

同义突变的有害性及其致病机制

翟玺国^{1#} 王玉佩^{2#} 朱静¹ 惠玲² 侯勤正^{1*}

(¹西北师范大学, 生命科学学院, 兰州 730070; ²甘肃省妇幼保健院/甘肃省中心医院, 医学遗传中心, 兰州 730050)

摘要 同义突变是一类不改变蛋白质氨基酸序列的DNA编码区变异, 长期以来被认为是对生物体表型无影响的“中性突变”。然而, 近年来研究表明, 同义突变可以通过调控转录、剪接、翻译及蛋白质结构功能等多种机制影响基因表达和蛋白质功能, 从而对人类疾病产生重要影响。该文综述了同义突变的核心致病机制, 包括改变mRNA半衰期与修饰、重塑mRNA二级结构, 干扰剪接位点与调控元件功能, 影响密码子偏好与tRNA配对, 以及扰动蛋白质折叠与构象; 重点阐述了其在癌症、遗传性疾病、免疫缺陷性疾病和其他疾病中的致病模式。同时, 总结了同义突变研究技术的发展历程, 分析了当前研究面临的致病性预测难、功能验证体系局限等挑战。未来研究需要开发基于中国人群基因组数据的精准生物信息学工具和高效的实验验证体系, 探索RNA靶向干预等治疗方式, 为精准医学背景下同义突变相关疾病的诊断与治疗提供理论依据。

关键词 同义突变; 异常剪接; 密码子使用偏好性; mRNA稳定性; 精准医学

Pathogenic Mechanisms of Synonymous Mutations and Their Impact on Disease

ZHAI Xiguo^{1#}, WANG Yupei^{2#}, ZHU Jing¹, HUI Ling², HOU Qinzheng^{1*}

(¹College of Life Science, Northwest Normal University, Gansu 730070, China; ²Medical Genetics Center, Gansu Provincial Maternity and Child-Care Hospital/Gansu Provincial Central Hospital, Lanzhou 730050, China)

Abstract Synonymous mutations are DNA coding region variants that do not alter the amino acid sequences of proteins and have long been regarded as phenotypically neutral mutations. However, recent studies have demonstrated that synonymous mutations can exert significant effects on gene expression and protein function through diverse regulatory mechanisms, including transcription, splicing, translation, and protein structural dynamics, thereby contributing to human disease phenotypes. This review systematically summarizes the core pathogenic mechanisms of synonymous mutations, encompassing the modulation of mRNA half-life and epitranscriptomic modifications, remodeling of mRNA secondary structures, disruption of splicing sites and *cis*-regulatory elements, alterations in codon usage bias and tRNA pairing, as well as perturbations in co-translational protein folding and conformational stability. This review emphasizes the distinct pathogenic modes of synonymous mutations in cancer, monogenic disorders, immunodeficiency syndromes, and other disease contexts. In addition, the developmental trajectory of technologies for synonymous mutation research is summarized, and the current challenges in this field are analyzed, including difficulties in pathogenicity prediction and limitations of functional validation systems. Future research priorities include the development of precision bioinformatics tools based on Chinese population genomic

收稿日期: 2025-12-10 接受日期: 2026-02-24

甘肃省科技计划(批准号: 25YFFA057、23YFFA0045)和甘肃省卫生健康行业科研计划(批准号: GSWSKY2021-021)资助的课题

*共同第一作者

*通信作者。Tel: 18919832688, E-mail: hou_qzh@nwnu.edu.cn

Received: December 10, 2025 Accepted: February 24, 2026

This work was supported by the Gansu Province Science and Technology Program (Grant No.25YFFA057, 23YFFA0045), and the Gansu Province Scientific Research Program of the Health Industry (Grant No.GSWSKY2021-021)

*These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-18919832688, E-mail: hou_qzh@nwnu.edu.cn

data, establishment of efficient experimental validation systems, and exploration of RNA-targeted therapeutic strategies. Such efforts will provide a theoretical foundation for diagnosis and treatment of synonymous mutation-associated diseases within the framework of precision medicine.

Keywords synonymous mutation; aberrant splicing; codon usage bias; mRNA stability; precision medicine

同义突变(synonymous mutation)是指DNA编码区的碱基发生替换,但因遗传密码简并性而未改变蛋白质氨基酸组成的遗传变异^[1]。传统观点认为此类突变因不影响蛋白质序列而呈“中性”,故长期被归类为“沉默突变”。然而,近年来随着基因组学、表观遗传学研究的深入和高通量测序技术、基因编辑技术、机器学习模型的发展,同义突变的“中性”假说受到挑战。2022年密歇根大学张建之团队^[2]在*Nature*发表研究,利用CRISPR/Cas9编辑技术构建了8 341个酵母突变株,结果显示其中75.9%的同义突变显著降低生物适应度,且其适应度分布与非同义突变相似,提示同义突变的非中性效应可能普遍存在。多项研究表明,同义突变可以通过多种机制影响基因表达和蛋白质功能,从而参与疾病发生和发展。其机制包括:同义突变可以改变前体mRNA的剪接^[3-4]与稳定性,影响成熟mRNA的翻译速率^[5];破坏成熟mRNA二级结构以干扰核糖体结合^[6];修饰表观遗传标记(如m⁶A),影响转录后调控^[2,7]。人类疾病中,同义突变以不同的致病机制直接或间接导致癌症、单基因遗传病等发生,凸显其在分子病理机制

中的复杂作用^[8-10]。

本文从分子机制、疾病关联、研究技术三个维度系统探讨同义突变研究进展,重点整合国内外研究成果,分析当前挑战,以期为精准医学时代的疾病诊断、靶向治疗及遗传咨询提供理论支撑,并推动同义突变在精准医学中的深入应用。

1 同义突变干扰基因表达的分子机制

同义突变对基因表达的干扰贯穿“DNA-RNA-蛋白质”的全过程,其分子机制主要体现在转录、剪接、翻译及对蛋白质结构功能调控四个层面(图1),各个层级互相关联,共同介导其致病性。

1.1 转录水平调控:影响mRNA的稳定性与修饰

1.1.1 改变mRNA的半衰期 同义突变可通过改变密码子使用偏好(codon usage bias, CUB)起到调控mRNA半衰期的作用^[11]。CUB是指在编码同一氨基酸的同义密码子中,某些最优或首选密码子的使用频率高于非最优或稀有密码子的现象。CUB在生物体中普遍存在,在高表达的基因中尤为显著,这一现象使得这些基因对翻译准确性和效率的自然

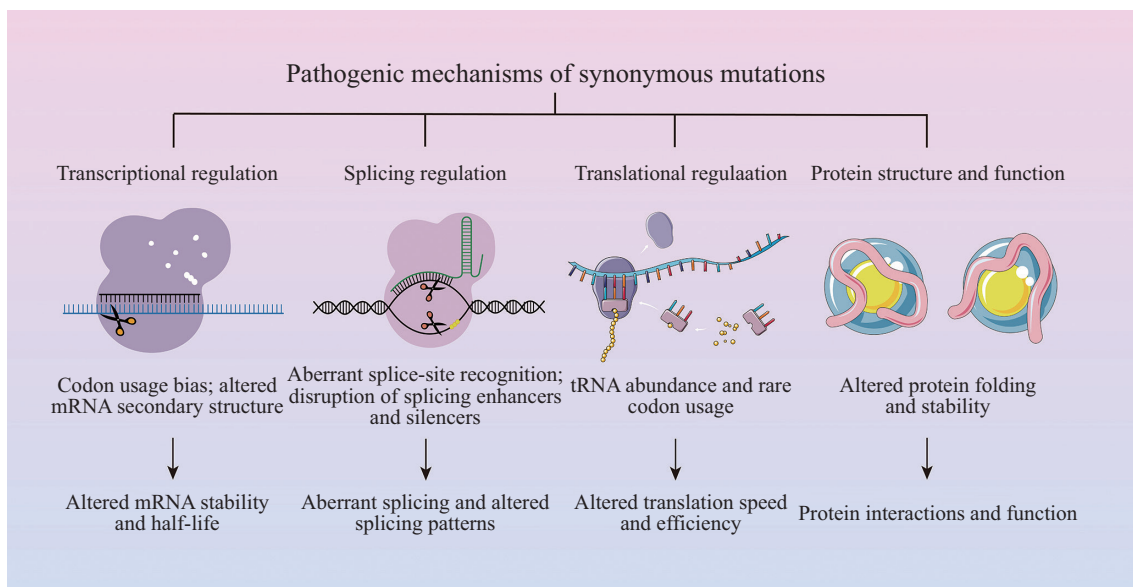


图1 同义突变所引起疾病的致病机制

Fig.1 Pathogenic mechanism of diseases caused by synonymous mutations

选择更强^[12]。最优密码子通过匹配高丰度 tRNA 显著提升翻译延伸速率,从而有效保护 mRNA 免受降解并增强其稳定性。研究表明,CUB作为一种微调 mRNA 表达水平并最终改变蛋白质水平的机制而存在,对 mRNA 稳定性具有很大贡献^[13]。生物信息学分析表明,mRNA 稳定性与最优密码子占比呈正相关——最优密码子占比低于 40% 的 mRNA 平均半衰期仅为 5.3 min,而占比超过 70% 的 mRNA 平均半衰期可达 20.1 min。同义突变通过替换最优/非最优密码子可双向调控 mRNA 稳定性,例如将最优密码子突变为同义非最优形式可显著缩短 mRNA 半衰期,反之则延长^[14]。值得注意的是,虽然最优密码子含量是 mRNA 稳定性的主要决定因素,但它并不能决定所有 mRNA 的半衰期,部分最优密码子高占比的 mRNA(如组蛋白 HHF2 和 HHT1 的转录本)仍呈现极短半衰期(2.4~3.5 min),主要取决于它们有效启动翻译的能力和 5' 或 3' 非翻译区中的元素^[14]。

1.1.2 破坏 mRNA 的修饰 N^6 -甲基腺苷(N^6 -methyladenosine, m^6A)是真核生物 mRNA 中常见到的内部修饰,参与调控 mRNA 稳定性、剪接和翻译。同义突变通过破坏 m^6A 的修饰位点,导致转录后调控紊乱^[15]。例如,抑癌基因 *INPP5K* 的 m^6A 位点同义突变(c.1092A>G)会导致相关 m^6A 修饰的丢失,导致 mRNA 剪接和稳定性的失调^[16]。抑癌基因 *CDKN2A* 的同义突变(c.294A>G)和 *BRC42* 基因的同义突变(c.1365A>G)破坏 m^6A 修饰,降低了 mRNA 稳定性,促进了肿瘤的发生^[9]。

1.1.3 重塑 mRNA 二级结构 mRNA 的二级结构(如茎环结构、发夹环、内部环等)是由核苷酸之间的互补配对形成,其结构稳定性直接影响 mRNA 的转运、翻译及降解过程。同义突变通过改变核苷酸序列,可重塑 mRNA 的二级结构,进而减弱或增强 mRNA 的稳定性,影响基因的表达^[17]。儿茶酚-O-甲基转移酶(catechol-O-methyltransferase, COMT)中的同义突变体(可溶性 COMT 中 403C>G 和膜结合 COMT 中 625C>G)和双核苷酸同义突变体(可溶性 COMT 中 403C>G、479G>C 和膜结合 COMT 中 625C>G、701G>C)与野生型相比,同义突变破坏了原本稳定的茎环结构,结果导致了 COMT 蛋白质水平和酶活性显著改变^[18]。通过 Mfold(multiple fold)生物信息学分析工具(用于预测核酸的二级结构及其热力学稳定性)和相对密码子偏差计算对 CBP/p300

相互作用转录激活因子(CBP/p300 interacting trans-activator, CBP)(富含谷氨酸/天冬氨酸羧基末端域)家族成员 2(*CITED2*)基因中两个同义突变[c.21C>A(p.A7A)和 c.627C>G(p.P209P)]进行分析,Mfold 结果表明,c.21C>A 突变体与野生型相比,形成了一个内部环和相对压缩的发夹环,而 c.627C>G 突变体形成了一个额外的凸起环;两种同义突变体都会改变 mRNA 的二级结构,降低 mRNA 稳定性^[6]。相对密码子使用分析表明,这些结构变化导致 mRNA 翻译速率降低。在囊性纤维化跨膜电导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*)基因中,外显子 12 的同义突变(c.52T>C)通过破坏 mRNA 二级结构,降低剪接效率,导致囊性纤维化疾病^[19];而在 *CFTR* 基因中伴随 $\Delta F508$ 突变的同义突变 Ile507ATT>ATC 起到稳定突变位点附近 mRNA 二级结构的作用,并且很可能通过降低 mRNA 翻译率,间接导致 $\Delta F508$ -*CFTR* 错误折叠^[20]。这些案例均证实,mRNA 二级结构的重塑是同义突变影响基因功能的重要机制。

1.2 剪接调控: 干扰 pre-mRNA 的精准剪接

真核生物基因组普遍含有内含子,在基因表达过程中,剪接机制精准识别前体 mRNA(pre-mRNA)的外显子-内含子边界,并切除内含子,这是高度保守的基因表达核心环节。剪接位点序列异常或剪接调控紊乱通常会产生异常的 mRNA,这些 mRNA 或快速被降解,或编码有害的蛋白质,与疾病发生直接相关^[21-22]。在高等真核生物中,pre-mRNA 精确剪接主要依赖三个顺式作用元件:5'剪接位点(5'GU)、3'剪接位点(3'AG)和分支位点^[23]。除此之外,剪接增强子(exonic splicing enhancer, ESE)与沉默子(exonic splicing silencer, ESS)可以通过招募剪接因子,刺激或抑制剪接,在选择性剪接模式中发挥重要作用。外显子中出现同义突变可以通过两种核心方式干扰剪接调控:一是形成新的剪接供体/受体位点;二是改变 ESE 和 ESS 的基序,影响剪接体与作用元件结合的亲和力。两种方式均可能造成外显子跳跃、内含子保留或异常选择性剪接,最终产生序列异常的 mRNA,编码功能缺陷的蛋白质,导致人类疾病发生——此类同义突变在单基因遗传病中被广泛报道。

1.2.1 形成新剪接位点: 导致外显子缺失或跳跃 同义突变可在外显子内部生成新的 5'剪接供体位

点或3'剪接受体位点,这些新位点可能被剪接体优先识别,从而导致外显子部分缺失或完整跳跃,破坏mRNA的阅读框架。在血管血友病因子*VWF*基因中,c.7056C>T突变在外显子41内生成新的5'供体剪接位点,引发mRNA中7055-7081核苷酸片段缺失^[24]; *CFTR*基因c.2811G>T同义突变在外显子15内产生了一个新的5'供体剪接位点,导致编码蛋白缺失76个氨基酸^[25]; 腺瘤性结肠息肉病(*APC*)基因中c.1458T>C突变通过激活隐藏的剪接位点,诱导外显子跳跃,产生截短的APC蛋白并导致其抑癌功能丧失,进而引发家族性腺瘤性息肉病(FAP)^[26]; 在林奇综合征相关的*MLH1*基因中,外显子6末端上游3碱基处发生的同义突变(c.543C>T),在原有剪接位点上游4个碱基处创建了一个新的供体剪接位点,导致外显子6末端4个碱基缺失,引发移码突变,使得下游20个氨基酸处出现提前终止密码子,破坏*MLH1*蛋白的DNA错配修复功能^[27]。在透明细胞肾癌中,抑癌基因*BAP1*的同义突变(Gly312-GGT>GGG)造成外显子跳跃,使得生成的截短蛋白无法与染色质修饰复合体结合,从而丧失抑癌功能^[28]。在Wilson病(铜代谢障碍性疾病)中,*ATP7B*基因的同义突变(c.2292C>T)导致外显子8跳跃,产生的蛋白缺乏负责铜离子转运的关键跨膜结构域,直接引发临床表型^[29]。

1.2.2 改变ESE/ESS功能:扰乱剪接调控网络 同义突变还可通过改变ESE/ESS基序的核苷酸序列,直接生成/消除ESE/ESS功能模块,干扰剪接因子的结合,进而引发异常剪接模式,导致缺陷蛋白生成与疾病表型。在非综合征型唇腭裂(nonsyndromic cleft lip and palate, NS-CL/P)相关的*IRF6*基因中,c.921C>T同义突变虽未破坏经典剪接位点,但会改变外显子剪接ESS基序,导致外显子7异常跳跃,使得*IRF6*蛋白功能丧失,引发唇腭裂^[30]; 在精神分裂症与成瘾行为相关的*DRD2*基因中,c.957C>T同义突变消除外显子剪接ESE,导致mRNA稳定性下降,多巴胺受体D2表达异常,造成精神分裂症和成瘾行为相关表型^[31]; 在中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症相关的*MCAD*基因中,c.351A>C同义突变,一方面抑制外显子5的ESE与剪接因子结合,另一方面解除对相邻ESS的抑制,双重作用触发外显子跳跃,导致MCAD蛋白功能缺陷,引发脂肪酸代谢紊乱^[32]; 在侵袭性甲状腺髓样癌相关的*ERT*基因中,c.1890C>T同义突变

生成新的ESE基序,增强剪接因子SRp55对突变等位基因的募集,提高pre-mRNA加工效率,导致RET蛋白过度表达,促进肿瘤发生^[33]; 在免疫缺陷相关的*IL7R*基因中,同义突变c.735C>T破坏ESE,引发外显子6的跳跃,导致功能性膜结合型受体表达量减少,影响T细胞发育,引发免疫缺陷^[34]。此外,病毒基因中的同义突变也可通过类似机制调控剪接:*HIV-1*基因同义突变破坏ESS,激活隐性剪接位点以调控病毒复制效率^[35]。值得注意的是,外显子边界附近的同义突变对pre-mRNA剪接的调控作用尤为显著^[36]。例如,位于*BRCA2*基因外显子6最后一个碱基处的同义突变(c.744G>A)^[37],*BAP1*基因外显子11倒数第四个碱基处的同义突变(c.936T>G)^[28],均生成新的剪接位点,被剪接复合体优先识别,导致外显子的异常跳跃,阅读框移位及提前终止密码子的出现,最终破坏蛋白功能。

1.3 翻译水平调控

翻译是将mRNA信息转化为蛋白质的关键环节,同义突变通过影响密码子使用偏好、mRNA与tRNA配对和核糖体与mRNA结合效率等机制,显著调控mRNA的翻译效率,对翻译调控产生重要影响。

1.3.1 影响密码子使用偏好 不同的生物体对密码子的使用存在显著偏好,这种偏好会影响翻译的效率——最优密码子能够加速翻译过程,而非最优的密码子则会减缓翻译进程,甚至导致核糖体停滞或提前翻译终止^[38]。YANG等^[39]与YU等^[5]指出,最优密码子与对应tRNA的匹配度更高,可加速核糖体的延伸进程;而非最优密码子因对应的tRNA丰度较低,易导致核糖体停滞,甚至引发提前翻译终止。这表明密码子使用频率与翻译动态密切相关,同义突变通过影响同义密码最优性来调节翻译速率。此外,XUE等^[40]探讨了同义突变对大型蛋白质合成的影响,发现最优密码子的占比越高,越能够促进大型蛋白质的高效合成,而非最优密码子的积累则可能导致翻译起始效率的降低,具体机制为非最优密码子导致的翻译延伸停滞,会反馈诱导翻译起始因子eIF2 α 的磷酸化,从而抑制翻译起始效率。这一发现揭示了翻译延伸与翻译起始之间的调控关联机制,强调了同义突变在基因表达调控中的复杂性和重要性。WALSH等^[41]通过同义密码子替换,改变了氯霉素乙酰转移酶(chloramphenicol acetyltransferase, CAT)的局部翻译效率,结果发现:与野生型

CAT(WT-CAT)相比, 突变型CAT(WT-CAT)更容易被细胞蛋白酶ClpXP识别并降解。这些研究表明, 同义突变通过影响密码子的最优性, 不仅调控了mRNA的翻译效率, 还可能间接影响蛋白质的折叠与稳定性。

1.3.2 影响mRNA与tRNA的配对 在翻译延伸过程中, mRNA上的密码子与tRNA上的反密码子精确配对, 才能保证肽链的正确延伸。由于密码子的使用偏好以及tRNA丰度不同, 若同义突变使得常用密码子突变为稀有密码子, 因与之对应的tRNA丰度较低供应不足, 核糖体需在胞质中反复筛选对应的tRNA, 导致延伸速率降低甚至停滞^[42-43]。反之, 若同义突变使得稀有密码子突变为常用密码子, 对应tRNA的丰度较高, 翻译过程通常会更快。KIRCHNER等^[44]研究了*CFTR*基因同义突变(Thr854-ACT>ACG)对蛋白质功能的影响, 发现该同义突变本身不会导致囊性纤维化(CF)表型, 但通过引入稀有密码子, 降低了mRNA与tRNA的配对效率, 改变了局部翻译速度, 进而影响了蛋白质的稳定性和功能^[44]。因此, tRNA的分布和丰度在同义突变的背景下, 可能成为调控翻译效率与蛋白质功能的重要因素。

1.3.3 影响核糖体运动与mRNA的结合效率 核糖体与mRNA的结合是翻译顺利启动及延续的核心环节, 其结合效率受到mRNA稳定性、密码子使用频率和tRNA丰富度等多种因素的影响^[44]。同义突变可以通过改变这些因素, 影响核糖体与mRNA的结合, 进而调控翻译过程。当同义突变引入大量稀有密码子时, 会导致核糖体停滞, 还会引发提前翻译终止。核糖体结合位点(ribosome binding site, RBS)区域的mRNA二级结构稳定性是翻译起始的关键决定因素, 可解释50%以上的蛋白质表达差异^[45]。在人类基因中, 5'非编码区域的同义突变可通过重塑内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)的二级结构, 影响翻译起始^[46]。GOODMAN等^[47]研究发现, mRNA 5'端RBS附近密码子的选择偏好性会改变RNA局部二级结构的稳定性, 从而影响核糖体识别mRNA的翻译起始位点。在原核生物中, 类似机制也广泛存在: 通过同义突变优化大肠杆菌中通过绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)mRNA的RBS结构, 可使其表达水平提升250倍, 这种效应与核糖体结合效率的提高直接相关^[45]; 相反,

将大肠杆菌*rbsK*基因的Arg309-CGU密码子(常用密码子)替换为同义密码子AGG(稀有密码子), 会显著降低RBS与核糖体的结合活性, 导致RbsK蛋白表达量下降^[48]。这些研究均证实, 同义突变可通过改变RBS或IRES的序列和结构稳定性, 影响核糖体与mRNA的结合效率, 进而调控翻译过程。

1.3.4 翻译动力学对蛋白质折叠与构象的扰动 翻译速率是调控蛋白质正确折叠的关键“时间维度”。同义突变通过改变密码子最优性打破核糖体运动的正常节奏, 从而扰乱新生肽链的共翻译折叠路径。在囊性纤维化中, *CFTR*基因的同义突变Ile507-ATC>ATT降低了翻译延伸速率, 使蛋白质在合成过程中错误折叠并被内质网质量控制系统降解^[20]。此外, *DRD2*基因的c.957C>T突变缩短了转录本半衰期, 并可能通过类似机制降低蛋白质表达量^[49]。尽管同义突变不改变蛋白质的氨基酸序列, 但其引起的局部翻译速率变化仍可影响蛋白质的共翻译折叠过程, 进而导致蛋白质形成不同的空间构象。耐药基因*MDR1*的同义突变c.3435C>T改变了P-糖蛋白(P-gp)的折叠方式, 使其产生的构象异构体对底物的亲和力发生改变, 进而增强了肿瘤细胞的耐药性^[50]。

2 同义突变的研究技术的发展

解析同义突变的致病机制依赖于研究方法的发展。如图2所示, 近二十年来技术进步逐步揭示了同义突变的非中性效应。在早期(2000—2008年), 通过密码子偏好性分析和剪接位点预测工具, 初步发现同义突变对翻译效率及mRNA稳定性的影响; 在中期(2009—2018年), 高通量技术[如全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)、全外显子组测序(whole-exome sequencing, WES)、RNA测序(RNA sequencing, RNA-seq)]和基因编辑(CRISPR-Cas9)实现了剪接异构体检测、翻译动力学量化及体内功能验证; 在近期(2019至今), 表观转录组学、长读长测序及AI模型(如AlphaFold)进一步揭示了RNA修饰、蛋白质折叠扰动等隐蔽机制。这些方法为所述机制提供了实验基础, 并推动了同义突变从“中性假说”向“多维致病因子”的认知转变。

3 同义突变与疾病

目前, 同义突变与疾病的关联日益受到关注, 其在癌症、遗传病、免疫性疾病中的作用逐渐被揭

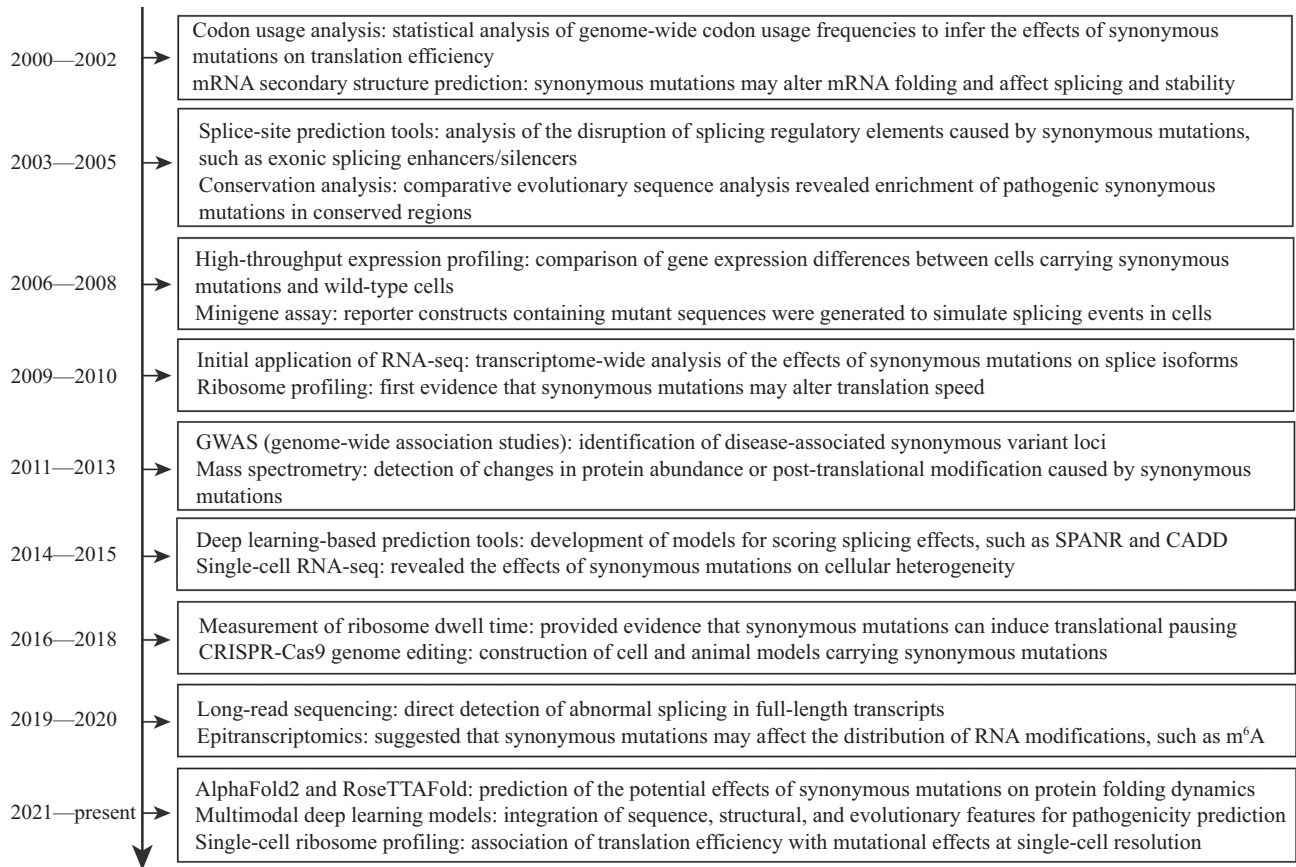


图2 同义突变研究的关键技术发展时间轴

Fig.2 Timeline of key technological developments in synonymous mutation research

示。尽管同义突变不改变蛋白质的氨基酸序列,但它们通过影响基因表达调控、剪接、翻译效率及蛋白质折叠等过程,可能导致疾病的发生与发展(表1)。通过探讨同义突变在癌症、遗传病、免疫性疾病及其他疾病中的致病作用,可进一步阐明同义突变在疾病发生中的复杂机制。同义突变相关的人类疾病、涉及基因及主要影响类型见表1。

3.1 同义突变与癌症

癌症作为基因突变积累驱动的疾病,传统观点认为其发生发展主要与错义突变、移码突变等直接改变蛋白质功能的变异相关。但近年研究表明,同义突变也可通过影响基因表达调控的关键环节,如异常剪接和翻译效率失衡等,参与并促进癌症进展。总体而言,同义突变在癌症中的致病模式主要表现为对关键基因表达平衡的打破:一是通过优化剪接增强子活性或提升翻译效率,产生“获得性功能(gain-of-function)”效应,从而增强癌基因的致癌潜能;二是通过诱导异常剪接产生提前终止密码子(premature termination codon, PTC),触发无义

介导的mRNA降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)或生成截短蛋白,产生“丧失性功能(loss-of-function)”效应,从而破坏抑癌基因的监控功能,最终推动肿瘤的发生与进展。

3.1.1 增强癌基因功能 部分同义突变可通过改变剪接调控元件,提高癌基因的pre-mRNA剪接效率,增加成熟mRNA的产量,进而提高癌蛋白的表达水平,推动肿瘤发生。在甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma, MTC)研究中,PECCE等^[33]发现患者的致癌突变RET p.Cys634Arg伴有同义突变(Cys630-TGC>TGT),minigene检测揭示仅同义突变的存在可使RET转录本的数量高于野生型3倍,当同义突变与Cys634Arg突变共存时,二者协同作用使RET转录本相较野生型增加了约9倍。进一步的生物信息学分析和RNA免疫沉淀实验表明,Cys630-TGC>TGT同义突变会产生新的增强子基序,增加剪接因子、富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子6(serine/arginine-rich splicing factor 6, SRSF6)(也称为SRp55)向突变等位基因的募集,从而提高前体mRNA加工效率,促进成熟

表1 与同义突变相关的人类疾病列表

Table 1 List of human diseases associated with synonymous mutations

基因 Gene	外显子 Exon	碱基突变 Nucleotide change	氨基酸 Amino acid	剪接影响 Splicing effect						疾病 Disease	参考 文献 References
				外显子 跳跃 Exon skip- ping	外显子部 分缺失 Partial exon deletion	内含子 保留 Intron reten- tion	新剪接 位点 Novel splice site	生成新 ESE/ESS Creation of ESE/ ESS	破坏 ESE/ESS Disrup- tion of ESE/ESS		
<i>VWF</i>	Exon 41	c.7056C>T	---	-	+	-	+	-	-	Von Willebrand disease	[24]
<i>APC</i>	Exon 12	c.1458C>T	Tyr486=	+	-	-	-	-	-	Familial adenomatous polyposis	[26]
<i>MLH1</i>	Exon 6	c.543C>T	Gly181=	-	+	-	+	-	-	Lynch syndrome	[27]
<i>IRF6</i>	Exon 7	c.912C>T	Ser307=	+	-	-	-	-	+	Non-syndromic cleft lip and palate	[30]
<i>MCAD</i>	Exon 5	c.351A>C	Thr92=	-	-	-	-	-	+	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency	[32]
<i>RET</i>	Exon 11	c.1890C>T	Cys630=	-	-	-	-	+	-	Medullary thyroid carcinoma	[33]
<i>BRC A2</i>	Exon 5	c.744G>A	Lys172=	+	-	-	-	-	-	Breast and ovarian cancer	[37]
<i>BAP1</i>	Exon 11	c.936T>G	Gly312=	+	-	-	-	-	-	Clear-cell renal cell carcinoma	[28]
<i>ATP7B</i>	Exon 8	c.2292C>T	Phe764=	+	-	-	-	-	-	Wilson disease	[29]
<i>MYO15A</i>	Exon 61	c.9861C>T	Gly3287=	+	-	-	-	-	-	Non-syndromic hearing loss	[10,53]
<i>KMT2E</i>	Exon 4	c.186G>A	Ala62=	+	-	-	-	-	-	O'Donnell-Luria-Rodan syndrome	[55]
<i>IL7R</i>	Exon 3	c.333T>A	Val111=	-	+	-	+	-	-	Severe combined immunodeficiency	[56]
<i>IL7R</i>	Exon 6	c.735C>T	Ile245=	+	-	-	-	+	+	Severe combined immunodeficiency	[34]
<i>PI4KA</i>	Exon 30	c.3453C>T	Gly1151=	-	+	-	+	-	-	Gastrointestinal defects and immunodeficiency syndrome 2	[57]
<i>IL10RA</i>	Exon 4	c.537G>A	Thr179=	+	-	-	-	-	-	Inflammatory bowel disease	[58]
<i>NF1</i>	Exon 45	c.6795C>T	Asn2265=	+	-	-	-	-	-	Neurofibromatosis type I	[59]
<i>FBN1</i>	Exon 39	c.4773A>G	Gly1591=	+	-	-	-	-	-	Marfan syndrome	[60]
<i>POMGNT1</i>	Exon 7	c.636C>T	Phe212=	+	-	-	-	-	-	Congenital muscular dystrophies	[61]
<i>CHRNE</i>	Exon 8	c.855C>T	Gly285=	-	+	-	+	-	-	Congenital myasthenic syndrome	[62]
<i>PAH</i>	Exon 11	c.1197A>T	Val399=	+	-	-	-	-	-	Phenylketonuria	[63]
<i>HSD17B10</i>	Exon 5	c.605 C>A	Arg192=	+	-	-	-	-	-	X-linked mental retardation	[64]
<i>PKD1</i>	Exon 3	c.327A>T	Gly109=	-	+	-	+	-	-	Polycystic kidney disease	[65]
<i>PKD1</i>	Exon 39	c.11257C>A	Arg3753=	-	+	-	+	-	-	Polycystic kidney disease	[65]
<i>CD40</i>	Exon 5	c.327G>T	Thr136=	+	-	-	-	-	-	Hyper IgM syndrome	[66]
<i>CFTR</i>	Exon 15	c.2811G>T	Gly893=	-	+	-	+	-	-	Cystic fibrosis	[25]
<i>CFTR</i>	Exon 11	c.1584G>A	Glu528=	+	-	+	-	-	-	Cystic fibrosis	[67]
<i>F8</i>	Exon 2	c.222G>T	Thr74=	+	-	-	-	-	-	Hemophilia A	[68]
<i>F7</i>	Exon 3	c.291G>A	---	+	-	-	-	-	-	Factor VII deficiency	[69]
<i>VHL</i>	Exon 1	c.222C>A	Val74=	-	+	-	-	-	-	Von Hippel-Lindau disease	[70]
<i>TNRC6B</i>	Exon 7	c.3141G>A	Lys1047=	+	-	-	-	-	-	Global developmental delay with speech and behavioral abnormalities	[71]
<i>PEX26</i>	Exon 2	c.228C>T	Gly76=	+	-	-	-	-	-	Peroxisome biogenesis disorders	[72]
<i>Btk</i>	Exon 3	c.240G>A	---	-	-	+	-	-	-	X-linked agammaglobulinemia	[73]

“+”表示该突变导致该剪接影响;“-”表示该突变未发现该剪接影响。“-”表示原始参考文献未报告该变异对应的具体氨基酸位点,因此以“-”表示未注明。“=”表示该变异未引起蛋白质氨基酸改变,为同义变异的标准 HGVS 表达方式。

“+” indicates that the mutation causes the corresponding splicing effect;“-” indicates that no such splicing effect has been reported.“-” indicates that the original reference did not report the specific amino-acid position or protein-level annotation of this variant, therefore,“-” denotes not reported.“=” indicates that the variant does not result in any change in the encoded amino acid and is the standard HGVS notation for a synonymous variant.

mRNA的生成,最终增强*RET*癌基因的功能。

3.1.2 破坏抑癌基因功能 在抑癌基因中,同义突变常通过诱导异常剪接,导致mRNA阅读框架改变或提前终止密码子出现,进而触发无义介导的mRNA降解(NMD)或生成截短蛋白,最终导致基因功能丧失。在乳腺癌和卵巢癌相关基因*BRCA2*中,HANSEN等^[37]发现位于外显子6的最后一个碱基处的同义突变(c.744 G>A, Lys172)会导致外显子6的跳跃,甚至外显子5和6的同时跳跃。这种异常的剪接引发移码并产生提前终止密码子,可能触发无义介导的mRNA降解(NMD),最终损害*BRCA2*的正常功能,增加乳腺癌与卵巢癌的发病风险。在肾透明细胞癌抑癌基因*BAP1*的研究中,NIERSCH等^[28]鉴定出外显子11受体剪接位点附近的一个同义突变(Gly312-GGT>GGG),该突变导致外显子11的跳跃,产生移码和提前终止密码子,造成*BAP1*蛋白丢失,使得患者预测生存率降低至原来的约1/4。错配修复基因*MLH1*,参与DNA复制过程中的错配识别与修复,其功能缺陷与多种遗传性肿瘤综合征密切相关,尤其是林奇综合征(Lynch syndrome)。YAMA-GUCHI等^[27]研究发现,位于外显子6末端上游3个碱基处的同义突变(c.543C>T, p.G181G)创建新的剪接供体位点,导致外显子6末端4个碱基的缺失,该异常剪接事件引发移码突变,并在下游20个氨基酸处产生提前终止密码子,同样可能触发NMD,从而完全破坏*MLH1*蛋白功能,增加乳腺癌与卵巢癌的发病风险。

同义突变在癌症发生中既可通过优化剪接效率增强癌基因表达,也可通过诱导异常剪接、导致移码突变、产生提前终止密码子并触发NMD途径,最终破坏抑癌基因或关键DNA修复基因的正常功能,驱动遗传性肿瘤综合征或癌症的进展。

3.2 同义突变与单基因遗传病

长期以来,同义突变在单基因遗传病中的致病性被严重低估,因其不改变氨基酸的特性,常被归类为良性或临床意义未明变异(variant of uncertain significance, VUS)。然而,随着高通量测序技术和功能基因组学的发展,研究者逐渐发现同义突变可通过多种机制(如剪接异常、mRNA稳定性失调及翻译动力学改变)显著破坏基因功能,成为隐性或显性遗传病的重要诱因。值得注意的是,致病性的同义突变往往位于非经典剪接位点或调控元件中,其致

病性难以通过传统序列分析工具预测。近年来,大量原本归类为“临床意义不明”的同义变异经功能验证被证实具有明确致病性,凸显了其在遗传病诊断中的潜在盲区。

同义突变主要通过干扰前体mRNA剪接调控导致外显子跳跃或部分缺失,产生截短或无功能的蛋白质,最终引发疾病表型。Treacher Collins综合征(Treacher Collins syndrome, TCS)是由*TCOF1*基因突变引发的常染色体显性遗传病,以颅面发育异常为特征。MACAYA等^[51]报道一例TCS患者,*TCOF1*基因存在错义突变(c.122C>T, p.Ala41Val)及位于外显子22末端的同义突变(c.3612A>C, Ser1204)。对患者RNA的分析表明,该突变导致外显子22异常跳跃及外显子23移码,通过诱导剪接异常造成*TCOF1*基因的单倍剂量不足,最终引发典型TCS表型。马凡综合征是由原纤维蛋白1(fibrillin-1, *FBNI*)基因突变引起的一种常染色体显性遗传性结缔组织病,WU等^[52]研究了*FBNI*基因外显子39中的同义突变(c.4773A>G),minigene剪接实验表明,该突变通过生成剪接调控元件(splicing regulatory elements, SREs),改变了SREs与剪接因子的结合模式,打破了原始剪接调控网络平衡,从而抑制了正常剪接,导致了外显子跳跃产生截短*FBNI*蛋白。Western blot结果证实患者*FBNI*蛋白表达水平显著低于正常对照组,表明该同义突变通过单倍剂量不足机制致病,最终引发马凡综合征的典型表型。遗传性非综合征型耳聋(hereditary nonsyndromic hearing loss, HNSHL)是常染色体隐性遗传性听力损失的主要类型,*MYO15A*基因是其重要致病基因之一。HIRSCH等^[10]在犹太人群中,以及WANG等^[53]在中国广西壮族人群的耳聋家系中,均发现并富集了*MYO15A*基因的同义突变(c.9861C>T, p.Gly3287)。功能实验一致证明,该突变通过破坏外显子61中的剪接调控元件,导致外显子61跳跃,引发蛋白移码及截短蛋白,导致进行性听力损失,为跨种族的NSHL分子诊断提供了有力证据。

同义突变还可通过改变剪接增强子/沉默子基序、破坏剪接因子结合位点或激活隐蔽剪接位点,诱导外显子跳跃或异常剪接。Wilson病(Wilson disease, WD)是由*ATP7B*基因变异引起常染色体隐性遗传的铜代谢障碍性疾病,主要表现为肝脏损伤和神经系统症状。PANZER等^[29]针对*ATP7B*基因同义突变

(c.2292C>T, p.Phe764)的研究发现, 该突变产生新的增强子基序, 显著增强外显子8的跳跃概率; 外显子8的缺失导致产生的ATP7B蛋白缺乏负责铜离子转运的关键跨膜结构域, 引发WD典型病理表型。NS-CL/P是常见的先天性畸形, *IRF6*基因是其关键致病基因之一。SYLVESTER等^[30]在NS-CL/P患者中发现位于*IRF6*基因外显子7的同义突变(c.921C>T, p.Ser307), *minigene*基因实验证实, 该突变破坏了外显子剪接沉默子, 并激活了分别位于外显子7和内含子6中的两个隐蔽剪接位点, 导致了约60%的转录本发生异常剪接(移码及提前终止), 引发了IRF6蛋白功能丧失, 最终表现为唇腭裂畸形。ODLURO(O'Donnell-Luria-Rodan)综合征是一种由*KMT2E*基因突变引起的常染色体显性遗传疾病, 临床特征包括全面发育迟缓、自闭症、癫痫、肌张力减退、大头畸形及非常轻微的畸形面部特征等^[54]。BENVENUTO等^[55]在一例ODLURO患儿中发现*KMT2E*基因的同义突变(c.186G>A, p.Ala62), 该突变导致外显子4跳跃, 产生截短mRNA, 突变可能干扰剪接因子ZRANB2(一种富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子, 通常识别特定的RNA序列, 如AGGUAA)的结合, 破坏其对正常剪接的调控, 最终导致*KMT2E*蛋白功能缺失, 引发神经发育障碍。

综上, 大量单基因病案例证实, 同义突变可通过多种隐蔽机制导致关键外显子跳跃、产生截短或无功能蛋白(常通过单倍剂量不足或功能丧失机制), 最终引发广泛的遗传性疾病表型。这凸显了在遗传诊断中, 尤其在传统分析未能发现明确致病突变时, 深入通过功能验证实验评估同义突变潜在致病性的必要性。

3.3 同义突变与免疫缺陷疾病

免疫系统的正常功能高度依赖基因表达的精准调控, 这一过程涉及复杂的信号通路、受体组装及效应分子合成等过程, 任何调控层面的细微扰动均可能引发免疫缺陷或自身免疫性疾病。传统上, 免疫相关遗传病的致病突变多集中于编码区错义或无义变异, 而同义突变因“不改变氨基酸”的特性常被排除在致病性评估之外。然而, 近年研究揭示, 免疫相关基因的同义突变可通过干扰剪接平衡、重塑mRNA翻译动力学或破坏翻译修饰等机制, 导致免疫细胞发育异常或功能失调。值得注意的是, 免疫相关基因常具有组织特异性表达模式或动态调控需

求, 使得同义突变对mRNA稳定性或翻译效率的影响更易被放大, 进而表现为严重的临床表型。剖析免疫缺陷疾病中同义突变的分子机制, 揭示其如何通过隐蔽的调控路径破坏免疫稳态, 可为完善遗传诊断及开发基于RNA剪接校正的靶向治疗提供新思路。

严重联合免疫缺陷(severe combined immunodeficiency, SCID)是一种罕见的先天性免疫系统疾病, 以T细胞、B细胞和NK细胞的严重缺陷为特征。GALLEGO-BUSTOS等^[56]在IL7受体缺陷型SCID研究中, 鉴定出*IL7R*基因外显子3中的同义突变(c.333T>A, p.Val111), 该突变在外显子3内形成一个活跃的隐匿剪接位点, 导致49核苷酸缺失, 这种缺失导致了移码并提前引入了终止密码子, 最终产生了截短的功能缺失型受体蛋白。MACKEH等^[34]随后在另一例SCID患者中发现位于*IL7R*基因外显子6的另一同义突变(c.735C>T p.Ile245)通过破坏外显子剪接增强子, 导致外显子6的跳跃, 这种异常剪接破坏前体RNA的正常加工, 造成功能性膜结合形式IL-7R α (mIL-7R α)的表达水平显著降低, 而可溶性IL-7R α (sIL-7R α)的表达水平增加, IL-7信号通路受阻, T细胞发育障碍, 最终引发SCID。

*PI4KA*基因编码的磷脂酰肌醇-4-激酶 α (phosphatidylinositol 4-kinase alpha, PI4KA)是催化磷脂酰肌醇-4-磷酸(PI-4-P)合成的关键酶, PI-4-P可作为特异性膜标志物, 在细胞信号转导、囊泡运输及免疫细胞活化中发挥重要作用。*PI4KA*突变可导致胃肠道缺陷和免疫缺陷综合征2(gastrointestinal defects and immunodeficiency syndrome 2, GIDID2)。ZHANG等^[57]在一名GIDID2患者中发现, 位于*PI4KA*基因外显子30的5'端剪接位点附近存在同义突变(c.3453C>T, p.Gly1151), 该突变在内含子30中产生新的受体剪接位点(GT), 导致*PI4KA* cDNA中缺失五个碱基(GTGAG), 进而产生移码并引入提前终止密码子, 且突变型的cDNA的表达量仅为正常水平的1/4, 最终产生截短的非功能性PI4KA蛋白。这导致了关键PI-4-P合成显著减少, 破坏了依赖PI-4-P的信号转导和免疫稳态, 引发了GIDID2。

IL-10信号通路通过调控STAT3磷酸化, 在肠道黏膜稳态中发挥关键抗炎作用。IL-10与受体(IL-10R)结合后, 激活STAT3信号, 抑制促炎细胞因子的产生, 维持肠道免疫平衡。*IL10RA*基因(编码IL-

10R α 链)的功能性突变与婴儿期极早发性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)密切相关,患者表现为严重的腹泻、腹痛及肠道炎症。OH等^[58]在3例难治性IBD患儿中,发现位于*IL10RA*基因外显子4末端的同义突变(c.537G>A, p.Thr179),该突变紧邻外显子4的5'剪接供体位点(GT),导致外显子4被异常跳过,产生移码突变和提前终止密码子,最终产生截短的IL-10受体蛋白。该截短蛋白缺失跨膜结构域及胞内信号转导区域,完全丧失介导IL-10下游STAT3磷酸化的功能。功能实验进一步证实,患者外周血单核细胞经IL-10刺激后,未检测到STAT3 Tyr705位点磷酸化,而IL-6信号通路正常,明确揭示了IL-10信号特异性缺陷的分子机制。这一发现阐明*IL10RA*同义突变通过干扰RNA剪接导致受体功能失活,进而引发极早发性IBD的致病过程,为疾病的遗传诊断提供了新靶点。

4 讨论

本综述系统梳理了同义突变由“沉默突变”到“多维致病因子”的研究进展,归纳了其在转录、剪接、翻译直至蛋白质折叠四个层面的致病机制,并以癌症、遗传病和免疫缺陷为例展示了同义突变在多种疾病中的分子病理学意义。综合既往文献与新近的大规模功能筛选发现,同义突变更应被视为潜在的功能等位基因,而非筛选流程中的“背景噪音”。

从机制维度,同义突变通过重塑DNA-RNA-蛋白质信息流的每一个关节点而产生级联效应:其一,改变顺式调控元件或表观遗传标签可调节启动子/增强子活性,从源头影响转录输出;其二,突变扰乱外显子剪接增强子(ESE)或沉默子(ESS)平衡,激活隐性剪接位点,引发外显子跳跃、内含子保留或移码,这一层面对功能影响最为直观;其三,密码子最优性与tRNA丰度失衡导致翻译速率梯度改变,核糖体停滞进而反馈抑制翻译起始;最后,翻译动力学的扰动会改变翻译折叠途径,诱发蛋白质构象变化或降解。

在疾病层面,同义突变的致病贡献呈现“类日-基因-位点”递进特征:在实体瘤中,伴随驱动突变出现的协同同义变异可促进癌基因表达或减弱抑癌基因功能;在单基因遗传病中,位于罕见疾病核心基因上的同义突变往往通过单倍剂量不足或有害剪接产物直接致病;而在免疫缺陷疾病中,受免疫细胞发育窗口及应答时序限制,任何翻译微扰均可能被放大

为严重表型。这些实例强调了在临床变异解读流程中重新评估“同义位点”的必要性。

尽管同义突变的致病潜力已得到认可,但将其应用于临床精准诊疗仍面临诸多挑战。首先,在临床变异解读规范方面,目前未经实验验证的同义突变在ACMG指南的框架下获得的强致病性证据有限,通常可包括:人群频率证据(PM2_Supporting)、SpliceAI功能预测证据(PP3)、反式位点致病性证据(PM3),同义突变多被评价为“良性”或“意义不明(VUS)”。需要大规模的验证,并建立同义突变的致病性数据库,为临床诊断提供依据。同时,建立针对同义变异的专项解读流程,可进一步降低遗传诊断中的漏诊率。在治疗策略的临床转化方面,针对同义突变引起的异常剪接,基于RNA水平的精准干预展现出较大前景。例如,反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide)已在多种遗传病模型中成功用于封闭隐蔽剪接位点或纠正外显子跳跃;此外,针对特定同义突变所致基因功能缺陷的小分子剪接调控剂(small-molecule splicing modifiers)也已进入临床探索阶段。未来的研究重点应转向开发针对中国人群特有同义突变位点的靶向药物,并结合高通量筛选体系验证这些RNA疗法的安全性和有效性。

值得深思的是,目前临床上被证实的同义突变致病案例多集中于干扰剪接(即改变蛋白序列)的变异,而对不改变序列但影响翻译动力学或蛋白折叠的“经典同义突变”关注不足。这主要是由于前者表型往往更剧烈且易于通过minigene实验验证,而后者对机体的影响更为微妙且具有组织特异性。未来,同义突变研究需通过整合核糖体图谱(ribosome profiling)以量化翻译速率、利用结构生物学手段检测蛋白构象变化,揭示那些隐藏在精细表达调控层面的致病变异。这不仅是学术上的挑战,更是精准医学实现从“定性诊断”向“定量机制解析”转化的关键。

然而,现有研究亦存在局限:功能验证模型偏重酵母等体系,与人类组织特异背景仍有差距;多数工作聚焦单点机制,缺乏对跨层级调控网络的系统定量;预测工具对密码子-tRNA-核糖体三者耦合动力学的刻画仍不充分,导致体内外结果常出现偏差;群体遗传学背景、表观调控状态及环境应激等共变量对同义突变效应的调制仍缺乏系统评估。

总之,同义突变不是沉默的旁观者,而是精准

医学时代亟待重估的“暗能量”。澄清其多维致病逻辑、完善解读与干预工具,将为遗传病诊疗、癌症靶向治疗及药物开发提供新的突破口,也将加速基因组学向临床转化的进程。

参考文献 (References)

- [1] OELSCHLAEGER P. Molecular mechanisms and the significance of synonymous mutations [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(1): 132.
- [2] SHEN X K, SONG S L, LI C, et al. Synonymous mutations in representative yeast genes are mostly strongly non-neutral [J]. *Nature*, 2022, 606(7915): 725-31.
- [3] SARKAR A, PANATI K, NARALA V R. Code inside the codon: the role of synonymous mutations in regulating splicing machinery and its impact on disease [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2022, 790: 108444.
- [4] SROMEK M, CZETWERTYŃSKA M, TARASIŃSKA M, et al. Analysis of newly identified and rare synonymous genetic variants in the RET gene in patients with medullary thyroid carcinoma in polish population [J]. *Endocr Pathol*, 2017, 28(3): 198-206.
- [5] YU C H, DANG Y, ZHOU Z, et al. Codon usage influences the local rate of translation elongation to regulate co-translational protein folding [J]. *Mol Cell*, 2015, 59(5): 744-54.
- [6] YADAV M L, JAIN D, NEELABH, et al. A gain-of-function mutation in CITED2 is associated with congenital heart disease [J]. *Mutat Res*, 2021, 822: 111741.
- [7] SHEN X, SONG S, LI C, et al. Further evidence for strong non-neutrality of yeast synonymous mutations [J]. *Mol Biol Evol*, 2024, 41(11): msae224.
- [8] 王春莉, 郑必霞, 周玮, 等. Gitelman综合征SLC12A3基因突变分析及分子机制研究[J]. 罕见病研究(WANG C L, ZHENG B X, ZHOU W, et al. Research analysis of SLC12A3 gene mutation and molecular mechanism in Gitelman syndrome [J]. *Rare Disease Research*), 2024, 3(1): 50-6.
- [9] LAN Y, XIA Z, SHAO Q, et al. Synonymous mutations promote tumorigenesis by disrupting m⁶A-dependent mRNA metabolism [J]. *Cell*, 2025, 188(7): 1828-41, e15.
- [10] HIRSCH Y, TANGSHEWINSIRIKUL C, BOOTH K T, et al. A synonymous variant in MYO15A enriched in the Ashkenazi Jewish population causes autosomal recessive hearing loss due to abnormal splicing [J]. *Eur J Hum Genet*, 2021, 29(6): 988-97.
- [11] HIA F, YANG S F, SHICHINO Y, et al. Codon bias confers stability to human mRNAs [J]. *EMBO Rep*, 2019, 20(11): e48220.
- [12] CHEN S, LI K, CAO W, et al. Codon-resolution analysis reveals a direct and context-dependent impact of individual synonymous mutations on mRNA level [J]. *Mol Biol Evol*, 2017, 34(11): 2944-58.
- [13] BAE H, COLLIER J. Codon optimality-mediated mRNA degradation: linking translational elongation to mRNA stability [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(8): 1467-76.
- [14] PRESNYAK V, ALHUSAINI N, CHEN Y H, et al. Codon optimality is a major determinant of mRNA stability [J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1111-24.
- [15] DENG X, QING Y, HORNE D, et al. The roles and implications of RNA m⁶A modification in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(8): 507-26.
- [16] CHEN R, YANG L, HAN L, et al. Prevalence of synonymous mutations in m⁶A modification sites in human cancers [J]. *Genes Dis*, 2025, 12(1): 101373.
- [17] SHARMA Y, MILADI M, DUKARE S, et al. A pan-cancer analysis of synonymous mutations [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2569.
- [18] NACKLEY A G, SHABALINA S A, TCHIVILEVA I E, et al. Human catechol-O-methyltransferase haplotypes modulate protein expression by altering mRNA secondary structure [J]. *Science*, 2006, 314(5807): 1930-3.
- [19] RAPONI M, BARALLE F E, PAGANI F. Reduced splicing efficiency induced by synonymous substitutions may generate a substrate for natural selection of new splicing isoforms: the case of CFTR exon 12 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 35(2): 606-13.
- [20] BARTOSZEWSKI R A, JABLONSKY M, BARTOSZEWSKA S, et al. A synonymous single nucleotide polymorphism in ΔF508 CFTR alters the secondary structure of the mRNA and the expression of the mutant protein [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(37): 28741-8.
- [21] LONG M, DEUTSCH M. Intron-exon structures of eukaryotic model organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(15): 3219-28.
- [22] ANNA A, MONIKA G. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation [J]. *J Appl Genet*, 2018, 59(3): 253-68.
- [23] WACHTEL C, MANLEY J L. Splicing of mRNA precursors: the role of RNAs and proteins in catalysis [J]. *Mol Biosyst*, 2009, 5(4): 311.
- [24] DAIDONE V, GALLINARO L, GRAZIA CATTINI M, et al. An apparently silent nucleotide substitution (c.7056C>T) in the von Willebrand factor gene is responsible for type 1 von Willebrand disease [J]. *Haematologica*, 2011, 96(6): 881-7.
- [25] FAA'V, COIANA A, INCANI F, et al. A synonymous mutation in the CFTR gene causes aberrant splicing in an Italian patient affected by a mild form of cystic fibrosis [J]. *J Mol Diagn*, 2010, 12(3): 380-3.
- [26] LIU W, DONG J, PENG Y, et al. Synonymous mutation adenomatous polyposis coliΔ486s affects exon splicing and may predispose patients to adenomatous polyposis coli/mutY DNA glycosylase mutation-negative familial adenomatous polyposis [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6):4931-9.
- [27] YAMAGUCHI T, WAKATSUKI T, KIKUCHI M, et al. The silent mutation MLH1 c.543C>T resulting in aberrant splicing can cause Lynch syndrome: a case report [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2017, 47(6): 576-80.
- [28] NIERSCHE J, VEGA-RUBÍN-DE-CELIS S, BAZARNA A, et al. A BAP1 synonymous mutation results in exon skipping, loss of function and worse patient prognosis [J]. *iScience*, 2021, 24(3): 102173.
- [29] PANZER M, VIVEIROS A, SCHAEFER B, et al. Synonymous mutation in adenosine triphosphatase copper-transporting beta causes enhanced exon skipping in Wilson disease [J]. *Hepatol Commun*, 2022, 6(7): 1611-9.
- [30] SYLVESTER B, BRINDOPKE F, SUZUKI A, et al. A synonymous exonic splice silencer variant in IRF6 as a novel and cryptic cause of non-syndromic cleft lip and palate [J]. *Genes*, 2020,

- 11(8): 903.
- [31] DUAN J. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(3): 205-16.
- [32] NIELSEN K B, SØRENSEN S, CARTEGNI L, et al. Seemingly neutral polymorphic variants may confer immunity to splicing-inactivating mutations: a synonymous SNP in exon 5 of MCAD protects from deleterious mutations in a flanking exonic splicing enhancer [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 80(3): 416-32.
- [33] PECCE V, SPONZIELLO M, DAMANTE G, et al. A synonymous RET substitution enhances the oncogenic effect of an in-cis missense mutation by increasing constitutive splicing efficiency [J]. *PLoS Genet*, 2018, 14(10): e1007678.
- [34] MACKEH R, EL BSAT Y, ELM I A, et al. Novel synonymous variant in IL7R causes preferential expression of the soluble isoform [J]. *J Clin Immunol*, 2024, 44(4): 96.
- [35] TAKATA M A, SOLL S J, EMERY A, et al. Global synonymous mutagenesis identifies *cis*-acting RNA elements that regulate HIV-1 splicing and replication [J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(1): e1006824.
- [36] SETON-ROGERS S. Silent mutations make noise [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(5): 257.
- [37] HANSEN T V O, STEFFENSEN A Y, JØNSEN L, et al. The silent mutation nucleotide 744 G → A, Lys172Lys, in exon 6 of BRCA2 results in exon skipping [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 119(3): 547-50.
- [38] WU X, XU M, YANG J R, et al. Genome-wide impact of codon usage bias on translation optimization in *Drosophila melanogaster* [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 8329.
- [39] YANG Q, YU C H, ZHAO F, et al. eRF1 mediates codon usage effects on mRNA translation efficiency through premature termination at rare codons [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(17): 9243-58.
- [40] LYU X, YANG Q, ZHAO F, et al. Codon usage and protein length-dependent feedback from translation elongation regulates translation initiation and elongation speed [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(16): 9404-23.
- [41] WALSH I M, BOWMAN M A, SOTO SANTARRIAGA I F, et al. Synonymous codon substitutions perturb cotranslational protein folding *in vivo* and impair cell fitness [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(7): 3528-34.
- [42] 常美会, 初晓宇, 伍宁丰. 翻译速率对重组蛋白表达影响的研究进展[J]. *中国农业科技导报*(CHANG M H, CHU X Y, WU N F. Progress on the influence of translation rate on the expression of recombinant proteins [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*), 2017, 19(4): 45-50.
- [43] 任桂萍, 董璿莹, 党云琨. 密码子中的密码: 密码子偏好性与基因表达的精细调控[J]. *中国科学: 生命科学*(REN G P, DONG Y Y, DANG Y K. Codon codes: codon usage bias influences many levels of gene expression [J]. *Scientia Sinica, Vitae*), 2019, 49(7): 839-47.
- [44] KIRCHNER S, CAI Z, RAUSCHER R, et al. Alteration of protein function by a silent polymorphism linked to tRNA abundance [J]. *PLoS Biol*, 2017, 15(5): e2000779.
- [45] KUDLA G, MURRAY A W, TOLLERVEY D, et al. Coding-sequence determinants of gene expression in *Escherichia coli* [J]. *Science*, 2009, 324(5924): 255-8.
- [46] DIEDERICH S, BARTSCH L, BERKMANN J C, et al. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(5): 442-57.
- [47] GOODMAN D B, CHURCH G M, KOSURI S. Causes and effects of N-terminal codon bias in bacterial genes [J]. *Science*, 2013, 342(6157): 475-9.
- [48] HAYES C S, BOSE B, SAUER R T. Stop codons preceded by rare arginine codons are efficient determinants of SsrA tagging in *Escherichia coli* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(6): 3440-5.
- [49] GAITHER J B S, LAMMI G E, LI J L, et al. Synonymous variants that disrupt messenger RNA structure are significantly constrained in the human population [J]. *GigaScience*, 2021, 10(4): giab023.
- [50] KIMCHI-SARFATY C, OH J M, KIM I W, et al. A “silent” polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity [J]. *Science*, 2007, 315(5811): 525-8.
- [51] MACAYA D, KATSANIS S H, HEFFERON T W, et al. A synonymous mutation in TCOF1 causes Treacher Collins syndrome due to mis-splicing of a constitutive exon [J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A(8): 1624-7.
- [52] WU F, LI M, ZHOU X, et al. The abnormal splicing regulation network caused by synonymous mutations in FBN1 exon 39 leads to Marfan syndrome [J]. *Genes Dis*, 2025, 12(3): 101371.
- [53] 王思霖, 郭亿莲, 钟鸣骏, 等. 中国人群MYO15A基因同义突变引起剪接异常导致的非综合征型耳聋分析[J]. *中国临床新医学*(WANG S J, GUO Y L, ZHONG M J, et al. Analysis of non-syndromic hearing loss caused by splicing abnormalities due to a synonymous mutation of MYO15A gene in a Chinese population [J]. *Chinese Journal of New Clinical Medicine*), 2023, 16(5): 421-6.
- [54] O'DONNELL-LURIA A H, PAIS L S, FAUNDES V, et al. Heterozygous variants in KMT2E cause a spectrum of neurodevelopmental disorders and epilepsy [J]. *Am J Hum Genet*, 2019, 104(6): 1210-22.
- [55] BENVENUTO M, CESARINI S, SEVERI G, et al. Phenotypic description of a patient with ODLURO syndrome and functional characterization of the pathogenetic role of a synonymous variant c.186G>A in KMT2E gene [J]. *Genes*, 2024, 15(4): 430.
- [56] GALLEGO-BUSTOS F, GOTEVA V, RAMOS-AMADOR J T, et al. A case of IL-7R deficiency caused by a novel synonymous mutation and implications for mutation screening in SCID diagnosis [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 443.
- [57] ZHANG K, KANG L, ZHANG H, et al. A synonymous mutation in PI4KA impacts the transcription and translation process of gene expression [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 987666.
- [58] OH S H, BAEK J, LIANY H, et al. A synonymous variant in IL-10RA affects RNA splicing in paediatric patients with refractory inflammatory bowel disease [J]. *J Crohns Colitis*, 2016, 10(11): 1366-71.
- [59] JIN P, YAN K, YE S, et al. Case report: a synonymous mutation in NF1 located at the non-canonical splicing site leading to exon 45 skipping [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 772958.
- [60] LI M, LU X, DONG J, et al. A synonymous mutation in exon 39 of FBN1 causes exon skipping leading to Marfan syndrome [J]. *Genomics*, 2020, 112(6): 3856-61.

- [61] OLIVEIRA J, SOARES-SILVA I, FOKKEMA I, et al. Novel synonymous substitution in POMGNT1 promotes exon skipping in a patient with congenital muscular dystrophy [J]. *J Hum Genet*, 2008, 53(6): 565-72.
- [62] RICHARD P, GAUDON K, FOURNIER E, et al. A synonymous CHRNE mutation responsible for an aberrant splicing leading to congenital myasthenic syndrome [J]. *Neuromuscul Disord*, 2007, 17(5): 409-14.
- [63] CHAO H K, HSIAO K J, SU T S. A silent mutation induces exon skipping in the phenylalanine hydroxylase gene in phenylketonuria [J]. *Hum Genet*, 2001, 108(1): 14-9.
- [64] YANG S Y, HE X Y, MILLER D. HSD17B10: a gene involved in cognitive function through metabolism of isoleucine and neuroactive steroids [J]. *Mol Genet Metab*, 2007, 92(1/2): 36-42.
- [65] GONZALEZ-PAREDES F J, RAMOS-TRUJILLO E, CLAVERIE-MARTIN F. Defective pre-mRNA splicing in PKD1 due to presumed missense and synonymous mutations causing autosomal dominant polycystic disease [J]. *Gene*, 2014, 546(2): 243-9.
- [66] FERRARI S, GILIANI S, INSALACO A, et al. Mutations of *CD40* gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(22): 12614-9.
- [67] BAMPI G, RAMALHO A, SANTOS L, et al. The effect of synonymous single-nucleotide polymorphisms on an atypical cystic fibrosis clinical presentation [J]. *Life*, 2020, 11(1): 14.
- [68] LETELIER A, LJUNG R, OLSSON A, et al. Silent variant in F8:c.222G>T (p.Thr74Thr) causes a partial exon skipping in a patient with mild hemophilia A [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2022, 10(1): e1856.
- [69] WANG L, ZENG W, QIAN Y, et al. Synonymous variant at the terminal nucleotide in exon 3 of F7 causes abnormal splicing: a case report [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2024, 12(7): e2492.
- [70] PERROTTA S, ROBERTI D, BENCIVENGA D, et al. Effects of germline VHL deficiency on growth, metabolism, and mitochondria [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(9): 835-44.
- [71] ZHOU F, ZHONG H, WU B, et al. Identification of the synonymous variant c.3141G>A in TNRC6B gene that altered RNA splicing by minigene assay [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 899.
- [72] ALAYOUBI A M, IJAZ A, WALI A, et al. Zellweger syndrome; identification of mutations in *PEX19* and *PEX26* gene in Saudi families [J]. *Ann Med*, 2025, 57(1): 2447400.
- [73] SRINIVASAN C, SHAMELI A, RITCHIE B, et al. Investigation of a synonymous mutation in *Btk* in a patient with agammaglobulinemia: a case report [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(10): e1049.