43]
		T5655C	感音神经性耳聋(T7511C 突变)	同质性	继发性	[44-45]
	tRNA ^{Cys}	G5780A	感音神经性耳聋	异质性	原发性	[46]
		T5802C	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性	[4]
		G5821A	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性	[4]
	tRNA ^{Ser(UCN)}	G7444A	感音神经性耳聋 / 氨基糖甙类抗生素药物性非 综合征型耳聋(A1555G 突变)	同质性	原发性 / 继发性	[47-48]
		A7445G/C	耳聋或伴掌跖角化症	同质性 / 异质性	原发性	[47, 49]
		C7462T	感音神经性耳聋	同质性	原发性	[50]
		T7505C	感音神经性耳聋	同质性	原发性	[43]
		T7510C	感音神经性耳聋	同质性	原发性	[51]
		T7511C	感音神经性耳聋	同质性 / 异质性	原发性	[44]
	tRNA ^{Lys}	A8348G	感音神经性耳聋	同质性	原发性	[52]
	tRNA ^{Arg}	T10454C	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性	[4]
		tRNA ^{Ser(AGY)}	C12224T	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性
	G12236A		听力下降	同质性	原发性	[53]
	tRNA ^{Glu}	A14693G	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性	[4]
		tRNA ^{Thr}	T15908C	氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性
	G15927A		氨基糖甙类抗生素药物性非综合征型耳聋 (A1555G 突变)	同质性	继发性	[4, 54]

¹⁾ 表示对该原发突变有协同作用. PEO: 进行性眼外肌瘫痪(progressive external ophthalmoplegia); CPEO: 慢性进行性眼外肌瘫痪(chronic progressive external ophthalmoplegia).

2.2 与非综合征型耳聋相关的 tRNA 原发突变

目前发现的与非综合征型耳聋相关的 tRNA 原发突变主要集中在线粒体 tRNA^{Ser(UCN)}基因上, 包括 A7445G、T7511C 及 T7505C 等突变, 且这些突变为同质性或高度异质性^[43-44, 49]. tRNA^{Ser(UCN)}A7445G 突变首次在一个苏格兰家系中发现, 患者表现为渐进性听力下降^[49]. A7445G 突变造成 H 链编码的 *COI* 基因终止密码子 AGA 变为 AGG, 同时该突变邻近 L 链上 tRNA^{Ser(UCN)}3'端核酸外切酶的剪切位点, 影响 tRNA^{Ser(UCN)}前体加工, 造成线粒体 tRNA^{Ser(UCN)}稳定性和 ND6 mRNA 量明显下降, 可能是导致线粒体功能缺陷的重要原因^[55-56]. 另外, 携带 A7445G 突变家系间及家系内患者的临床表型差异提示其他修饰因子如线粒体单体型、核修饰基因等对该突变的表型表达有修饰作用. 此外, 还有学者报道了 7445 位点发生 A 到 C 的突变^[47]. 与 A7445G 突变相似, A7445C 突变可能影响 L 链上 RNA 前体的处理和 ND6 基因的表达, 从而造成线粒体功能障碍.

1999 年, Sue 等^[40]在非洲裔的耳聋大家系中首次发现 tRNA^{Ser(UCN)}T7511C 突变. T7511C 突变造成氨基酸受体臂上高度保守的 A-U 配对消失, 可能影响 tRNA 前体加工(线粒体 RNase P 作用)过程及其与氨基酸的识别结合. 对来自该患者家系成员的转线粒体淋巴母细胞系功能分析发现, 与正常细胞系相比, T7511C 突变造成 tRNA^{Ser(UCN)}总量减少约 75%, 线粒体蛋白质合成水平下降 52%, 最终导致线粒体功能缺陷^[45].

最近, Tang 等^[43]在一个中国家系中首次报道 tRNA^{Ser(UCN)}T7505C 突变. 该位点在进化上高度保守, 突变后导致 tRNA^{Ser(UCN)}DHU 茎上 10A-20U 碱基配对消失, 可能影响 tRNA^{Ser(UCN)}代谢. 与正常对照转细胞系相比, 携带 T7505C 突变细胞系的 tRNA^{Ser(UCN)}水平下降约 65%, 不足以维持正常的线粒体蛋白质翻译, 可能导致线粒体功能缺陷^[43]. 临床资料显示, 该家系耳聋外显率较高且家系内母系成员表型差异显著, 提示其他 mtDNA 变异、核修饰基因或环境因素等可能参与 T7505C 突变的表型表达. 另外, 在 3 个母系遗传非综合征型耳聋的家系中还发现 tRNA^{Ser(UCN)}C7462T 突变^[50]. 2000 年, Hutchin 等^[51]首次报道一个携带 T7510C 异质性突变的英国家系, 该位点在进化上高度保守, 发生 T 到 C 突变后, tRNA^{Ser(UCN)}氨基酸受体臂上原有

Watson-Crick 配对消失, 可能造成 tRNA^{Ser(UCN)}功能异常. 线粒体 tRNA 基因上与非综合征型耳聋相关的突变还有 tRNA^{Phe}A636G、tRNA^{Trp}A5568G 及 tRNA^{Cys}G5780A 等突变(表 1), 相关致聋机制亟待深入研究^[20, 42, 46, 50, 52-53].

2.3 与耳聋相关的 tRNA 继发突变

在一些携带原发性 mtDNA 突变的家系中, 并非所有母系成员都会出现耳聋症状, 且同一家系内或不同家系间携带相同 mtDNA 突变的患者在发病年龄、听力损伤程度以及发病过程等存在明显差异^[4]. 线粒体 tRNA 继发突变对耳聋相关的原发性 mtDNA 突变起协同作用, 调节表型表达. 在上述携带 tRNA^{Ser(UCN)}T7511C 突变的非洲裔耳聋家系中, 母系成员的 mtDNA 还同时携带 *NDI* T3308C 突变和 tRNA^{Ala}T5655C 突变, 这 2 个突变加重了原发突变(T7511C 突变)引起的线粒体蛋白质合成障碍, 进而导致线粒体功能缺陷, 这也是该家系耳聋外显率极高的重要原因^[45].

最近, 在一个携带 7472insC 突变的耳聋合并渐进性神经病变的家系中, 同时发现 tRNA^{Ser(UCN)}A7472C 突变, 且均以异质性形式存在于先证者及其母系亲属中^[40]. 通过家系内成员临床表型和突变异质程度的比较分析, 猜测 A7472C 突变可能对 7472insC 导致的听力障碍起缓解作用^[40]. 随后, Swallow 等^[41]通过转线粒体细胞系功能分析表明, A7472C 突变是一个继发突变, 调节 7472insC 突变相关的耳聋表型表达.

在几个中国非综合征型耳聋家系中, 患者同时携带线粒体 tRNA^{Ser(UCN)}G7444A 突变与 A1555G 突变^[47]. tRNA^{Ser(UCN)}G7444A 突变造成线粒体 *COI* 基因在终止子处继续转录, 导致其翻译的多肽在 C 端增加 3 个氨基酸残基(Lys-Gln-Lys), 同时, 该突变邻近 tRNA^{Ser(UCN)}前体 3'端核酸外切酶的作用位点. G7444A 突变与 A7445G 突变位置相邻, 可能通过相似机制导致线粒体功能障碍. 因而, G7444A 突变可能加重由原发性 mtDNA 突变(A1555G 突变)造成的线粒体功能缺陷, 从而影响该突变的表型表达. 此外, 也有非综合征型耳聋患者仅携带 G7444A 突变, 但家系中耳聋外显率明显低于上述同时携带 G7444A 和 A1555G 的耳聋家系^[47-48]. 推测可能其他修饰因子, 如核修饰基因、环境因素等, 参与了该突变的表型表达, 也可能线粒体 tRNA^{Ser(UCN)}G7444A 突变是一个潜在原发性突变位点.

Wang 等^[54]在 4 个携带 A1555G 突变且耳聋外显率极高的中国大家系中, 报道了线粒体 tRNA^{Trp} G15927A 突变. 该继发突变位于 tRNA^{Trp} 反密码子臂上的第 4 个碱基(42 位), 而该位点从细菌到哺乳动物都是高度保守的, 发生突变后造成 tRNA^{Trp} (28C-42G) 碱基不配对, 从而可能影响 tRNA 的代谢. 从同时携带 G15927A 和 A1555G 突变的融合细胞中提取到的 tRNA^{Trp} 表达量要远少于从只携带 A1555G 突变的细胞中提取到的 tRNA^{Trp}, 该突变可能导致 tRNA^{Trp} 高级结构发生改变, 从而影响 tRNA 的稳定性^[54]. 由此可见, tRNA^{Trp} G15927A 突变可能加重由 A1555G 突变造成的线粒体功能障碍, 增加耳聋的外显率.

另外, Lu 等^[4]在一些携带 A1555G 突变的中国耳聋家系中也发现线粒体 tRNA 继发突变. A14693G 突变位于 tRNA^{Glu} T Ψ C 环第 1 个碱基(54 位), T10454C 突变位于 tRNA^{Arg} T Ψ C 环第 2 个碱基上(55 位), 这 2 个位点的野生型核苷酸通常会被修饰, 经修饰的 A54 和 T55 与 tRNAs 的高级结构形成及功能稳定有关^[4], 其他线粒体 tRNA 继发突变, 如 tRNA^{Cys} T5802C 和 G5821A 突变、tRNA^{Trp} T15908C 突变等均破坏了进化上高度保守的碱基配对, 而 C12224T 突变(32 位)邻近 tRNA^{Ser}(AGY)的反密码子, tRNA^{Ala} T5587C 突变位于该 tRNA 的 3'端碱基^[4, 43]. 这些突变可能造成 tRNA 高级结构的不稳定, 加重由原发性 mtDNA 突变引起的线粒体功能障碍, 从而增加这些家系的耳聋外显率和临床表现度.

3 线粒体 tRNA 突变引起听觉障碍的机制

耳聋相关的线粒体 tRNA 突变可能影响 tRNA 的高级结构、转录及转录后的加工修饰过程, 造成 tRNA 稳定性下降, 进而引起线粒体蛋白质合成受挫. 另外, 一些修饰因子与 tRNA 原发突变同时存在时, 可进一步加重线粒体功能障碍, 使得生成的 ATP 降低, 导致耳蜗等能量需求高的组织发生病变. 同时, 氧化磷酸化缺陷导致细胞内活性氧自由基过量产生, 进而损伤细胞内和线粒体的蛋白质、脂类和 DNA 大分子, 造成线粒体膜通透性转运孔道开放, 启动细胞凋亡途径, 最终导致耳蜗听觉功能丧失.

综合征型耳聋相关的线粒体 tRNA 原发突变如 tRNA^{Leu}(UUR) A3243G 等突变, 本身足以造成合并耳聋症状的线粒体复杂疾病, 如 MIDD、MELAS 及

MERRF 等. 这些突变多为异质性, 具有典型的阈值效应, 且异质程度直接影响携带者的临床表型及疾病的严重程度. 而非综合征型耳聋相关的 tRNA 突变如 tRNA^{Ser}(UCN) A7445G、T7511C 等突变为同质性突变, 是导致耳聋发生的首要原因, 其他修饰因子如核修饰基因、环境因素、表观遗传等参与这些突变相关的耳聋发生发展过程. 另外, 还有一些线粒体 tRNA 继发突变如 tRNA^{Trp} G15927A 等突变对原发性 mtDNA 突变相关耳聋的表型表达有一定的修饰作用.

4 展 望

近年来, mtDNA 突变致病机制的研究是线粒体疾病领域的热点之一. 鉴于 tRNA 在翻译过程中的重要作用, 线粒体 tRNA 基因与耳聋两者的关系已逐渐引起广大学者的关注, 但关于线粒体 tRNA 致聋的机制目前仍不明确. 首先, 非综合征型耳聋相关的 tRNA 突变具有典型的组织特异性, 即携带者往往仅表现为听力障碍, 可能 tRNA 上某些功能性碱基只在耳蜗组织中被化学修饰, 如甲基化等, 这可能是该类 tRNA 突变不会导致其他组织病变的原因之一. 其次, 综合征型耳聋相关的线粒体 tRNA 突变多为异质性突变, 也就是说突变型 mtDNA 数量达到一定阈值, 才会表现出临床症状, 阈值的确定对于线粒体疾病的诊断、治疗具有重要意义, 但目前还没有建立有效的方法来界定 mtDNA 突变的阈值. 由于 mtDNA 具有多拷贝、重组能力低等特点, 至今尚未有携带线粒体 tRNA 突变转线粒体小鼠的报道. 相信耳聋相关的线粒体基因突变小鼠模型的建立将有助于我们解决上述问题, 深入阐明线粒体 tRNA 突变的致聋机制, 进而指导线粒体耳聋的诊断、遗传咨询和治疗工作.

参 考 文 献

- [1] Morton C C. Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**(10): 1229-1240
- [2] Guan M X. Mitochondrial 12S rRNA mutations associated with aminoglycoside ototoxicity. *Mitochondrion*, 2011, **11**(2): 237-245
- [3] Helm M, Brule H, Friede D, *et al.* Search for characteristic structural features of mammalian mitochondrial tRNAs. *RNA*, 2000, **6**(10): 1356-1379
- [4] Lu J, Qian Y, Li Z, *et al.* Mitochondrial haplotypes may modulate the phenotypic manifestation of the deafness-associated 12S rRNA 1555A>G mutation. *Mitochondrion*, 2010, **10**(1): 69-81
- [5] van den Ouweland J M, Lemkes H H, Ruitenbeek W, *et al.* Mutation in mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) gene in a large pedigree with

- maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet*, 1992, **1**(5): 368–371
- [6] Suzuki Y, Suzuki S, Hinokio Y, *et al.* Diabetes associated with a novel 3264 mitochondrial tRNA^{Leu} (UUR) mutation. *Diabetes Care*, 1997, **20**(7): 1138–1140
- [7] Salsano E, Giovagnoli A R, Morandi L, *et al.* Mitochondrial dementia: A sporadic case of progressive cognitive and behavioral decline with hearing loss due to the rare m.3291T>C MELAS mutation. *J Neurol Sci*, 2011, **300**(1–2): 165–168
- [8] Wittenhagen L M, Kelley S O. Dimerization of a pathogenic human mitochondrial tRNA. *Nat Struct Biol*, 2002, **9**(8): 586–590
- [9] Chomyn A, Enriquez J A, Micol V, *et al.* The mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episode syndrome-associated human mitochondrial tRNA^{Leu} (UUR) mutation causes aminoacylation deficiency and concomitant reduced association of mRNA with ribosomes. *J Biol Chem*, 2000, **275**(25): 19198–19209
- [10] Kirino Y, Suzuki T. Human mitochondrial diseases associated with tRNA wobble modification deficiency. *RNA Biol*, 2005, **2**(2): 41–44
- [11] Shoffner J M, Lott M T, Lezza A M, *et al.* Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell*, 1990, **61**(6): 931–937
- [12] Zeviani M, Muntoni F, Savarese N, *et al.* A MERRF/MELAS overlap syndrome associated with a new point mutation in the mitochondrial DNA tRNA^{Lys} gene. *Eur J Hum Genet*, 1993, **1**(1): 80–87
- [13] Santorelli F M, Mak S C, El-Schahawi M, *et al.* Maternally inherited cardiomyopathy and hearing loss associated with a novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Lys} gene (G8363A). *Am J Hum Genet*, 1996, **58**(5): 933–939
- [14] Enriquez J A, Chomyn A, Attardi G. MtDNA mutation in MERRF syndrome causes defective aminoacylation of tRNA^{Lys} and premature translation termination. *Nat Genet*, 1995, **10**(1): 47–55
- [15] Tiranti V, Chariot P, Carella F, *et al.* Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a novel point mutation in mitochondrial tRNA^{Ser} (UCN) gene. *Hum Mol Genet*, 1995, **4**(8): 1421–1427
- [16] Jaksch M, Klopstock T, Kurlmann G, *et al.* Progressive myoclonus epilepsy and mitochondrial myopathy associated with mutations in the tRNA^{Ser} (UCN) gene. *Ann Neurol*, 1998, **44**(4): 635–640
- [17] Toompuu M, Tiranti V, Zeviani M, *et al.* Molecular phenotype of the np 7472 deafness-associated mitochondrial mutation in osteosarcoma cell cybrids. *Hum Mol Genet*, 1999, **8**(12): 2275–2283
- [18] 赵建越, 唐霄雯, 兰金山, 等. tRNA^{Ser} (UCN) 7472delC 可能是耳聋与癫痫相关的线粒体基因新突变. *遗传*, 2008, **30**(12): 1557–1562
Zhao J Y, Tang X W, Lan J S, *et al.* *Hereditas*, 2008, **30**(12): 1557–1562
- [19] Nakamura M, Nakano S, Goto Y, *et al.* A novel point mutation in the mitochondrial tRNA^{Ser} (UCN) gene detected in a family with MERRF/MELAS overlap syndrome. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **214**(1): 86–93
- [20] Jacobs H T, Hutchin T P, Kappi T, *et al.* Mitochondrial DNA mutations in patients with postlingual, nonsyndromic hearing impairment. *Eur J Hum Genet*, 2005, **13**(1): 26–33
- [21] Bidooki S, Jackson M J, Johnson M A, *et al.* Sporadic mitochondrial myopathy due to a new mutation in the mitochondrial tRNA^{Ser} (UCN) gene. *Neuromuscul Disord*, 2004, **14**(7): 417–420
- [22] Cardaioli E, Da Pozzo P, Gallus G N, *et al.* A novel heteroplasmic tRNA^{Ser} (UCN) mtDNA point mutation associated with progressive external ophthalmoplegia and hearing loss. *Neuromuscul Disord*, 2007, **17**(9–10): 681–683
- [23] Rigoli L, Prisco F, Caruso R A, *et al.* Association of the T14709C mutation of mitochondrial DNA with maternally inherited diabetes mellitus and/or deafness in an Italian family. *Diabet Med*, 2001, **18**(4): 334–336
- [24] Perucca-Lostanlen D, Taylor R W, Narbonne H, *et al.* Molecular and functional effects of the T14709C point mutation in the mitochondrial DNA of a patient with maternally inherited diabetes and deafness. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1588**(3): 210–216
- [25] Tiranti V, D'Agruma L, Pareyson D, *et al.* A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Val} gene associated with a complex neurological presentation. *Ann Neurol*, 1998, **43**(1): 98–101
- [26] Crimi M, Galbiati S, Perini M P, *et al.* A mitochondrial tRNA^{His} gene mutation causing pigmentary retinopathy and neurosensory deafness. *Neurology*, 2003, **60**(7): 1200–1203
- [27] Melone M A, Tessa A, Petrini S, *et al.* Revelation of a new mitochondrial DNA mutation (G12147A) in a MELAS/MERFF phenotype. *Arch Neurol*, 2004, **61**(2): 269–272
- [28] Lynn S, Wardell T, Johnson M A, *et al.* Mitochondrial diabetes: investigation and identification of a novel mutation. *Diabetes*, 1998, **47**(11): 1800–1802
- [29] Young T M, Blakely E L, Swalwell H, *et al.* Mitochondrial transfer RNA^{Phe} mutation associated with a progressive neurodegenerative disorder characterized by psychiatric disturbance, dementia, and akinesia-rigidity. *Arch Neurol*, 2010, **67**(11): 1399–1402
- [30] Deschauer M, Swalwell H, Strauss M, *et al.* Novel mitochondrial transfer RNA^{Phe} gene mutation associated with late-onset neuromuscular disease. *Arch Neurol*, 2006, **63**(6): 902–905
- [31] Valente L, Piga D, Lamantea E, *et al.* Identification of novel mutations in five patients with mitochondrial encephalomyopathy. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1787**(5): 491–501
- [32] Finnila S, Autere J, Lehtovirta M, *et al.* Increased risk of sensorineural hearing loss and migraine in patients with a rare mitochondrial DNA variant 4336A>G in tRNA^{Gln}. *J Med Genet*, 2001, **38**(6): 400–405
- [33] Wong L J, Liang M H, Kwon H, *et al.* Comprehensive scanning of the entire mitochondrial genome for mutations. *Clin Chem*, 2002, **48**(11): 1901–1912
- [34] Silvestri G, Mongini T, Odoardi F, *et al.* A new mtDNA mutation associated with a progressive encephalopathy and cytochrome c oxidase deficiency. *Neurology*, 2000, **54**(8): 1693–1696
- [35] Feigenbaum A, Bai R K, Doherty E S, *et al.* Novel mitochondrial

- DNA mutations associated with myopathy, cardiomyopathy, renal failure, and deafness. *Am J Med Genet A*, 2006, **140**(20): 2216–2222
- [36] Fu K, Hartlen R, Johns T, *et al.* A novel heteroplasmic tRNA^{Leu(CUN)} mtDNA point mutation in a sporadic patient with mitochondrial encephalomyopathy segregates rapidly in skeletal muscle and suggests an approach to therapy. *Hum Mol Genet*, 1996, **5**(11): 1835–1840
- [37] Coku J, Shanske S, Mehrazin M, *et al.* Slowly progressive encephalopathy with hearing loss due to a mutation in the mtDNA tRNA^{Leu(CUN)} gene. *J Neurol Sci*, 2010, **290**(1–2): 166–168
- [38] Nishino I, Seki A, Maegaki Y, *et al.* A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Thr} gene associated with a mitochondrial encephalomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **225**(1): 180–185
- [39] Da Pozzo P, Cardaioli E, Malfatti E, *et al.* A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Pro} gene associated with late-onset ataxia, retinitis pigmentosa, deafness, leukoencephalopathy and complex I deficiency. *Eur J Hum Genet*, 2009, **17**(8): 1092–1096
- [40] Cardaioli E, Da Pozzo P, Cerase A, *et al.* Rapidly progressive neurodegeneration in a case with the 7472insC mutation and the A7472C polymorphism in the mtDNA tRNA^{Ser(UCN)} gene. *Neuromuscul Disord*, 2006, **16**(1): 26–31
- [41] Swalwell H, Blakely E L, Sutton R, *et al.* A homoplasmic mtDNA variant can influence the phenotype of the pathogenic m.7472Cins MTTS1 mutation: are two mutations better than one?. *Eur J Hum Genet*, 2008, **16**(10): 1265–1274
- [42] Konings A, Van Camp G, Goethals A, *et al.* Mutation analysis of mitochondrial DNA 12SrRNA and tRNA^{Ser(UCN)} genes in non-syndromic hearing loss patients. *Mitochondrion*, 2008, **8** (5–6): 377–382
- [43] Tang X, Li R, Zheng J, *et al.* Maternally inherited hearing loss is associated with the novel mitochondrial tRNA^{Ser(UCN)} 750T>C mutation in a Han Chinese family. *Mol Genet Metab*, 2010, **100**(1): 57–64
- [44] Sue C M, Tanji K, Hadjigeorgiou G, *et al.* Maternally inherited hearing loss in a large kindred with a novel T7511C mutation in the mitochondrial DNA tRNA^{Ser(UCN)} gene. *Neurology*, 1999, **52** (9): 1905–1908
- [45] Li X, Fischel-Ghodsian N, Schwartz F, *et al.* Biochemical characterization of the mitochondrial tRNA^{Ser(UCN)} T7511C mutation associated with nonsyndromic deafness. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**(3): 867–877
- [46] Lehtonen M S, Moilanen J S, Majamaa K. Increased variation in mtDNA in patients with familial sensorineural hearing impairment. *Hum Genet*, 2003, **113**(3): 220–227
- [47] Jin L, Yang A, Zhu Y, *et al.* Mitochondrial tRNA^{Ser(UCN)} gene is the hot spot for mutations associated with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **361**(1): 133–139
- [48] Zhu Y, Qian Y, Tang X, *et al.* Aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss is associated with the G7444A mutation in the mitochondrial COI/tRNA^{Ser(UCN)} genes in two Chinese families. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **342** (3): 843–850
- [49] Reid F M, Vernham G A, Jacobs H T. A novel mitochondrial point mutation in a maternal pedigree with sensorineural deafness. *Hum Mutat*, 1994, **3**(3): 243–247
- [50] Uehara D T, Rincon D, Abreu-Silva R S, *et al.* Role of the mitochondrial mutations, m.827A>G and the novel m.7462C>T, in the origin of hearing loss. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2010, **14**(5): 611–616
- [51] Hutchin T P, Parker M J, Young I D, *et al.* A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Ser(UCN)} gene in a family with non-syndromic sensorineural hearing impairment. *J Med Genet*, 2000, **37**(9): 692–694
- [52] Kato T, Nishigaki Y, Noguchi Y, *et al.* Extensive and rapid screening for major mitochondrial DNA point mutations in patients with hereditary hearing loss. *J Hum Genet*, 2010, **55**(3): 147–154
- [53] L  v  que M, Marlin S, Jonard L, *et al.* Whole mitochondrial genome screening in maternally inherited non-syndromic hearing impairment using a microarray resequencing mitochondrial DNA chip. *Eur J Hum Genet*, 2007, **15**(11): 1145–1155
- [54] Wang X, Lu J, Zhu Y, *et al.* Mitochondrial tRNA^{Thr} G15927A mutation may modulate the phenotypic manifestation of ototoxic 12S rRNA A1555G mutation in four Chinese families. *Pharmacogenet Genomics*, 2008, **18**(12): 1059–1070
- [55] Levinger L, Jacobs O, James M. *In vitro* 3'-end endonucleolytic processing defect in a human mitochondrial tRNA^{Ser(UCN)} precursor with the U7445C substitution, which causes non-syndromic deafness. *Nucleic Acids Res*, 2001, **29**(21): 4334–4340
- [56] Guan M X, Enriquez J A, Fischel-Ghodsian N, *et al.* The deafness-associated mitochondrial DNA mutation at position 7445, which affects tRNA^{Ser(UCN)} precursor processing, has long-range effects on NADH dehydrogenase subunit ND6 gene expression. *Mol Cell Biol*, 1998, **18**(10): 5868–5879

Mitochondrial tRNA Mutations Associated With Hearing Loss*

ZHENG Jing¹⁾, ZHENG Bin-Jiao¹⁾, FANG Fang¹⁾, Zhu Yi²⁾, LÜ Jian-Xin¹⁾, GUAN Min-Xin^{1, 3)**}

¹⁾ Attardi Institute of Mitochondrial Biomedicine and Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics,
Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;

²⁾ Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China;

³⁾ Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA)

Abstract Mutations in the mitochondrial tRNAs are one of the causes of sensorineural hearing loss. Some tRNA mutations such as tRNA^{Leu(UUR)} A3243G are associated with hearing impairment and other clinical symptoms, while other tRNA mutations including tRNA^{Ser(UCN)} T7511C only produce the phenotype of hearing loss. These tRNA mutations are the primary factors for the development of hearing loss. On the other hand, other tRNA mutations such as tRNA^{Thr} G15927A act in synergy with the primary tRNA mutations, modulating the phenotypic manifestation. The mutations alter the secondary structures of tRNAs, impair translation and decrease the ATP production. Consequently, mitochondrial dysfunctions caused by these tRNA mutations lead to hearing loss. In this review we summarize the deafness-associated mitochondrial tRNA mutations and discuss the pathophysiology of these mitochondrial tRNA mutations.

Key words mitochondrial tRNA, mutations, primary mutation, secondary mutation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00025

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(81070794), National Basic Research Program of China (2004CCA02200) and Science and Technology Priorities Project in Social Development of Zhejiang Province (2007C13021).

**Corresponding author.

Tel: 86-577-86689717, E-mail: gminxin88@gmail.com

Received: April 7, 2011 Accepted: August 11, 2011