

· 论 著 ·

# 一个携带线粒体 tRNAHis12192G>A 突变的耳聋家系研究\*

王 辉<sup>1</sup>, 姚 娟<sup>1</sup>, 范文露<sup>1</sup>, 唐霄雯<sup>1</sup>, 郑斌娇<sup>1</sup>, 吕建新<sup>1</sup>, 薛 凌<sup>1</sup>, 管敏鑫<sup>1,2△</sup>

(1. 温州医科大学 Attardi 线粒体生物医学研究院, 浙江温州 325035;

2. 浙江大学遗传研究所, 杭州 310058)

**摘要:**目的 从临床、遗传和分子特征等方面对 1 个携带 tRNAHis12192G>A 突变的非综合征型耳聋(NSHL)家系进行研究,探讨线粒体 tRNAHis12192G>A 突变在 NSHL 中的作用。**方法** 扩增 572 例 NSHL 患者和 521 例健康者 GJB2、GJB3、GJB6 基因编码区,以及线粒体 12S rRNA 和 tRNA 基因,对携带 tRNAHis12192G>A 突变的 1 个家系进行 GJB2、GJB3、GJB6、线粒体基因相关分析。**结果** 在 572 例 NSHL 患者中发现 1 例线粒体 tRNAHis12192G>A 突变携带者。该患者及其家族成员具有典型母系遗传特征,未检出 GJB2、GJB3、GJB6 基因致病突变。在患者家系成员中,母系成员 13 人,其中 7 人存在不同程度的听力损失。**结论** tRNAHis12192G>A 突变可能是该 NSHL 家系成员罹患耳聋的主要分子基础。家系成员发病程度、发病年龄等表型存在一定的差异,可能与环境因素以核基因背景等有关。

**关键词:**非综合征型耳聋; 线粒体 DNA 突变; tRNAHis

**DOI:**10.3969/j.issn.1672-9455.2016.16.007 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)16-2252-04

## Analysis of mitochondrial tRNAHis12192G>A mutation in a pedigrees with non-syndromic hearing loss\*

WANG Hui<sup>1</sup>, YAO Juan<sup>1</sup>, FAN Wenlu<sup>1</sup>, TANG Xiaowen<sup>1</sup>, Zheng Binjiao<sup>1</sup>, LV Jianxin<sup>1</sup>, XUE Ling<sup>1</sup>, GUAN Minxin<sup>1,2△</sup>

(1. Attardi Institute of Mitochondrial Biomedicine, Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China;

2. Institute of Genetics, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the clinical, genetic and molecular characteristics of a pedigrees with non-syndromic hearing loss(NSHL), carrying tRNAHis12192G>A mutation. **Methods** GJB2, GJB3, GJB6 gene encoding region and mitochondrial tRNA gene of 572 patients with NSHL and 521 healthy controls were amplified. A patient with tRNAHis12192G>A mutation underwent genetic analysis and pedigree assessment. **Results** A subject with tRNAHis12192G>A mutation were detected in the 572 cases with NSHL. Sequencing results revealed the pedigrees were without pathological mutations in GJB2, GJB3 and GJB6 gene encoding region. Seven of the 13 matrilineal relatives in this pedigree were with varying degrees of hearing loss. **Conclusion** tRNAHis12192G>A mutation might be the molecular basis of this pedigree, and the different phenotypes among the pedigree members could due to nuclear modifier genes or environmental factors.

**Key words:** non-syndromic hearing loss; mitochondria DNA mutations; tRNAHis

耳聋可以由环境因素、遗传因素二者独立或共同作用所致,其中,因遗传因素导致的耳聋超过了 50%<sup>[1]</sup>。根据患者是否伴有其他临床症状,可将耳聋分为非综合征型耳聋(NSHL)和综合征型耳聋(SHL)<sup>[2]</sup>。耳聋的遗传方式包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X-连锁遗传及母系遗传等<sup>[3]</sup>。线粒体基因突变导致的耳聋具有典型的母系遗传特征,是遗传性耳聋的重要原因之一。目前,线粒体 12S rRNA 基因 A1555G、C1494T 突变已被证实与药物性耳聋相关,tRNA 基因突变,如 tRNACysG5821A、tRNASer(UCN)A7445G、tRNASer(UCN)7472insC、tRNASer(UCN)T7510C、tRNASer(UCN)T7511C 和 tRNAHis12201T>C 等也被证实与 NSHL 相关<sup>[4-9]</sup>。这表明线粒体基因突变导致 NSHL 的热点区域多在 12S rRNA 及 tRNA 上。为研究线粒体基因上是否还有其他与耳聋相关的突变位点,本研究对 572 例 NSHL 患者进行基因突变筛查,以及临床表型、家族史调查,发现 1 例患者存在既往未见报道的与耳聋相关的线粒体 tRNAHis12192G>A 突变。现将研究结

果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 于温州医科大学附属第二医院耳鼻咽喉科门诊确诊的 NSHL 患者 572 例,以及体检健康者 521 例。本研究经温州医科大学伦理委员会审核通过,所有受试对象了解本研究,并签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料采集** 详细了解耳聋患者病史、家族史及氨基糖甙类药物用药史等基本资料。

**1.2.2 听力学检查** 听力学检查包括纯音测听(PTA)、听觉脑干反应(ABR)、声导抗和畸变产物耳声反射(DPOAE)。根据 PTA 检测结果绘制听力水平曲线,以频率 500、1 000、2 000、4 000 和 8 000 的平均听阈水平对听力损失程度进行分级,听力水平小于 26、26~40、41~70、71~90、>90 dB 分别判为正常、轻度聋、中度聋、重度聋、极重度聋。

**1.2.3 全基因组 DNA 提取** 采集例先证者及其家系成员,

\* 基金项目:国家青年科学基金项目(31401070,31100903);浙江省自然科学基金项目(Y2110399);温州医科大学科研发展基金项目(QTJ13017)。

作者简介:王辉,男,硕士研究生,主要从事线粒体相关生物医学研究。△ 通讯作者,E-mail:gminxin88@gmail.com。

以及健康者外周静脉血 2 mL, 乙二胺四乙酸抗凝, 采用日本 Takara 公司 DNA 提取试剂盒提取全基因组 DNA。

**1.2.4 耳聋相关热点基因突变检测** (1) GJB2、GJB3、GJB6、SLC26A4 基因突变分析: GJB2、GJB3、GJB6 是 NSHL 常见核基因致病突变, 为排除其对耳聋表型表达的影响, 对先证者及家系成员进行 GJB2、GJB3、GJB6 基因编码区扩增及测序。GJB2 测序引物序列为: 上游引物 5'-TAT GAC ACT CCC CAG CAC AG-3', 下游引物 5'-GGG CAA TGC TTA AAC TGG C-3'; GJB3 测序引物序列为: 上游引物 5'-TCA GAG GGT CGT TGT GAG TAT TG-3', 下游引物 5'-AGG CAG CGT AGA TAG TTA ATT CG-3'; GJB6 测序引物序列为: 上游引物 5'-TTG GCT TCA GTC TGT AAT ATC ACC-3', 下游引物 5'-TCA TTT ACA AAC TCT TCA GGC TAC AG-3'<sup>[10-12]</sup>。测序结果采用 Codoncode Aliger 软件与标准序列进行比对(标准序列来源于网站 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。(2) 线粒体基因分析: 对全基因组 DNA 进行线粒体基因全序扩增, 引物为 24 对重叠通用引物<sup>[13]</sup>。测序结果采用 Codoncode Aliger 软件与标准剑桥序列进行比对。同时对 521 例健康者进行线粒体 tRNAHis 基因测序分析。(3) 种系发生学分析和单体型分析: 分析人、鼠、牛、非洲爪蟾 4 个物种线粒体全序, 对先证者线粒体全序进行初步分析, 然后再分析 17 个灵长类物种间的线粒体 tRNAHis12192G 位点保守性。保守性指数计算方法: 1 个位点对应其他 16 个灵长类物种相应位点的比例, 即与其相同的碱基数量除以 17; 保守性达到或超过 75% 判为该位点在进化上是保守的<sup>[14]</sup>。对先证者线粒体基因组测序结果与东亚线粒体单体型树进行比对, 分析先证者的单体型, 并分析是否对先证者表型产生影响<sup>[15-22]</sup>。

**2 结 果**

**2.1 临床及遗传学评估** 先证者家系命名为 FE479 家系, 该家系来自于温州瑞安地区。母系成员 13 例, 男性 6 例, 女性 7 例, 母系成员之外未见听力损失, 具有典型的母系遗传特征。家系图见图 1。先证者 III-14, 男, 34 岁, 发病年龄 26 岁, 中度耳聋(听力 41.8~51.8 dB), 以高频(2 000~8 000 Hz)听力下降为主, 属于渐进性聋, 现偶尔伴有耳鸣和眩晕。先证者母亲 II-10, 56 岁, 20 岁后听力逐渐下降, 重度耳聋(听力 71.7~79.2 dB), 曾在噪音环境中工作。先证者哥哥 III-12, 38 岁, 在 25 岁左右发现听力下降, 中度耳聋(听力 44.2~45.8 dB)。先证者外婆 I-2, 70 多岁, 听力下降已有几十年。先证者小姨 II-8, 在噪声环境中工作过, 目前听力欠佳。先证者表姐 III-6, 20 岁时听力下降。发生听力下降的家族成员发病年龄 20~30 岁, 渐进性聋, 听力损失程度有一定差异, 主要为中重度听力损失, 以双侧对称性听力损失为主, 未发现其他临床症状。FE479 家系部分成员临床资料见表 1。FE479 家系部分成员听力图见图 2。

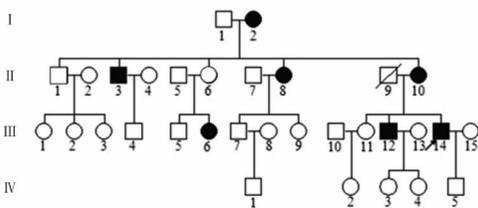


图 1 FE479 家系图

**2.2 线粒体基因分析** 在先证者及其家系成员中未检出 GJB2、GJB3、GJB6 基因致病性突变, 初步排除上述基因对患者表型的影响。该家族遗传方式具有典型的母系遗传特征, 线粒体基因可能是该家族耳聋患者发病的分子基础。未在先证者中发现药物性耳聋致病位点线粒体基因 A1555G 和 C1494T 突变及其他 tRNA 基因突变, 如 tRNACysG5821A、tRNASer(UCN) A7445G、tRNASer(UCN) 7472insC、tRNASer(UCN) T7510C、tRNASer(UCN) T7511C 和 tRNAHis12201T>C 等已知的与耳聋相关的突变位点。先证者还携带 40 个其他变异位点, 见表 2, 包括无意义突变(D-loop 区 11 个多态性位点, 12S rRNA 上 2 个多态性位点, 16S rRNA 上 4 个多态性位点), 以及在 13 个多肽上的 23 个突变位点, 未发现其他 tRNA 基因突变。13 个多肽上的突变位点包含同义突变 15 个, 错义突变 8 个。8 个错义突变分别为 ND2 基因 5178C>A(Leu-Met), A6 基因 8701A>G(Thr-Ala)、8860A>G(Thr-Ala), A8 基因 8414C>T(Leu-Phe), ND3 基因 10398A>G(Thr-Ala), CytB 基因 14766C>T(Thr-Ile)、14979T>C(Ile-Thr) 和 15326A>G(Thr-Ala)。上述突变位点为多态性位点(<http://www.mitomap.org>, <http://www.genpat.uu.se/mtDB>), 在 521 例健康者中也都有检出, 因此不能对 FE479 家系的耳聋表型足够的影响。先证者线粒体基因全序列与标准剑桥序列(Genbank, NC\_012920) 比对分析发现, 先证者携带 1 个 tRNAHis12192G>A 突变, 测序峰图, 见图 3。tRNAHis12192G 位点位于 T 环 59 号位点, 见图 4A, 保守性指数为 17.6%。在 521 例健康者中未检出该突变。在 tRNA 二级结构折叠形成三级结构过程中, 59 号位点碱基与 15 号位点碱基存在相互作用, 见图 4B。

表 1 FE479 家系部分成员临床资料

| 编号     | 性别 | 年龄(岁) | 发病年龄(岁) | 与先证者关系 | PTA(dB) |      | 听力损失程度 |
|--------|----|-------|---------|--------|---------|------|--------|
|        |    |       |         |        | 右耳      | 左耳   |        |
| II-10  | 女  | 56    | 20~30   | 母亲     | 71.7    | 79.2 | 重度     |
| III-6  | 女  |       | 20      | 表姐     | 45.0    | 43.3 | 中度     |
| III-11 | 女  | 36    | —       | 姐姐     | 15.8    | 20   | 正常     |
| III-12 | 男  | 38    | 25      | 哥哥     | 44.2    | 45.8 | 中度     |
| III-13 | 男  | 34    | 26      | 先证者    | 41.8    | 51.8 | 中度     |
| III-14 | 女  | —     | —       | 妻子     | 14.2    | 16.7 | 正常     |

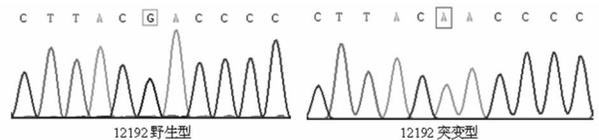


图 2 FE479 家系部分成员听力图

表 2 FE479 家系线粒体基因全序列分析

| 基因     | 位点  | 碱基改变 | 氨基酸改变 | 保守性(H/B/M/X) | 是否已有报道 |
|--------|-----|------|-------|--------------|--------|
| D-loop | 73  | A-G  | 无     |              | 是      |
|        | 152 | T-C  | 无     |              | 是      |
|        | 195 | T-C  | 无     |              | 是      |
|        | 263 | A-G  | 无     |              | 是      |

续表 2 FE479 家系线粒体基因全序列分析

| 基因       | 位点    | 碱基改变 | 氨基酸改变   | 保守性 (H/B/M/X) | 是否已有报道 |
|----------|-------|------|---------|---------------|--------|
|          | 310   | insC | 无       |               | 是      |
|          | 316   | InsC | 无       |               | 是      |
|          | 489   | T-C  | 无       |               | 是      |
|          | 16129 | G-A  | 无       |               | 是      |
|          | 16223 | C-T  | 无       |               | 是      |
|          | 16362 | T-C  | 无       |               | 是      |
|          | 16519 | T-C  | 无       |               | 是      |
| 12S rRNA | 750   | A-G  | 无       | A/A/A/-       | 是      |
|          | 1438  | A-G  | 无       | A/A/A/G       | 是      |
| 16S rRNA | 2706  | A-G  | 无       | A/G/A/A       | 是      |
|          | 3010  | G-A  | 无       | G/G/A/A       | 是      |
|          | 3107  | delN | 无       | N/T/T/T       | 是      |
|          | 3206  | C-T  | 无       | C/A/C/A       | 是      |
| ND2      | 4769  | A-G  | 无       | M/M/M/I       | 是      |
|          | 4883  | C-T  | 无       | P/P/P/P       | 是      |
|          | 5178  | C-A  | Leu-Met | L/T/T/T       | 是      |
| CO1      | 6260  | G-A  | 无       | E/E/E/E       | 是      |
|          | 7028  | C-T  | 无       | A/A/A/A       | 是      |
| A8       | 8414  | C-T  | Leu-Phe | L/F/M/W       | 是      |
|          | 8473  | T-C  | 无       | P/N/A/E       | 是      |
| A6       | 8701  | A-G  | Thr-Ala | T/S/L/Q       | 是      |
|          | 8860  | A-G  | Thr-Ala | T/A/A/T       | 是      |
| CO3      | 9540  | T-C  | 无       | L/L/L/L       | 是      |
| ND3      | 10398 | A-G  | Thr-Ala | T/T/T/A       | 是      |
|          | 10400 | C-T  | 无       | T/T/T/A       | 是      |
| ND4      | 10873 | T-C  | 无       | P/S/S/S       | 是      |
|          | 11719 | G-A  | 无       | G/G/G/G       | 是      |
| tRNA-His | 12192 | G-A  | 无       | G/T/C/C       | 是      |
| ND5      | 12705 | C-T  | 无       | I/L/L/T       | 是      |
| ND6      | 14491 | C-T  | 无       | G/L/G/G       | N      |
|          | 14668 | C-T  | 无       | M/M/N/I       | 是      |
| CytB     | 14766 | C-T  | Thr-Ile | T/S/T/S       | 是      |
|          | 14783 | T-C  | 无       | I/I/I/I       | 是      |
|          | 14979 | T-C  | Ile-Thr | I/I/L/L       | 是      |
|          | 15043 | G-A  | 无       | G/G/G/G       | 是      |
|          | 15301 | G-A  | 无       | L/L/L/L       | 是      |
|          | 15326 | A-G  | Thr-Ala | T/M/I/I       | 是      |

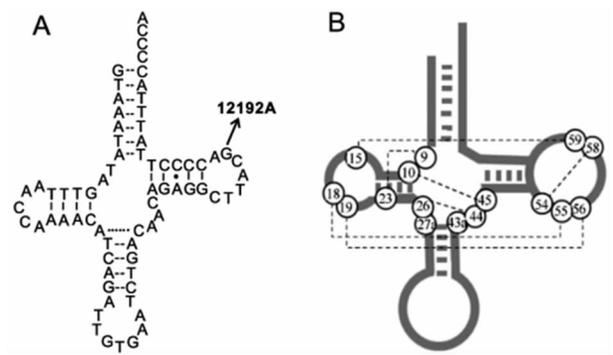


图 4 tRNAHis 三叶草结构图

3 讨 论

本研究对 1 个携带 tRNAHis12192G>A 突变的中国汉族 NSHL 家系进行了临床资料、家系、遗传学特征及可能的分子致聋机制进行了分析。在该家系的 13 例母系成员中,6 例患有 NSHL,外显率高达 46.2%,母系成员之外家系成员未出现听力损失,表明很有可能是新发现的线粒体基因突变导致家系成员罹患耳聋。家系临床资料调查发现,家系中的耳聋患者临床表型有一定的差异,先证者母亲全频听力下降,听力损失程度最严重,考虑可能与长期在噪声环境中工作有关;其他成员以双侧高频听力下降为主,听力损失程度以中度听力损失为主;发病年龄均为 20~30 岁,表现为渐进性聋。上述资料提示该家系耳聋患者可能具有共同的分子致病基础。

在遗传性耳聋中,最常见的核基因致病突变是 GJB2、GJB3、GJB6 基因突变<sup>[23]</sup>。对该家系成员的分子遗传学分析结果发现,家系成员并无 GJB2、GJB3、GJB6 基因致病突变,且先证者线粒体基因未检出 A1555G、C1494T、tRNACysG5821A、tRNASer(UCN)A7445G、tRNASer(UCN)7472insC、tRNASer(UCN)T7510C、tRNASer(UCN)T7511C 和 tRNAHis12201 T>C 等已经证实与耳聋相关的热点突变。因此,根据该家系母系遗传的特征,推测可能存在新的未被证实的与耳聋相关的突变,且该突变是家系成员罹患耳聋的分子致病基础。

先证者线粒体基因全序分析发现 1 个线粒体 tRNA-His12192G>A 突变,而先证者线粒体基因上的其他突变均为多态性突变,对耳聋表型的产生没有影响。T 环区是同源氨酰 tRNA 合成酶的识别区域,当 59 号位点发生突变时,可能会影响 tRNA 的结构,直接或间接影响氨酰化过程<sup>[16-17]</sup>。与此同时,在 tRNA 二级结构折叠形成三级结构过程中,59 号位点碱基可能会与 15 号位点碱基存在相互作用,以维持三级结构的稳定。当发生位点突变时,可能会影响 tRNA 三级结构的稳定性,造成 tRNA 功能障碍<sup>[18]</sup>。Shin 等<sup>[19]</sup>报道在原发性心肌病患者中发现 tRNAHis12192G>A 突变。也有研究报道其他线粒体 tRNA 基因 59 号位点突变与疾病相关,例如 tRNAIle4317A>G 突变与原发性心肌病相关<sup>[17]</sup>, tRNATrp5567T>C 突变与线粒体脑肌病相关<sup>[20]</sup>, tRNAGly10044A>G 与婴儿猝死综合征相关<sup>[21]</sup>, tRNASer(AGY)12261T>C 突变与癫痫等多种线粒体疾病相关<sup>[22]</sup>。这些都表明,tRNAHis12192G>A 突变可能是该 NSHL 家系的分子致病基础。

线粒体 tRNAHis12192G 位于 T 环上 59 号位点,突变可能会影响 T 环的结构、大小,以及 tRNA 三级结构的稳定性,

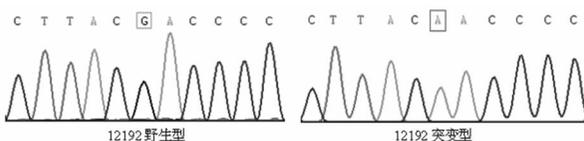


图 3 12192 位点测序峰图

导致 tRNA 功能障碍,引起疾病的产生。线粒体 tRNA-His12192G>A 突变可能是该家系成员罹患耳聋的分子致病基础,而环境因素及核基因背景可能也对该家系成员耳聋表型的表达有一定的影响。

参考文献

[1] Koffler T, Ushakov K, Avraham KB. Genetics of hearing loss: syndromic[J]. *Otolaryngol Clin North Am*, 2015, 16(6):1041-1061.

[2] Sukarova Stefanovska E, Cakar M, Filipce I, et al. Genetics of non syndromic hearing loss in the republic of macedonia[J]. *Balkan J Med Genet*, 2012, 17(Suppl):57-59.

[3] Hong SM, Ko YG, Park CH, et al. Analysis of hearing improvement in patients with severe to profound sudden sensorineural hearing loss according to the level of pure tone hearing threshold[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 9(19):2057-2060.

[4] Prezant TR, Agopian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness[J]. *Nat Genet*, 1993, 26(3):289-294.

[5] Zhao H, Li R, Wang Q, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family[J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 14(1):139-152.

[6] Reid FM, Vernham GA, Jacobs HT. A novel mitochondrial point mutation in a maternal pedigree with sensorineural deafness[J]. *Hum Mutat*, 1994, 11(3):243-247.

[7] Tiranti V, Chariot P, Carella F, et al. Maternally inherited hearing loss, ataxia and myoclonus associated with a novel point mutation in mitochondrial tRNA<sup>Ser</sup>(UCN) gene[J]. *Hum Mol Genet*, 1995, 17(8):1421-1427.

[8] Li R, Ishikawa K, Deng JH, et al. Maternally inherited nonsyndromic hearing loss is associated with the T7511C mutation in the mitochondrial tRNA<sup>Ser</sup>UCN gene in a Japanese family [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 26(1):32-37.

[9] Gong S, Peng Y, Jiang P, et al. A deafness-associated tRNA<sup>His</sup> mutation alters the mitochondrial function, ROS production and membrane potential [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 25(12):8039-8048.

[10] Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness[J]. *Nature*, 1997, 28(1):80-83.

[11] Xia JH, Liu CY, Tang BS, et al. Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-3 associated with autosomal dominant hearing impairment[J]. *Nat Genet*, 1998, 30(4):370-373.

[12] Castillo I, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, et al. A dele-

tion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment[J]. *N Engl J Med*, 2002, 23(2):243-249.

[13] Postnov IV, Orlov SN, Budnikov E, et al. Mitochondrial energy conversion disturbance with decrease in ATP production as a source of systemic arterial hypertension[J]. *Kardiologiia*, 2008, 29(1):49-59.

[14] Lu J, Li Z, Zhu Y, et al. Mitochondrial 12S rRNA variants in 1642 Han Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and nonsyndromic hearing loss [J]. *Mitochondrion*, 2010, 31(4):380-390.

[15] Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, et al. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations[J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 27(13):2076-2086.

[16] Ueda T, Yotsumoto Y, Ikeda K, et al. The T-loop region of animal mitochondrial tRNA(Ser)(AGY) is a main recognition site for homologous seryl-tRNA synthetase[J]. *Nucleic Acids Res*, 1992, 9(20):2217-2222.

[17] Degoul F, Brule H, Capanec C, et al. Isoleucylation properties of native human mitochondrial tRNA<sup>Ile</sup> and tRNA<sup>Ile</sup> transcripts: implications for cardiomyopathy-related point mutations(4269, 4317) in the tRNA<sup>Ile</sup> gene[J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 26(3):347-354.

[18] 阳娅玲, 肖红利, 管敏鑫. 人类线粒体 tRNA 生物合成与线粒体疾病[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2013, 10(8):916-925.

[19] Shin WS, Tanaka M, Suzuki J, et al. A novel homoplasmic mutation in mtDNA with a single evolutionary origin as a risk factor for cardiomyopathy[J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 29(16):1617-1620.

[20] Valente L, Piga D, Lamantea E, et al. Identification of novel mutations in five patients with mitochondrial encephalomyopathy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 30(5):491-501.

[21] Santorelli FM, Schlessel JS, Slonim AE, et al. Novel mutation in the mitochondrial DNA tRNA glycine gene associated with sudden unexpected death[J]. *Pediatr Neurol*, 1996, 27(2):145-149.

[22] Tuppen HA, Naess K, Kennaway NG, et al. Mutations in the mitochondrial tRNA Ser(AGY) gene are associated with deafness, retinal degeneration, myopathy and epilepsy[J]. *Eur J Hum Genet*, 2012, 23(8):897-904.

[23] Garcia IE, Bosen F, Mujica P, et al. From hyperactive connexin26 hemichannels to impairments in epidermal calcium gradient and permeability barrier in the Keratitis-Ichthyosis-Deafness syndrome[J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 29(3):574-583.