

年龄相关性听力减退小鼠耳蜗核 iTRAQ 定量蛋白质组学研究

何 敬^{1,2}, 彭 斌², 易 斌¹

(1. 中南大学湘雅医院 检验科, 湖南 长沙 410008; 2. 湖南中医药大学第二附属医院 耳鼻咽喉科, 湖南 长沙 410005)

摘 要: **目的** 研究年龄相关性听力减退小鼠耳蜗核蛋白质组学随增龄产生的差异, 探讨低级听觉中枢在老年性耳聋发病机理中的作用。**方法** 运用脑干电反应测听(ABR)检测 2 月龄及 12 月龄 C57BL/6J 小鼠的听阈, 结合同位素标记的相对与绝对定量(iTRAQ)和 Q Exactive 质谱及生物信息学等多重技术分析两组之间耳蜗核差异蛋白。**结果** 两组中总共鉴定到 5 919 个蛋白质, 39 269 个唯一肽段。符合表达差异倍数大于 1.2 倍且 $P < 0.05$ 筛选标准的差异表达蛋白 70 个。其中上调差异表达蛋白 44 个, 下调差异表达蛋白 26 个。**结论** iTRAQ 定量蛋白质组学技术可有效地运用于组织蛋白鉴定和相对与绝对定量; 采用该技术获得了年龄相关性听力减退小鼠耳蜗核蛋白质组差异表达图谱; 深层次研究这些蛋白的分子机制将有助于阐明老年性耳聋尤其是中枢性老年性耳聋的发病机理及发现潜在的标志物, 为老年性耳聋的诊断和治疗提供新的分子靶位。

关 键 词: 老年性耳聋; 蛋白质组学; 耳蜗核; 同位素标记; 定量技术
中图分类号: R764. 43

iTRAQ-based quantitative proteomic analysis in the cochlear nucleus of mice with age-related hearing loss

HE Jing^{1,2}, PENG Bin², YI Bin¹

(1. Clinical Laboratory, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, China)

Abstract: **Objective** To study the changes of cochlear nucleus proteomics with age in C57BL/6J mice with age-related hearing loss and to explore the role of lower auditory centers in the pathogenesis of presbycusis. **Methods** Auditory brainstem response (ABR) was used to detect the auditory thresholds of C57BL/6J mice aged 2 months and 12 months, and isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) and Q Exactive plus and bioinformatics were adopted to analyze the cochlear nucleus differential proteins between the two groups. **Results** A total of 5,919 proteins and 39,269 unique peptides were identified in the two groups. There were 70 differentially expressed proteins that met the screening criteria of P value (t test) less than 0.05 and whose expression difference multiple was greater than 1.2 times (up-down). Among them, 44 were up-regulated and 26 were down-regulated. **Conclusion** iTRAQ-based quantitative proteomics can be used effectively for tissue proteins identification and relative and absolute quantification. The differential expression profile of cochlear nucleus protein can be obtained by this technique. Further studies on the molecular mechanisms of these proteins will help to elucidate the pathogenesis of senile deafness, especially central senile deafness, and identify potential markers, thus providing new molecular targets for the diagnosis and treatment of senile deafness.

Keywords: Age-related hearing loss; Proteomics; Cochlear nucleus; Isotope labelling; Quantitative technique

老年性耳聋(age-related hearing loss)临床上将其分为 6 型: 感音型、神经型、血管纹型、传导型、中

枢性及混合型老年性耳聋。发病机理尚不十分清楚。随着显微外科的开展和影像学技术的发展, 极

基金项目: 国家自然科学基金资助(81473738)。
作者简介: 何 敬, 男, 在职研究生, 主管检验师。
通信作者: 彭 斌, Email: pb2000@126. com; 易 斌, Email: xyibin@163. com

大地促进了外周听力地重建。外耳道成形、鼓室成形及中耳听力的重建,包括人工听骨的植入、振动声桥及人工耳蜗植入术都极大的完善了外周听力系统的重建。然而,仍有部分老年性耳聋患者在助听器佩戴后或人工耳蜗植入术后诉“能听到声音,但听不清楚”,其中原因值得研究者深思^[1]。是否听觉中枢在其中扮演了重要的角色,耳蜗核 (cochlear nucleus, CN) 为听觉传导通路上的低级中枢,既是听觉中枢最底层的核团,也是外周听觉系统所有传入神经的唯一已知目的地。耳蜗核内的信息处理,是中枢对听觉信息处理的最先一环。既接受耳蜗的传导信息,同时还与上橄榄核复合体等更高一级中枢保持密切的联系。研究耳蜗核年龄相关性差异蛋白质组学将有助于探讨低级听觉中枢在老年性耳聋发病机理中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

1.1.1 动物来源及分组 2 月龄和 12 月龄 C57BL/6J 鼠各 10 只,雌雄各半。实验动物均购于湖南长沙斯莱克景达实验动物有限公司。实验小鼠昼夜节律光照,自由饮水、摄食,温度 18 ~ 25℃、湿度 40% ~ 50%,普通动物饲料,开放式饲养。动物无药物使用及噪声暴露史,断头处死时均无中耳疾患。

1.1.2 听觉脑干诱发电位反应阈测定 (ABR) 参考笔者先前的研究^[2]。实验中选取每只小鼠右耳测听结果进行听力分析。

1.2 方法

1.2.1 耳蜗核定位 按照 Georage 等^[3]的定位方法。耳蜗核位于延髓嘴侧端的背外侧面,包括背侧核和腹侧核。背侧核呈半月形,斜跨小脑尾侧脚的背侧面,形成隆起的听结节,完全被小脑覆盖,其内侧端达到第四脑室的侧缘,其外侧端绕延髓外面腹侧和嘴侧伸展,与腹侧核相连续。腹侧核形状较圆,位于延髓嘴侧端三叉神经脊束的表面,与背侧核相连并部分被背侧核迭盖。耳蜗核取材位置如图 1。

1.2.2 耳蜗核取材 按照 1.2.1 的方法在手术显微镜下定位耳蜗核,用显微剪剪下两侧耳蜗核置于 0.01M PBS 液 (PH7.4) 漂洗血液后,放入冷冻管中并快速置于液氮中临时保存。

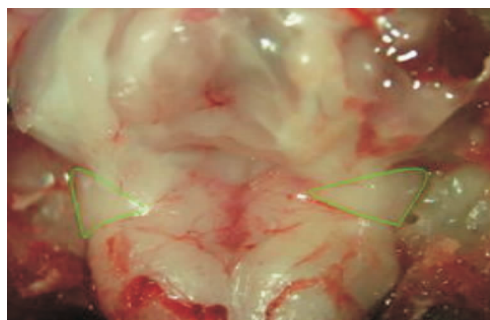


图 1 小鼠两侧耳蜗核取材 (绿色三角为取材位置)

1.2.3 样品制备 将适量的 SDT 裂解液加入耳蜗核组织中,转移至预先装有适量石英砂 (组织样品另外加入 1 颗 1/4 英寸陶瓷珠 MP 6 540 - 424) 的 2 ml 离心管中,应用 MP 匀浆仪进行匀浆破碎 (24 × 2, 6.0 M/S, 60 s, 2 次)。然后超声裂解、沸水浴 15 min, 14 000 g 离心 15 min。取上清液采用 0.22 μm 滤膜过滤,收集滤液。运用 BCA 法^[4]进行蛋白质定量。分装成小份, - 80℃ 保存。

1.2.4 SDS-PAGE 电泳 所得各样品分别取蛋白质 20 μg 进行 SDS-PAGE 电泳,考马斯亮蓝染色。

1.2.5 FASP 酶解 参照 Wisniewski^[5],肽段定量用 (Nano Drop 2 000)。

1.2.6 iTRAQ 标记 按照 AB SCIEX 公司 iTRAQ 标记试剂盒使用说明^[6]各取 100 μg 肽段进行标记。

1.2.7 HIGH PH RP 分级 使用 Agilent 1 260 infinity II HPLC 系统对混合后每组标记后的肽段进行分级。收集洗脱组分,每隔 1 min 收集洗脱组分,共计收集洗脱组分约 36 份。将样品冻干后用 0.1% FA 复溶合并为若干份。

1.2.8 Easy nLC 色谱 每份样品采用纳升流速 Easy nLC 系统进行分离。缓冲液 A 液为 0.1% 甲酸水溶液, B 液为 0.1% 甲酸乙腈水溶液 (乙腈为 80%)。色谱柱以 100% 的 A 液平衡,样品由自动进样器上样到分析柱 (thermo scientific, acclaim pepmap RSLC 50 um X15 cm, nanoviper, P/N164943) 分离,流速为 300 nl/min。

1.2.9 质谱鉴定 运用 Q-Exactive Plus 进行质谱分析。

1.2.10 Gene Ontology (GO) 功能注释^[7-8] 对目标蛋白质集合运用 Blast2 GO 进行 GO 功能注释,过程为序列比对 (Blast)、GO 条目提取 (mapping)、GO 注释 (annotation) 和补充注释 (annotation augmentation) 等 4 个步骤。为进一步提高注释效率,再通过 InterProScan 搜索 EBI 数据库中与目标蛋白质匹配

的保守基序 (motif), 并将 motif 相关的功能信息注释给目标蛋白质序列; 并运行 ANNEX 对注释信息进一步补充, 并在不同的 GO 类别之间建立联系, 以提高注释的准确性。

1.2.11 KEGG 通路注释 使用 KAAS 软件^[9]获取目标蛋白质序列参与的通路信息。

1.2.12 GO 注释与 KEGG 注释的富集分析 通过 Fisher 精确检验进行 GO 注释与 KEGG 注释的富集分析, 评价通路蛋白富集度的显著性水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行分析, 采用 Proteome Discoverer 2.1 和 Mascot 2.5 软件^[10]查库鉴定及定量分析。ABR 阈值结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 阈值结果组间比较及两组样品间的蛋白质相对表达量的统计行 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ABR 阈值

2 月龄和 12 月龄 C57BL/6J 鼠 8 KHz 听阈值分别为 (31.00 ± 9.66) dB SPL、 (63.50 ± 18.26) dB SPL, 两组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 蛋白质定量鉴定结果

经过 8 标 iTRAQ 技术结合 Easy nLC 色谱和 Q-Exactive Plus 质谱分析, 在 2 月龄和 12 月龄两组中通过 MusMusculus 数据库总共鉴定到肽段总数 54 017 个, 唯一肽段总数 39 269 个、蛋白质总数 5 919 个。符合差异蛋白判断标准的所有差异表达蛋白有 70 个。其中上调 44 个, 下调 26 个。结果见表 1、2。

表 1 12 月龄与 2 月龄 C57BL/6J 鼠上调差异表达蛋白质比较

蛋白质登录号	蛋白质信息描述	12 月龄/2 月龄	<i>P</i>
Q9ESM3	Hyaluronan and proteoglycan link protein	2.073770492	0.000285003
A0A0F7QZE4	MAb 110 heavy chain	1.797202797	0.017111881
A0A075B6A0	Ig mu chain C region (Fragment)	1.676628011	0.018174475
Q60771	Claudin-11	1.640123185	0.017915066
Q62059	Versican core protein	1.590241796	0.007808444
Q61282	Aggrecan core protein	1.586890901	1.55493E-05
Q52L64	ENSMUSG00000076577	1.574002574	0.002261563
Q02105	Complement C1q subcomponent subunit C	1.556028973	0.001000147
Q65Z11	Anti-HIV-1 reverse transcriptase single-chain variable	1.555366269	0.005261235
E9Q8B5	Uncharacterized protein	1.548428207	0.035313227
Q58E56	Igh protein	1.497918401	0.001818837
G3XA35	MCG116562, isoform CRA_a	1.481803143	3.82085E-05
P60202	Myelin proteolipid protein	1.480976013	0.015075117
Q8VBX5	Palmitoyl-protein thioesterase	1.46872428	0.000968189
O89023	Tripeptidyl-peptidase 1	1.463054187	0.000203047
Q3UKH3	Putative uncharacterized protein	1.422285022	0.017214936
P98086	Complement C1q subcomponent subunit A	1.406738869	0.002610474
Q9QUP5	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1	1.398481215	0.000338978
F6RT34	Myelin basic protein (Fragment)	1.394810379	0.031461016
G3X9Q2	Guanine nucleotide-binding protein subunit gamma	1.382446386	0.002203886
P40240	CD9 antigen	1.362741237	0.009337434
P14106	Complement C1q subcomponent subunit B	1.348336595	0.001469587
P70271	PDZ and LIM domain protein 4	1.337879969	0.044758425
F6TYB7	Myelin basic protein (Fragment)	1.333722287	0.036298617
Q91ZJ5	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	1.3196753	0.015239085
Q14DP8	Slitrk2 protein	1.305032655	0.034227981
Q8BME9	Cerebellin-4	1.283105023	0.008440343
Q99JR5	Tubulointerstitial nephritis antigen-like	1.272727273	0.01400175
A0A1L1SVG6	Choline transporter-like protein 2	1.27014756	0.008969628
Q3TN07	Putative uncharacterized protein	1.263773585	0.008451343
Q8R2Z5	von Willebrand factor A domain-containing protein 1	1.263773585	0.007851463
Q8C243	Putative uncharacterized protein	1.262066365	0.00042691
Q6P1B9	Bin1 protein	1.260361718	0.022798069
P51910	Apolipoprotein D	1.254791432	0.000609567

续表 1

蛋白质登录号	蛋白质信息描述	12 月龄/2 月龄	<i>P</i>
Q3TSZ4	Aldose 1-epimerase	1.251407129	0.005776625
Q3V449	Nicotinamide-nucleotide adenyllyltransferase	1.243364486	0.016528085
Q3TXR9	Beta-hexosaminidase	1.23509687	0.000546635
Q8VHP7	Leukocyte elastase inhibitor B	1.224323322	0.016326842
Q3UER8	Fibrinogen gamma chain	1.215657312	0.025729515
Q9D2P8	Myelin-associated oligodendrocyte basic protein	1.21402214	0.021562678
Q9ES93	Cathepsin F	1.208762887	0.021662131
Q1XG79	UbiE1	1.202643172	0.019447301
Q9JJE4	Progesterin and adipoQ receptor family member 4	1.201393984	0.013212168
Q6NZN0	RNA-binding protein 26	1.201027146	0.005531629

注:蛋白质登录号:蛋白质序列数据库(FASTA database)中的蛋白质编号;蛋白质信息描述:基于蛋白质序列的数据库中的蛋白质功能描述;12 月龄/2 月龄:为老年组与青年组比较符合表达差异倍数大于 1.2 倍,数值越大差异越大;*P* <0.05 筛选标准的蛋白质视为差异表达蛋白质。下表同

表 2 12 月龄与 2 月龄 C57BL/6J 鼠下调差异表达蛋白质比较

蛋白质登录号	蛋白质信息描述	12 月龄/2 月龄	<i>P</i>
Q8BHI7	Elongation of very long chain fatty acids protein	0.831196581	0.013355382
E9PWE8	Dihydropyrimidinase-related protein 3	0.830079317	0.000210809
Q9CQN6	Transmembrane protein 14C	0.82790131	0.018279553
Q8BR90	UPF0600 protein C5orf51 homolog	0.824817518	0.028769842
Q80YX1	Tenascin	0.824262694	0.007003432
Q66JR8	Ptms protein	0.821493625	0.027369275
Q330P7	SCF apoptosis response protein 1	0.811594203	0.03992012
Q3TLI9	Putative uncharacterized protein	0.811594203	0.009442369
A6H648	Ankrd35 protein	0.804753309	0.041043695
A0A0R4J093	UMP-CMP kinase	0.800180018	0.036748194
Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	0.799640072	0.005723936
G5E8G5	Prominin 1, isoform CRA_a	0.796407186	0.001241792
Q546G4	Albumin 1	0.780712166	0.045622583
E9Q0H6	Fatty acid-binding protein	0.778535428	0.013543105
P62071	Ras-related protein R-Ras2	0.773802484	0.00160048
Q3U9K6	Interferon regulatory factor 3, isoform CRA_a	0.77282127	0.032414812
B2RSN3	Tubulin beta chain	0.758721782	0.011146777
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	0.752848379	0.030504102
Q9ES70	Serine/threonine-protein kinase Nek6	0.739130435	0.014203418
Q08331	Calretinin	0.737040255	0.014574552
Q0VGZ0	Gtf2a1 protein	0.721871412	0.037214269
Q76LL6	FH1/FH2 domain-containing protein 3	0.703093954	0.005853975
Q4V9X0	Ppp3ca protein	0.685585839	0.040601856
O54879	High mobility group protein B3	0.668334723	0.014967953
P59648	FXVD domain-containing ion transport regulator 7	0.608310992	0.044310709
F7A0B0	Myelin basic protein (Fragment)	0.517067004	0.000374513

蛋白质功能 GO 注释见图 2。差异表达蛋白质 GO 富集分析显示显著的差异蛋白主要集中在:细胞外区域、多细胞生物过程、神经系统的发育、细胞外空隙、糖胺聚糖结合、细胞外基质、内肽酶活力等,

见图 3。差异表达蛋白在 KEGG 通路富集分析显著的生物学通路包括溶酶体通路、补体系统通路、脂肪酸延长通路、氨基糖和核苷酸糖代谢通路、脂肪酸代谢通路等,见图 4。

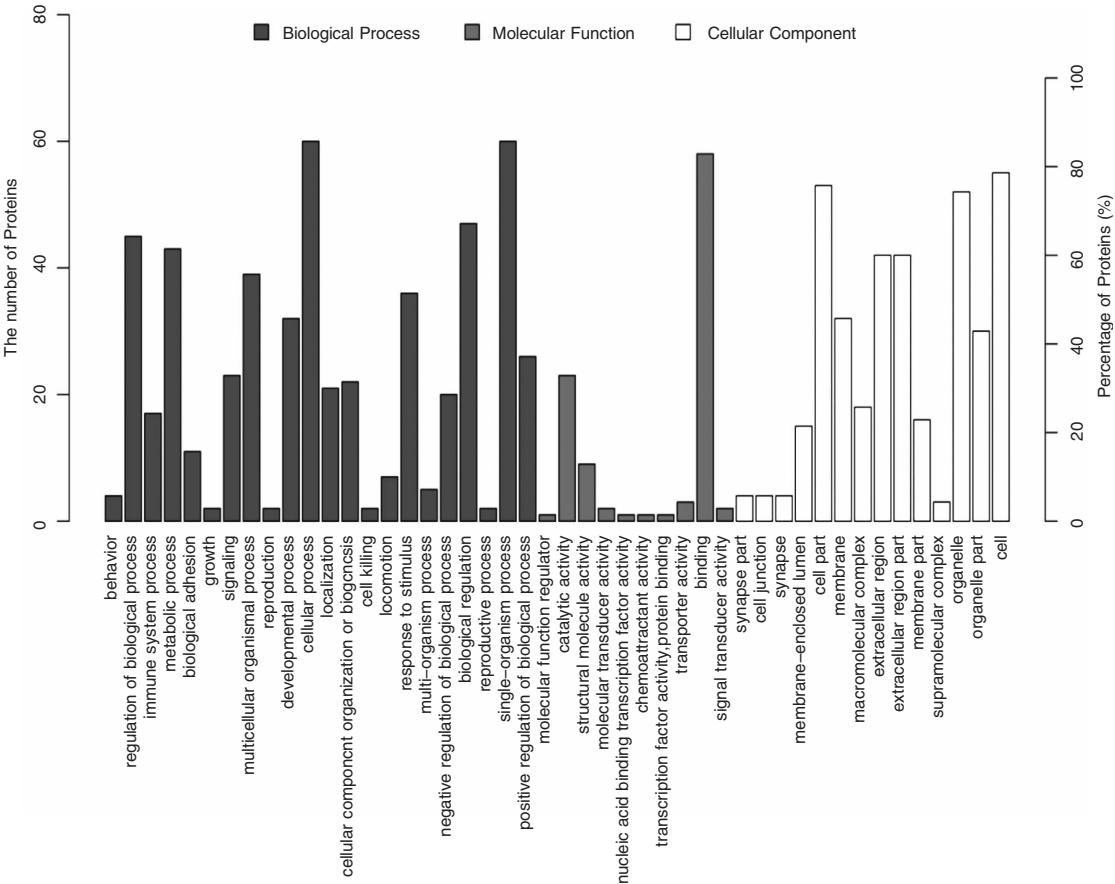


图 2 蛋白质功能 GO 注释分析(12 月龄 VS 2 月龄)

3 讨论

目前有关中枢性老年性耳聋神经通路上的改变从形态学方面研究较多,实验及临床病理研究均证实老年性聋中枢改变累及听觉各相关组织,表现为神经元数量减少、萎缩、变形、空泡变性、轴突脱髓鞘变性及突触结构异常等。我们前期对老年大鼠蜗核及听皮层的研究也证实了该点^[11]。但对听觉通路上相关蛋白质组学的研究报道却很少。本文就年龄相关性听力减退 C57BL/6J 小鼠耳蜗核的差异蛋白质组学结果作相关的报道,希望通过深层次研究这

些差异蛋白可以找到一些与中枢性老年性聋发病相关的靶点。通过 iTRAQ 技术我们发现老年耳蜗核中下降最明显的和神经元相关的蛋白主要是:髓磷脂碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)、域离子调控因子 7(domain-containing ion transport regulator 7, FXYP7)、钙视网膜结合蛋白(calretinin2, CALB2)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 6(serine/threonine-protein kinase, NEK6)。升高最明显的蛋白为:透明质酸蛋白聚糖连接蛋白(hyaluronan and proteoglycan link protein 2, HAPLN2)、棕榈酰蛋白硫酯酶 1(palmitoyl-protein thioesterase, PPT1)、三肽基肽酶 1(palmitoyl-protein thioesterase, TPP1)。

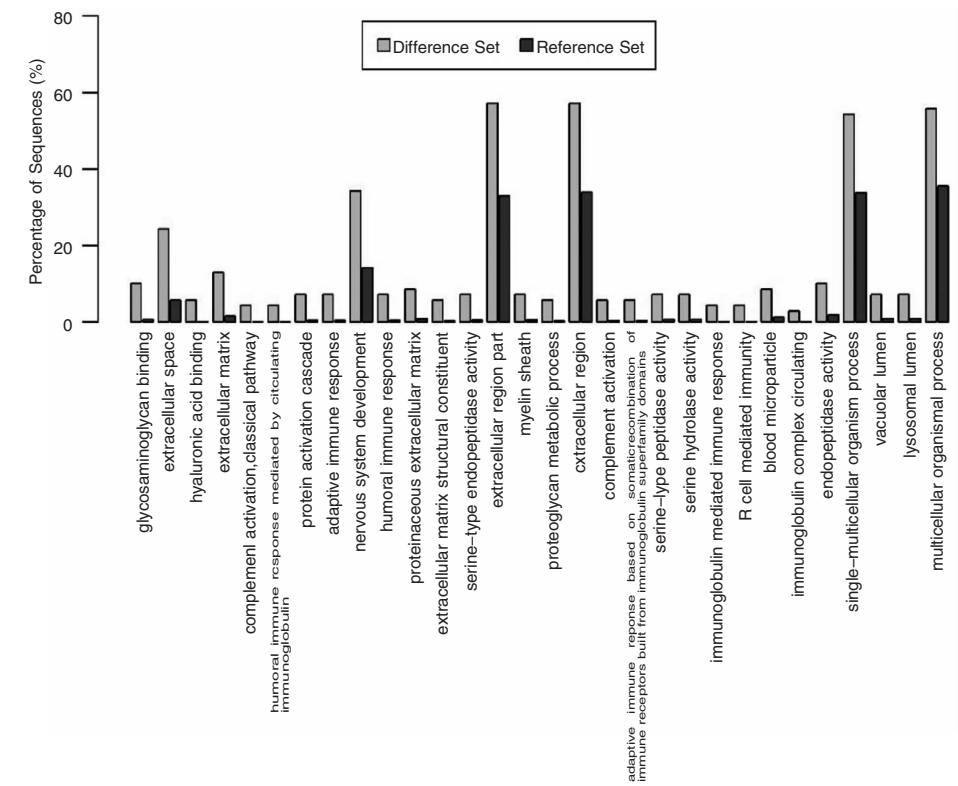


图 3 差异表达前 30 位蛋白质 GO 富集分析(12 月龄 VS 2 月龄)

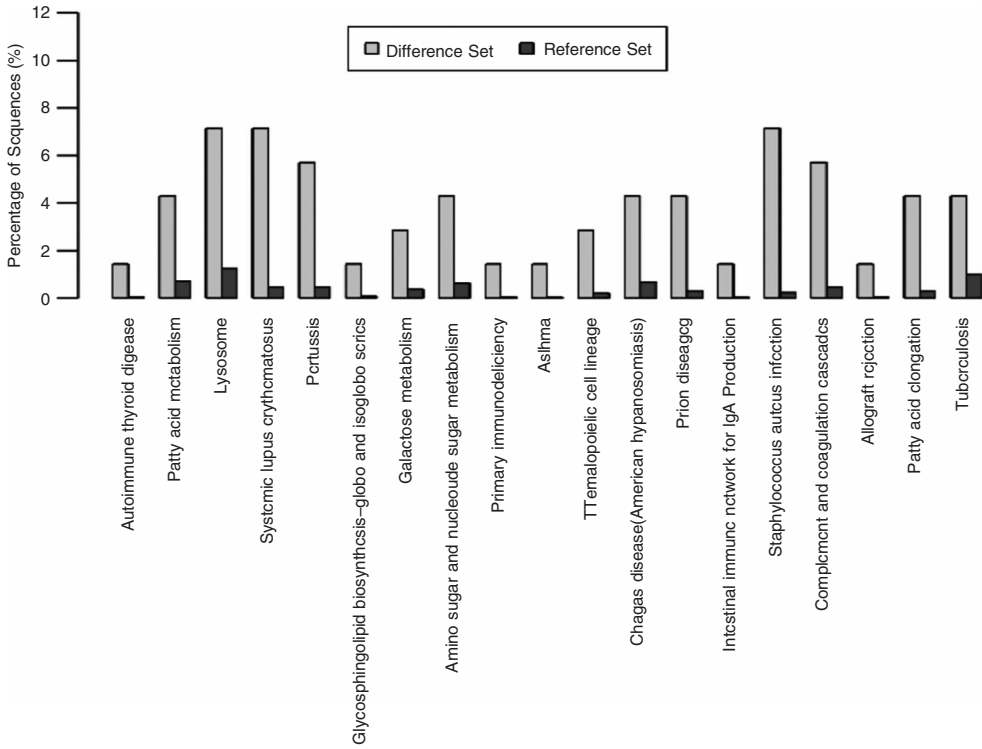


图 4 差异表达蛋白质 KEGG 通路富集分析(12 月龄 VS 2 月龄)

髓磷脂碱性蛋白和髓鞘蛋白前脂蛋白 (proteolipid protein, PLP) 广泛存在于少突胶质细胞中, 是少突胶质细胞成熟的标志^[12]。少突胶质是中枢神经细胞中形成髓鞘的主要细胞, 对于维持神经元的结构及功能具有重要的作用。PLP 减少是否会影响蜗核中的少突胶质细胞成熟及有髓神经纤维髓鞘的形成从而导致神经纤维的传导障碍而影响听力, 尚有待进一步研究。FXYP 家族是一种小分子单跨膜蛋白, 至今为止发现其成员有 12 个, 它的成员均属 I 型膜蛋白, 和 Na、K-ATPase 的结构和功能密切相关, Na、K-ATPase 是一个多亚基蛋白质, 由 α 亚基、 β 亚基和 FXYP 蛋白组成。FXYP 蛋白家族为 Na、K-ATPase 组织特异性辅助亚基。是维持细胞膜内外 Na^+ 、 K^+ 离子浓度的主要酶^[13]。FXYP 蛋白家族各成员组织分布及表达各不相同, FXYP7 仅表达于脑组织中, 主要是在神经元, 再者是星型胶质细胞。在爪蟾卵母细胞中 FXYP7 可以和 Na、K-ATPase $\alpha 1$ - $\beta 1$ 、 $\alpha 2$ - $\beta 1$ 及 $\alpha 3$ - $\beta 1$ 结合但不能和 $\alpha 2$ - $\beta 2$ 酶相互作用。在脑组织中它仅仅和 $\alpha 1$ - β 酶相互作用。FXYP7 是一种新型的组织特异性 Na、K-ATPase 调节剂, 可能在神经元的兴奋性中发挥重要作用^[14]。CALB2 主要表达于中枢和外周神经细胞内^[15], 它可以调控细胞内及线粒体内的钙离子浓度, 防止细胞内钙离子异常升高^[16]。钙离子作为第二信使在神经网络中调节突触传递和神经转导。老年听力障碍小鼠耳蜗核中 CALB2 明显减少可能使得神经细胞中的钙离子稳态平衡遭到破坏, 当神经元失去对钙离子的控制以及不能从钙离子负荷中恢复时, 细胞内过多的超载钙离子则对神经元具有毒性作用或使得神经元细胞凋亡^[17]。HAPLN 基因家族有 4 个成员, 分别是软骨连接蛋白和 HAPLN2、HAPLN3 及 HAPLN4。HAPLN1 是软骨连接蛋白, HAPLN3 在脊椎动物中广泛分布, HAPLN2 和 HAPLN4 只表达在大脑和中枢神经系统^[18]。有报道显示^[19] HAPLN2 可能促进帕金森患者的神经退行性变的过程。由上可见蜗核随增龄产生的这些差异表达蛋白与神经退行性变密切相关, 但这种神经退行性变是中枢本身老化的结果, 还是由于听觉外周退变、神经冲动传入减少, 进而诱发听觉中枢的神经退行性变抑或是两者兼而有之尚不得而知。今后我们将就此展开更深入的研究, 以期在中枢性老年性耳聋的发病机制方面有所突破。

参考文献:

- [1] Jenarz M, Sönmez H, Joseph G, et al. Cochlear implant performance in geriatric patients [J]. *Laryngoscope*, 2012, 122 (6): 1361 - 1365.
- [2] 徐绍勤, 彭斌, 刘佳运, 等. 复聪片及其拆方拮抗庆大霉素耳毒性反应的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1998, 6 (18): 365 - 367.
- Xu SQ, Peng B, Liu JY, et al. Experimental study of Fucong tablets and its prescriptions against ototoxicity of gentamicin [J]. *Chinese Journal of Integrative Traditional and Western Medicine*, 1998, 6 (18): 365 - 367.
- [3] George Paxinos, Charles Watson. The rat brain instereotaxic coordinates [M]. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1998: 65 - 70.
- [4] Zhu Y, Xu H, Chen H, et al. Proteomic analysis of solid pseudopapillary tumor of the pancreas reveals dysfunction of the endoplasmic reticulum protein processing pathway [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13 (10): 2593 - 2603.
- [5] Wiśniewski JR, Zougman A, Nagaraj N, et al. Universal sample preparation method for proteome analysis [J]. *Nat Methods*, 2009, 6 (5): 359 - 362.
- [6] Applied Biosystems iTRAQTM Reagents Amine-Modifying Labeling Reagents for Multiplexed Relative and Absolute Protein [Z]. Applied Biosystems. 2004.
- [7] Götz S, García-Gómez JM, Terol J, et al. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36 (10): 3420 - 3435.
- [8] Quevillon E, Silventoinen V, Pillai S, et al. InterProScan: protein domains identifier [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33 (Web Server issue): W116 - 120.
- [9] Moriya Y, Itoh M, Okuda S, et al. KAAS: an automatic genome annotation and pathway reconstruction server [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35 (Web Server issue): W182 - 185.
- [10] Proteome Discoverer Version 2.1 [Z]. Thermo Fisher Scientific Inc. 2014.
- [11] 彭斌, 周媛, 谢鼎华. 增龄对年龄相关性听力减退大鼠听觉神经通路形态学的影响 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2008, 14 (2): 103 - 106.
- Peng B, Zhou Y, Xie DH. Morphological study of the auditory neuropathway of Wistar rats with age-related hearing impairment [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2008, 14 (2): 103 - 106.
- [12] Asou H, Hamada K, Miyazaki T, et al. CNS myelinogenesis in vitro: time course and pattern of rat oligodendrocyte development [J]. *J Neurosci Res*, 1995, 40 (4): 519 - 534.
- [13] Floyd RV, Wray S, Martín-Vasallo P, et al. Differential cellular expression of FXYP1 (phospholipase) and FXYP2 (gamma subunit of Na, K-ATPase) in normal human tissues: a study using high density human tissue microarrays [J]. *Ann Anat*, 2010, 192 (1): 7 - 16.
- [14] Béguin P, Crambert G, Monnet-Tschudi F, et al. FXYP7 is a

brain-specific regulator of Na,K-ATPase $\alpha 1$ - β isozymes[J]. EMBO J,200,21(13):3264-3273.

[15] Rogers J,Khan M,Ellis J. Calretinin and other CaBPs in the nervous system[J]. Adv Exp Med Biol,1990,269:195-203.

[16] Barinka F, Dmga R. Calretinin expression in the mammalian neocortex: a review[J]. Physiol Res,2010,59(5):665-677.

[17] Mark P. Mattson. Calcium and neurodegeneration[J]. Aging cell, 2007,6(3):337-350.

[18] Spicer AP, Joo A, Bowling RA Jr. A hyaluronan binding link protein gene family whose members are physically linked adjacent to chondroitin sulfate proteoglycan core protein genes[J]. J Biol Chem,2003,278(23):21083-21091.

[19] Wang Q, Zhou Q, Zhang S, et al. Elevated hapln2 expression contributes to protein aggregation and neurodegeneration in an ani-

mal model of Parkinson's disease[J]. Front Aging Neurosci, 2016, 8:197.

(收稿日期:2019-03-27)

本文引用格式:何 敬,彭 斌,易 斌. 年龄相关性听力减退小鼠耳蜗核 iTRAQ 定量蛋白质组学研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2019,25(5):490-497. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201905009

Cite this article as:HE Jing, PENG Bin, YI Bin. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis in the cochlear nucleus of mice with age-related hearing loss[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2019, 25(5):490-497. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201905009

(上接第 489 页)

[7] Vore AP, Chang EH, Hoppe JE, et al. Deletion of and novel missense mutation in POU3F4 in 2 families segregating[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg,2005,131(12):1057-1063.

[8] de Kok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene POU3F4[J]. Science, 1995,267(5198):685-688.

[9] Sennaroglu L, Bajin MD. Incomplete partition type III: A rare and difficult cochlear implant surgical indication[J]. Auris Nasus Larynx,2018,45(1):26-32.

[10] Battmer R, Pesch J, Stöver T, et al. Elimination of facial nerve stimulation by reimplantation in cochlear implant subjects[J]. Otol Neurotol,2006,27(7):918-922.

[11] Sennaroglu L, Bajin MD. Classification and current management of inner ear malformations[J]. Balk Med J,2017,34(5):397-411.

[12] Cosetti MK, Friedmann DR, Heman-Ackah SE, et al. Surgical techniques and outcomes of cochlear implantation in patients with radiographic findings consistent with X-linked deafness[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol,2015,79(10):1689-1693.

[13] 卢宇涵,李佳楠,孙丽等. 内耳不完全分隔Ⅲ型(IP-Ⅲ)畸形病例分析[J]. 中华耳科学杂志,2018,16(4):451-457.

Lu YH, Li JN, Sun L, et al. An analysis of cases of inner ear incomplete partition Type III[J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2018,16(4):451-457.

[14] Phelps PD, Reardon W, Pembrey M, et al. X-linked deafness, stapes gushers and a distinctive defect of the inner ear[J]. Neuro-radiology,1991,33(4):326-330.

[15] Kim BG, Sim NS, Kim SH, et al. Enlarged cochlear aqueducts: a potential route for CSF gushers in patients with enlarged vestibular aqueducts[J]. Otol Neurotol, 2013,34(9):1660-1665.

[16] 李万鑫,刘军,武文明,等. 人工耳蜗植入术中脑脊液井喷的原因分析及处理[J]. 中华耳科学杂志,2017,15(4):436-440.

Li WX, Liu J, Wu WM, et al. Causes and management of intra-operative cerebrospinal fluid gusher and post-operative cerebrospinal fluid otorrhea/rhinorrhea in cochlear implantation[J]. Chinese Journal of Otolaryngology, 2017,15(4):436-440.

[17] Incesulu A, Adapinar B, Kecik C. Cochlear implantation in cases with incomplete partition type III (X-linked anomaly) [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2008,265(11):1425-1430.

(收稿日期:2019-08-15)

本文引用格式:陈见清,火子榕,贾 欢,等. 2 例内耳不完全分隔Ⅲ型患者行人工耳蜗植入分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019,25(5):487-489,497. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201905008

Cite this article as:CHEN Jian-qing, HUO Zi-rong, JIA Huan, et al. An analysis of two cases of incomplete partition type III[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2019,25(5):487-489,497. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201905008