

网络出版时间: 2019-9-19 10:05 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190917.1059.022.html>

IKZF4 和 PMEL 基因 CNV 与白癜风的关联性研究

杨晶晶 唐先发 张安平

摘要 目的 探讨 IKZF4 和 PMEL 基因 CNV 与白癜风发病的关联性。方法 收集 1 101 例患者和 1 101 例健康对照,设计探针 采用 TaqMan Real-time PCR 系统进行基因拷贝数多态性分析,SDS 2.4 软件输出 IKZF4 与 PMEL 基因拷贝数,并运用 SPSS 19.0 进行数据整理和结果的统计分析。结果

① 携带有 IKZF4 基因拷贝数为 2 和 >2 的个体增加白癜风的发病风险($P=0.03$, $OR=1.30$, 95% $CI: 1.07 \sim 1.57$; $P=0.04$, $OR=1.31$, 95% $CI: 1.00 \sim 1.71$)。携带有 IKZF4 基因拷贝数 <2 的个体降低白癜风的发病风险($P=3.90 \times 10^{-6}$, $OR=0.53$, 95% $CI: 0.41 \sim 0.67$)。② 携带有 PMEL 基因拷贝数为 2 的个体增加白癜风的发病风险($P=1.03 \times 10^{-7}$, $OR=3.03$, 95% $CI: 2.05 \sim 4.57$)。携带有 PMEL 基因拷贝数 <2 的个体降低白癜风的发病风险($P=4.69 \times 10^{-8}$, $OR=0.23$, 95% $CI: 0.13 \sim 0.38$)。③ 携带有 IKZF4 和 PMEL 基因拷贝数 >2 的患者明显增加白癜风合并自身免疫性疾病的风险($P=3.49 \times 10^{-4}$, $OR=2.38$, 95% $CI: 1.47 \sim 3.76$; $P=0.006$, $OR=4.06$, 95% $CI: 1.38 \sim 10.77$)。但 IKZF4 和 PMEL 基因拷贝数与白癜风其他的临床亚表型无明显相关性($P>0.05$)。结论 IKZF4 和 PMEL 基因 CNV 与白癜风的易感性相关,且二者的 CNV 可能影响其疾病表型(白癜风伴发其他自身免疫性疾病),但与白癜风的某些亚型(如发病年龄、性别、皮损面积、临床类型、家族史、同形反应等)无明显相关性。

关键词 白癜风; 拷贝数变异; IKZF4 基因; PMEL 基因; 关联性

中图分类号 R 758.41

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)11-1771-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.022

白癜风是一种较常见的复杂性皮肤疾病,表现为皮肤局部或泛发的黑色素脱失斑。据报道,白癜风在全球自然人群的发病率在 0.38% ~ 2.9%,我国人群的发病率约为 0.56%^[1-2]。拷贝数变异

(copy number variation, CNV) 被认为是结构变异的一种形式,涉及由非等位基因同源重组引入的复制、缺失和复杂多位点变异组成的 DNA 大片段(>1 kb)的拷贝数的变化^[3-4]。近年来, CNV 已被视为个体间变异的遗传标记,用于研究人类基因组多样性与疾病的关联性。例如, CNV 与癌症及自身免疫性疾病等的关联性已有愈来愈多的文献^[5-6]报道。关于白癜风的 CNV 研究^[7],已报道 C4A 的 <2 拷贝可能与格雷夫斯氏病(GD)患者合并白癜风相关。课题组利用白癜风全基因组关联研究(GWAS)^[8],鉴别出新的易感位点 12q13.2。该区域包含两个重要候选基因 PMEL 和 IKZF4,但 PMEL 和 IKZF4 基因 CNV 与白癜风的关联性尚无研究报道。本实验在前期工作的基础上,进一步探讨 PMEL 和 IKZF4 基因 CNV 与白癜风之间的关联性,以期揭示白癜风的遗传学分子病因寻找新的突破口。

1 材料与方法

1.1 病例资料 本实验样本主要来自安徽医科大学第一附属医院和合作关系的国内大型三甲医院门诊患者和招募的志愿者,共收集白癜风患者血液样本 1 101 份及健康对照血液样本 1 101 份。病例组中,有 607(55.1%)例男性患者和 494(44.9%)例女性患者;对照组中,有 558 例男性健康对照(50.7%)和 543 例女性健康对照(49.3%)。其中病例组中平均年龄(27.69 ± 14.77)岁,健康个体平均年龄(33.75 ± 15.15)岁。病例组中包含非节段型白癜风患者 1 041 例,节段型白癜风患者 60 例,有伴发免疫相关疾病患者 128 例,未伴发免疫相关疾病患者 973 例。

1.2 实验步骤及方法

1.2.1 血液样本的提取 取出放于冰箱中的血液样本,使用 Flexi Gene DNA 提取试剂盒提取样本 DNA,并在 NanoDrop 2000 分光光度计测 DNA 浓度及吸光度值,并导出 DNA 的原始浓度的 Excel 表。并将提取好的 DNA 收入 96 孔盒内,将 96 孔盒置于 -80 °C 冰箱贮存。

1.2.2 DNA 的标化 取出冰箱储存的 DNA 解冻,

2019-06-18 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81402591)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院皮肤科、安徽医科大学皮肤病研究所, 合肥 230022

作者简介: 杨晶晶 男, 硕士研究生;

张安平 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: zapamu@163.com

稀释至实验浓度 10 ~ 15 ng/ μ l (Taqman real-time PCR 拷贝数变异要求浓度)。将 96 孔盒中 DNA 样本短离心 1 min (按标化板的形式摆放盒子, A1、H12 标化板用为空白对照, 均加 FG3 至体积 20 μ l, 而 A6、H6 分别用作板内对照和板间对照)。使用 NanoDrop 2000 分光光度计精准标化每个样本浓度为 20 ng/ μ l, 体积为 20 μ l (需加入 DNA 体积 = 标化所需浓度 * 标化所需体积 / DNA 原始浓度, 需加入 FG3 体积 = 标化所需体积 - 加入 DNA 体积), 并对每个样本进行编号。标化完成后, 铝箔纸封口, 放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱贮存, 待后续 Taqman 实验使用。

1.2.3 Taqman real-time PCR 系统基因分型 ①引物设计、合成及稀释: 互联网查询 PMEL 及 IKZF4 基因的探针信息, 并购入探针: “IKZF4” 探针: Hs01675754_cn, “PMEL” 探针: Hs01459112_cn。在避光条件下, 稀释各探针引物浓度为 20 $\times$ mix。②PCR 扩增反应: 从冰箱中拿出标化好的样本, 离心备用; 将 PCR 组分(去离子水 5.5 μ l、20 $\times$ 探针 0.5 μ l、20 $\times$ 参比基因 RNaseP 0.5 μ l、5 $\times$ Taqman PCR 基因分型 mix 2.5 μ l、10 ng/ μ l DNA 1 μ l) 溶解, 再置于冰上备用; 加入混匀试剂 320 μ l 于上述配好的试剂中, 摇匀后放在 12 孔的连排管中。再吸取混合试剂 9 μ l 加入 384 孔板中, 孔板中再按标记好的样本加入相应模板 1 μ l, 盖上封板膜, 保证每个孔压牢 (防止 PCR 时加热蒸发)。运用 SDS 2.4 与 Copy-CallerTM Software 联合分析样本的拷贝数, 导出数据, 并筛选出符合标准的样本(本实验 IKZF4 最终纳入统计的样本量为 1 092 例白癜风患者及 1 084 例病例对照患者, PMEL 最终纳入统计的样本量为 1 096 例白癜风患者及 1 082 例病例对照患者)。

1.3 统计学处理 基本资料输入 Excel 表格, 与调查表一一核对。将结果分 >2、=2、<2 三大类分别统计 IKZF4 和 PMEL 的基因拷贝数。使用统计软件包 SPSS 19.0 进行统计分析。通过卡方分析、Fisher

精确检验和双尾 P 值评估进行组间比较。通过 100 000 次蒙特卡罗模拟估算, 置信区间 (CI) 为 99% (模拟结果的置信度为 99%)。根据逻辑回归模型估计优势比 (OR) 和 95% CI, 调整混杂变量。

2 结果

2.1 IKZF4、PMEL CNV 与白癜风的易感性 将 IKZF4、PMEL 基因将拷贝数分为 <2、=2、>2 后, 在对照组及患者组之间进行比较 (表 1)。病例组 IKZF4 基因拷贝数 <2、=2、>2 的比例分别为 11.17%、75.28%、13.55%, 而对照组为 18.17%、71.13%、10.70%, 两者间差异有统计学意义 ($P = 9.56 \times 10^{-6}$), 表明基因拷贝数增加是增加白癜风患病的危险因素。和拷贝数 <2 比较, 拷贝数 =2 患白癜风风险增加 (OR = 1.30, CI: 1.07 ~ 1.57), 拷贝数 >2 个体患白癜风的风险更为显著 (OR = 1.31, CI: 1.00 ~ 1.71)。对于 PMEL 基因, 病例组基因拷贝数 <2、=2、>2 的比例分别为 1.55%、96.72%、1.73%, 而对照组为 6.01%、91.31%、2.68%, 两者之间差异有统计学意义 ($P = 8.24 \times 10^{-8}$), 表明基因拷贝数增加是增加白癜风患病的危险因素。和拷贝数 <2 比较, 拷贝数 =2 患白癜风风险增加 (OR = 3.03, CI: 2.05 ~ 4.57), 拷贝数 >2 个体患白癜风的风险更为显著 (OR = 0.61, CI: 0.331 ~ 1.101)。

2.2 IKZF4 和 PMEL 基因拷贝数与临床亚表型比较 对于 IKZF4 基因拷贝数 <2、=2 和 >2 的白癜风患者进行病例-病例分析 (如比较有免疫性疾病的白癜风患者与无免疫性疾病的白癜风患者之间) 结果显示: 高拷贝数的 IKZF4 (表 2) 与免疫性疾病有关 ($P = 0.01$), IKZF4 拷贝数与其他临床亚表型未见明显相关性。和拷贝数 <2 比较, 拷贝数 =2 患白癜风风险增加 (OR = 0.50, CI: 0.34 ~ 0.76), 拷贝数 >2 个体患白癜风的风险更为显著 (OR = 2.38, CI: 1.47 ~ 3.76)。同样, 对于 PMEL 基

表 1 病例与对照组间 IKZF4/PMEL 多态性的分布

变异数	病例组 [n(%)]	对照组 [n(%)]	P 值	OR(95% CI)	P 值
IKZF4 CNV					
2	822(75.28)	771(71.13)	0.03	1.30(1.07 ~ 1.57)	
<2	122(11.17)	197(18.17)	3.90×10^{-6}	0.53(0.41 ~ 0.67)	9.56×10^{-6}
>2	148(13.55)	116(10.7)	0.04	1.31(1.00 ~ 1.71)	
PMEL CNV					
2	1 060(96.72)	988(91.31)	1.03×10^{-7}	3.03(2.05 ~ 4.57)	
<2	17(1.55)	65(6.01)	4.69×10^{-8}	0.23(0.13 ~ 0.38)	8.24×10^{-8}
>2	19(1.73)	29(2.68)	0.13	0.61(0.33 ~ 1.101)	

表2 亚群中 IKZF4 多态性的分布

变异数	亚表型		P 值	OR(95% CI)	P 值
	例数(%)	例数(%)			
CNV	发病年龄 ≤ 20 岁	发病年龄 > 20 岁			
2	449(74. 96)	373(75. 66)	0. 79	0. 87(0. 59 ~ 1. 29)	0. 88
< 2	66(11. 02)	56(11. 36)	0. 86	1. 23(0. 73 ~ 2. 05)	
> 2	84(14. 02)	64(12. 98)	0. 62	1. 04(0. 62 ~ 1. 72)	
CNV	男	女			
2	454(75. 41)	368(75. 10)	0. 91	0. 98(0. 74 ~ 1. 29)	0. 99
< 2	67(11. 13)	55(11. 23)	0. 96	1. 01(0. 69 ~ 1. 48)	
> 2	81(13. 46)	67(13. 67)	0. 92	1. 03(0. 72 ~ 1. 46)	
CNV	家族史阳性	家族史阴性			
2	87(78. 38)	735(74. 92)	0. 42	1. 21(0. 77 ~ 1. 99)	0. 37
< 2	8(7. 21)	114(11. 62)	0. 16	0. 59(0. 26 ~ 1. 17)	
> 2	16(14. 41)	132(13. 46)	0. 78	1. 08(0. 60 ~ 1. 85)	
CNV	非节段型白癜风	节段型白癜风			
2	772(74. 73)	50(84. 75)	0. 08	1. 94(0. 98 ~ 4. 28)	0. 19
< 2	119(11. 52)	3(5. 08)	0. 20	0. 41(0. 10 ~ 1. 13)	
> 2	142(13. 75)	6(10. 17)	0. 44	0. 68(0. 26 ~ 1. 51)	
CNV	免疫相关疾病	无免疫相关疾病			
2	80(63. 49)	742(76. 81)	0. 001	0. 50(0. 34 ~ 0. 76)	0. 001
< 2	16(12. 70)	106(10. 97)	0. 56	1. 19(0. 65 ~ 2. 07)	
> 2	30(23. 81)	118(12. 22)	$3. 49 \times 10^{-4}$	2. 38(1. 47 ~ 3. 76)	
CNV	有同形反应	无同形反应			
2	88(77. 88)	734(74. 97)	0. 50	1. 19(0. 76 ~ 1. 94)	0. 79
< 2	11(9. 73)	111(11. 34)	0. 61	0. 84(0. 41 ~ 1. 55)	
> 2	14(12. 39)	134(13. 69)	0. 70	0. 87(0. 47 ~ 1. 53)	
CNV	皮损面积 < 2%	皮损面积 ≥ 2%			
2	501(74. 78)	321(76. 07)	0. 63	1. 06(0. 80 ~ 1. 42)	0. 09
< 2	85(12. 69)	37(8. 77)	0. 05	0. 66(0. 43 ~ 0. 99)	
> 2	84(12. 53)	64(15. 16)	0. 22	1. 27(0. 89 ~ 1. 81)	

因(表3)拷贝数 < 2、= 2 和 > 2 的白癜风患者进行病例-病例分析,结果显示:高拷贝数的 PMEL 与免疫性疾病有关($P = 0.024$),PMEL 拷贝数与其他临床亚表型未见明显相关性。与拷贝数 < 2 相比,拷贝数 = 2 患白癜风风险增加($OR = 0.39$, $CI: 0.18 \sim 0.96$),拷贝数 > 2 个体患白癜风的风险更为显著($OR = 4.06$, $CI: 1.38 \sim 10.77$)。

3 讨论

本研究显示 PMEL 高拷贝数与白癜风的发病相关,还与白癜风伴发免疫性疾病相关。PMEL 基因位于 12q13.2 区域,编码一种 100 ku 大小的黑素细胞特异性的 I 型跨膜糖蛋白,主要在皮肤和眼睛的色素细胞中表达。有研究^[9]表明其编码的黑素细胞 I 型跨膜糖蛋白可能有望作为抗体药物靶标治疗黑色素瘤。PMEL 编码的蛋白质富含黑素体,黑素体是黑素细胞中产生黑素的细胞器,在前黑素体的结构组织中起着重要作用^[10]。PMEL 的跨膜形式在分泌途径中通过精心构建 N-连接的低聚糖和添

加、修饰 O-连接的低聚糖来完成。然后将其定位于色素细胞器(黑素体)的前体,在那里它被蛋白水解加工成几个小片段。其中一些碎片形成非病理性淀粉样蛋白,聚集成薄片,形成黑素体超微结构下的条纹状图案。PMEL 的分解是由几种蛋白酶介导的,包括一个弗林家族的前蛋白转化酶,可能包括去整合素和金属蛋白酶(ADAM)家族成员的“脱落酶”,以及黑素体或其前体中的其他蛋白酶。淀粉样变区被切割后,剩余的小的完整膜碎片被 γ -分泌酶消化。PMEL 基因的表达受小眼畸形相关转录因子(MITF)的调节。该蛋白质参与产生内部基质纤维,其定义从 I 期到 II 期黑素体的转变。这种蛋白质经历了前体翻译加工和修饰的复杂模式,这对蛋白质的正常功能至关重要。通过蛋白水解胞外域脱落释放的该蛋白质的分泌形式可以用作黑色素瘤特异性血清标志物。皮肤活检转录组分析发现,PMEL 在白癜风病变皮肤中的表达比在白癜风周围正常皮肤中的表达有所增加^[8]。考虑 PMEL 基因可能与黑素细胞的功能有关,该基因与白癜风的发病机制有密

表3 亚群中 PMEL 多态性的分布

变异数	亚表型		P 值	OR(95% CI)	P 值
	例数(%)	例数(%)			
CNV	发病年龄 ≤20 岁	发病年龄 >20 岁			
2	579(96. 50)	481(96. 98)	0. 660	1. 15(0. 46 ~ 2. 96)	0. 910
<2	10(1. 67)	7(1. 41)	0. 730	0. 79(0. 22 ~ 2. 81)	
>2	11(1. 83)	8(1. 61)	0. 780	0. 97(0. 25 ~ 3. 37)	
CNV	男	女			
2	578(95. 85)	482(97. 77)	0. 080	0. 54(0. 25 ~ 1. 08)	0. 210
<2	12(1. 99)	5(1. 01)	0. 190	1. 93(0. 71 ~ 6. 10)	
>2	13(2. 16)	6(1. 22)	0. 240	1. 77(0. 69 ~ 5. 07)	
CNV	家族史阳性	家族史阴性			
2	108(96. 43)	952(96. 75)	0. 780	0. 92(0. 36 ~ 3. 15)	0. 980
<2	2(1. 79)	15(1. 52)	0. 690	1. 15(0. 18 ~ 4. 16)	
>2	2(1. 78)	17(1. 73)	1. 000	1. 02(0. 16 ~ 3. 61)	
CNV	非节段型白癜风	节段型白癜风			
2	1004(96. 91)	56(93. 34)	0. 130	0. 49(0. 18 ~ 1. 72)	0. 320
<2	15(1. 45)	2(3. 33)	0. 240	2. 09(0. 32 ~ 7. 86)	
>2	17(1. 64)	2(3. 33)	0. 280	1. 89(0. 29 ~ 6. 98)	
CNV	有免疫相关疾病	无免疫相关疾病			
2	120(93. 75)	940(97. 11)	0. 045	0. 39(0. 18 ~ 0. 96)	0. 024
<2	2(1. 56)	15(1. 55)	1. 000	1. 15(0. 18 ~ 4. 20)	
>2	6(4. 69)	13(1. 34)	0. 006	4. 06(1. 38 ~ 10. 77)	
CNV	有同形反应	无同形反应			
2	111(98. 23)	949(96. 54)	0. 580	2. 02(0. 60 ~ 12. 60)	0. 320
<2	2(1. 77)	15(1. 53)	0. 690	1. 14(0. 18 ~ 4. 13)	
>2	0(0. 00)	19(1. 93)	0. 250	—	
CNV	皮损面积 <2%	皮损面积 ≥2%			
2	648(96. 43)	412(97. 17)	0. 500	1. 26(0. 63 ~ 2. 64)	0. 780
<2	11(1. 64)	6(1. 42)	0. 770	0. 88(0. 30 ~ 2. 34)	
>2	13(1. 93)	6(1. 41)	0. 520	0. 73(0. 25 ~ 1. 86)	

切关系。综上,考虑 PMEL 高拷贝数可能影响了 PMEL 编码合成黑素细胞特异性的 I 型跨膜糖蛋白,从而导致黑素体数量减少,影响了黑素的生成,导致白癜风的发病。此外,对 HLA-A2 阳性白癜风患者来说,血液中抗原特异性 CD8⁺T 细胞活性受到 PMEL 基因的表达式的影响^[11]。考虑 PMEL 基因高拷贝数影响了 PMEL 基因的表达式,从而导致 CD8⁺T 细胞活性受限,最终致使免疫性疾病的产生。

IKZF4 基因是 Ikaros(ZNFN1A1; MIM 603023) 转录因子家族的成员,其主要功能有: 结合 5'-GG-GAATRCC-3' Ikaros-binding 结合序列的 DNA 结合蛋白; 转录抑制因子; 与 SPI1 和 MITF 相互作用,通过招募共压因子 SIN3A 和 CTBP2 来抑制 CTSK 和 ACP5 启动子的转录; 在中枢以及周围神经系统的发育中发挥作用; 严重影响调节性 T 细胞(Treg) 的抑制功能; 介导调节性 T 细胞(Treg) 中 Foxp3 介导的基因沉默,通过招募共压因子 CTBP1(通过相似性)。Jin et al^[12-13] 通过欧美人群 GWAS 发现了 IKZF4 可能为白癜风重要候补基因, Tang et al^[8] 研

究也表明在中国汉族人群的 12q13.2 区域发现 rs10876864 与白癜风发病显著相关(此区域有两个重要候选基因 PMEL 及 IKZF4)。Lin et al^[14] 等研究发现,活动性白癜风患者的 Tregs 功能活性受损。这表明调节性 T 细胞与白癜风有一定的相关性, IKZF4 CNV 可能影响了调节 T 细胞的抑制功能,最终导致了白癜风的发生。CD4⁺ 调节性 T 细胞(Tregs) 通过抑制异常或过度的免疫反应维持免疫自我耐受和免疫内稳态^[15]。IKZF4 CNV 影响了调节 T 细胞的抑制功能,导致免疫内稳态遭到破坏,最终致使免疫性疾病的产生。

综上,本研究提示, IKZF4、PMEL 的 CNV 可能与白癜风的易感性相关,且 IKZF4、PMEL 的 CNV 可能影响白癜风的临床表型(伴发免疫性疾病有关), 与白癜风的发病年龄、性别、皮损面积、临床类型、家族史、同形反应无明显相关性。

参考文献

- [1] Birlea S A, Fain P R, Spritz R A. A romanian population isolate

- with high frequency of vitiligo and associated autoimmune diseases [J]. *Arch Dermatol* ,2008 ,144(3) : 310 – 6.
- [2] Wang X , Du J , Wang T , et al. Prevalence and clinical profile of vitiligo in China: a community-based study in six cities [J]. *Acta dermato-venereologica* ,2013 ,93(1) : 62 – 5.
- [3] Feuk L , Carson A R , Scherer S W , et al. Structural variation in the human genome [J]. *Nat Rev Genet* 2006 ,7: 85 – 97.
- [4] Freeman J L , Perry G H , Feuk L , et al. Copy number variation: new insights in genome diversity [J]. *Genome Res* 2006 ,16(8) : 949 – 61.
- [5] Shlien A , Malkin D. Copy number variations and cancer susceptibility [J]. *Curr Opin Oncol* 2010 ,22(1) : 55 – 63.
- [6] Mantani M , Anaya J M , He W , et al. Association of copy number variation in the FCGR3B gene with risk of autoimmune diseases [J]. *Genes Immun* 2010 ,11(2) : 155 – 60.
- [7] Liu Y H , Wan L , Chang C T , et al. Association between copy number variation of complement component C4 and Graves' disease [J]. *J Biomed Sci* 2011 ,18: 71.
- [8] Tang X F , Zhang Z , Hu D Y , et al. Association analyses identify three susceptibility loci for vitiligo in the Chinese Han population [J]. *J Invest Dermatol* ,2013 ,133(2) : 403 – 10.
- [9] Chen Y , Chalouni C , Tan C , et al. The melanosomal protein PMEL17 as a target for antibody drug conjugate therapy in melanoma [J]. *J Biol Chem* 2012 ,287(29) : 24082 – 91.
- [10] McGlinchey R P , Shewmaker F , McPhie P , et al. The repeat domain of the melanosome fibril protein Pmel17 forms the amyloid core promoting melanin synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ,106(33) : 13731 – 6.
- [11] Mandelcorn-Monson R L , Shear N H , Yau E , et al. Cytotoxic T lymphocyte reactivity to gp100 , MelanA/MART-1 , and tyrosinase , in HLA-A2-positive vitiligo patients [J]. *J Invest Dermatol* ,2003 ,121(3) : 550 – 6.
- [12] Jin Y , Birlea S A , Fain P R , et al. Genome-wide association analyses identify 13 new susceptibility loci for generalized vitiligo [J]. *Nat Genet* 2012 ,44(6) : 676 – 80.
- [13] Jin Y , Andersen G , Yorgov D , et al. Genome-wide association studies of autoimmune vitiligo identify 23 new risk loci and highlight key pathways and regulatory variants [J]. *Nature genetics* ,2016 ,48(11) : 1418 – 24.
- [14] Lin M , Zhang B X , Shen N , et al. Regulatory T cells from active non-segmental vitiligo exhibit lower suppressive ability on CD8⁺ CLA⁺ T cells [J]. *Eur J Dermatol* 2014 ,24(6) : 676 – 82.
- [15] Pan F , Yu H , Dang E V , et al. Eos mediates Foxp3-dependent gene silencing in CD4⁺ regulatory T cells [J]. *Science* ,2009 ,325(5944) : 1142 – 6.

Study on the association of IKZF4 and PMEL copy number variation with vitiligo

Yang Jingjing , Tang Xianfa , Zhang Anping

(Dept of Dermatology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,
Institute of Dermatology , Anhui Medical University , Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the relationship of IKZF4 and PMEL gene CNV with vitiligo. **Methods** 1 101 cases and 1 101 healthy controls were collected , probes were designed , gene copy number polymorphism analysis was performed using TaqMan Real-time PCR system , SDS 2.4 software was used to output IKZF4 and PMEL gene copy number , and SPSS 19.0 was used for data collation and results statistical analysis. **Results** ① Individuals with two or more copies of IKZF4 gene increased the risk of vitiligo ($P=0.03$, $OR=1.30$, $95\% CI: 1.07 \sim 1.57$; $P=0.04$, $OR=1.31$, $95\% CI: 1.00 \sim 1.71$) , and individuals with less than two copies of IKZF4 gene decreased the risk of vitiligo ($P=3.90 \times 10^{-6}$, $OR=0.53$, $95\% CI: 0.41 \sim 0.67$) ; ② Individuals with two copies of PMEL gene increased the risk of vitiligo ($P=3.90 \times 10^{-6}$, $OR=0.53$, $95\% CI: 0.41 \sim 0.67$) . Incidence risk ($P=1.03 \times 10^{-7}$, $OR=3.03$, $95\% CI: 2.05 \sim 4.57$) . Individuals with less than 2 copies of PMEL gene reduced the risk of vitiligo ($P=4.69 \times 10^{-8}$, $OR=0.23$, $95\% CI: 0.13 \sim 0.38$) . ③ Patients with more than 2 copies of IKZF4 and PMEL genes significantly increased the risk of vitiligo associated with autoimmune diseases ($P=3.49 \times 10^{-4}$, $OR=2.38$, $95\% CI: 1.47 \sim 3.76$; $P=0.006$, $OR=4.06$, $95\% CI: 1.38 \sim 10.77$) , and there was no significant correlation between the copies of IKZF4 and PMEL genes and other clinical subtypes of vitiligo ($P>0.05$) . **Conclusion** The CNV of ZKF4 and PMEL genes are associated with susceptibility to vitiligo , and their CNV may affect the disease phenotype (vitiligo accompanied by other autoimmune diseases) , but they have no significant correlation with other phenotypes of vitiligo (such as age of onset , gender , lesion area , clinical type , family history , homomorphic response , etc) .

Key words vitiligo; CNV; IKZF4; PMEL; association