

应用微阵列比较基因组杂交技术探讨颅部神经管畸形与基因组拷贝数变异的相关性

汪 静¹, 郭 柳², 蔡春泉³, 陈晓丽⁴, 谢 华⁴, 赵慧智⁵, 吴佰林⁶, 张 霆⁴, 姜 宏¹

摘要 目的 应用微阵列比较基因组杂交技术(Array-CGH)对颅部神经管畸形及正常流产胚胎进行基因组拷贝数变异(CNVs)筛查,探讨基因组 CNVs 在颅部神经管畸形中的致病作用。方法 在伦理同意基础上,采集 51 例颅部神经管畸形胚胎(病例组)和 75 例正常流产胚胎(对照组),运用高分辨率芯片筛查全基因组 CNVs,针对所发现的基因组 CNVs,利用国际基因组 CNVs 多态性数据库过滤去除良性多态性 CNVs,然后根据其是否包含参考基因将其分别命名为非多态性 CNV、非多态性 genic CNV 及非多态性 ciliogenic CNV,应用 χ^2 检验对以上基因组 CNVs 与颅部神经管畸形的相关性进行分析。结果 病例组和对照组分别检测到 48 和 33 个非多态性 CNVs,其中分别有 37 和 26 个为非多态性 genic CNVs。病例组内含非多态性 CNVs 和非多态性 genic CNVs 的样本比例均显著高于对照组(52.9% vs 32.0%, $P < 0.05$; 49.0% vs 26.6%, $P < 0.05$),其中非多态性 genic CNVs 导致颅部神经管畸形发生风险增加 2.644 倍($OR = 2.644$)。结论 全基因组 CNVs 研究的证据表明,基因 CNVs 是颅部神经管畸形的危险因素。

关键词 微阵列比较基因组杂交; 颅部神经管畸形; 基因组拷贝数变异

中图分类号 R 714.7; R 715.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)05-0686-06

神经管畸形(neural tube defect, NTDs)是一类

常见的严重出生缺陷,由胚胎发育早期神经管闭合失败或闭合不完全引起。NTDs 是造成孕妇流产、死胎、死产和婴幼儿终身残疾的主要原因之一。最新统计,中国 NTDs 的发病率接近 2.74‰,其中在山西省 NTDs 的发病率最高,可达 13.87‰~19.94‰^[1]。NTDs 是一种复杂性疾病,是环境和遗传因素共同作用的结果。研究^[2]显示人类 NTDs 中约 70% 是由遗传因素所致。NTDs 同胞发生 NTDs 的危险性是普通人群的 50 倍^[3]。近年来通过对小鼠及其他 NTDs 动物模型的研究发现了大量 NTDs 相关候选基因,但迄今为止仅证实 MTHFR 基因多态性和平面细胞极性(PCP)核心基因的致病性突变与人类 NTDs 的发生相关^[4]。拷贝数变异(copy number variations, CNVs)是基因组多态性的一种重要形式,在人类表型多样性以及人类对疾病的易感性方面具有重要作用。人类基因组 CNVs 与人类出生缺陷疾病相关,如先天性心脏病^[5]。另一方面,利用传统的染色体核型分析确定 6.5%~9.7% NTDs 胎儿存在染色体异常^[6]。这些表明基因组失衡是 NTDs 的遗传基础之一。过去由于传统的染色体核型分析分辨率低,不能明确哪一个区域与 NTDs 发生相关。该研究应用高分辨的基因组芯片技术(microarray comparative genomic hybridization, Array-CGH)对颅部神经管畸形及正常流产胚胎进行基因组 CNVs 筛查,探讨基因组 CNVs 在颅部神经管畸形中的致病作用。

1 材料与方法

1.1 病例资料 采用病例对照研究,收集 2004 年 3 月~2009 年 4 月在山西省吕梁地区医院因死胎或畸形引产的无脑畸形和脑膨出胚胎为病例组,同时采集因非医学原因流产的正常胚胎为对照组。胎龄、胚胎的总体发育情况及胚胎 B 超检查数据由当地有经验的妇产科医师记录。NTDs 的病理诊断由有经验的病理学专家根据国际疾病分类执行。对照组进行常规的产前检查,问卷调查和尸体解剖,带有其他病理性畸形或宫内生长发育受限的胚胎被排除。本研究通过首都儿科研究所伦理委员会批准,

2013-03-14 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81370708、81401207);天津市应用基础与前沿技术研究计划(编号:14JCYBJC25000);天津市卫生行业重点攻关项目(编号:12KJ116);天津市卫计委科技基金(编号:2015K1212)

作者单位:¹ 安徽医科大学附属解放军临床学院生殖中心,合肥 230031

² 首都儿科研究所附属儿童医院神经科,北京 100020

³ 天津市儿童医院神经外科,天津 300074

⁴ 首都儿科研究所北京市儿童发育和营养组学重点实验室,北京 100020

⁵ 郑州大学生命科学学院,郑州 450001

⁶ 哈佛医学院波士顿儿童医院,麻省,美国 02112

作者简介:汪 静,女,硕士研究生;

姜 宏,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: jiangh105@sina.com

并获得父母知情同意。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 制备 无脑畸形胚胎选择头颅内剩余脑组织或者脊髓组织提取基因组 DNA, 脑膨出胚胎选择脑组织提取基因组 DNA, 采用 DNeasy Blood & Tissue kit 试剂盒(德国 QIAGEN 公司)提取 DNA。取 2.0 μ l 已提取的基因组 DNA, 应用紫外分光光度计 NanoDrop2000(美国 Thermo Fisher 公司)测量 DNA 浓度, 计算基因组 DNA 含量。

1.2.2 Array-CGH 严格按照 Agilent 寡核苷酸 Array-CGH 试剂盒说明书进行操作。取 3~6 μ g DNA 于 50 μ l 体系, 37 $^{\circ}$ C 下 Alu I 和 Rsa I 联合消化 2 h, QIAprep Spin Mini prep Kit 进行 DNA 纯化, 重新测定浓度值后, 取 2 500 ng DNA, 用 Bio Prime labeling kit 进行荧光标记(cy 5 标记对照 DNA, cy 3 标记待测 DNA), 37 $^{\circ}$ C、2 h 后终止反应; 再次 MicroCon YM-30 纯化荧光标记 DNA 后, 将参考 DNA 和本研究标本 DNA 等量混合后加入杂交体系, 94 $^{\circ}$ C 变性 3 min, 37 $^{\circ}$ C 孵育 0.5 h, 上样到 Oligo244 K 芯片上, 65 $^{\circ}$ C 杂交炉孵育 72 h 后先用洗脱液 1 洗脱 5 min, 再用洗脱液 2 洗脱 1 min, 迅速进行微阵列扫描, 采用 Feature Extraction 9.0 进行数据提取至 DNA Analytic 5.0 软件进行全基因组 CNVs 分析。实验仪器和试剂均购自美国 Invitrogen 公司和美国 Agilent 公司, 男女性对照 DNA 样本购自美国 Invitrogen 公司。

1.2.3 NTDs 相关 CNVs 评估方法 Feature Extraction 9.0 获取探针杂交结果并分析染色体重复或缺失片段, 查询国际基因组拷贝数变异多态性数据库(database of genomic variants, DGV, <http://projects.tcag.ca/variation/>), 若检测的 CNV 与数据库没有重叠或重叠少于 20%, 则认为这是个非多态性 CNV; 若非多态性 CNV 中包含一个及以上的基因或基因的外显子区域则认为这是个非多态性 genic CNV, 若非多态性 genic CNV 中存在纤毛基因则认为这是个非多态性 ciliogenic CNV(图 1)。

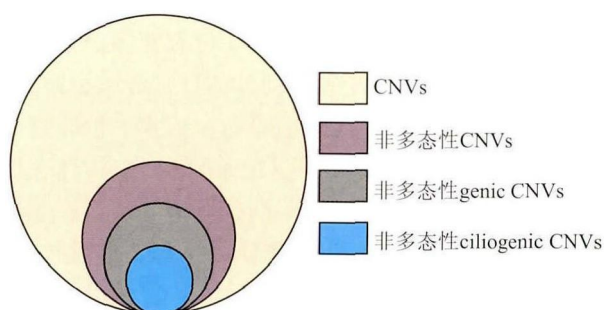


图 1 CNVs 分析流程

1.2.4 NTDs 相关 CNVs 的验证方法 long-range PCR 验证杂合缺失: 挑选 3 个基因组缺失, 通过 primer 3 设计多个断点特异性引物进行扩增(Platinum PCR SuperMix High Fidelity kit, 美国 Invitrogen 公司), 对最终得到大小为 1 000~2 000 bp 扩增产物进行 sanger 测序。real-time 定量 PCR 验证重复: 挑选 1 个基因组重复, 通过 primer 3 在 CNV 的两侧和中间部分设计引物进行扩增, 正常男性为对照, 每个反应重复 3 次(美国 Applied Biosystems 公司)。见表 1。

表 1 long-range/real-time PCR 验证引物

CNVs 位置	基因	引物序列(5'-3')	长度(bp)
dup18q23	PARD6G	F1:GAAATCGCCCTCAGAGTCAG	127
		R1:GGGAAATCCAGGTAAGGAAG	
		F2:AGTCTCTCCCTCACTCCTGT	97
		R2:TGGACACATTGGTGCTTCAT	
		F3:TCACTCCAACCACTGACCA	98
		R3:CTGCCTCAGCCTCCAAGTAG	
del4p15.31	SLIT2	F1:TGAAGGAAGGAGGGAAGGAA	168
		R1:CCTGGCCCATTAACCTCATCT	
		F2:ACCCGCACTTGCAAAAATAC	167
		R2:GTGCAGGTAGGACCCATGTT	
		F3:AGTGCTTGAGGCAAAAAGA	180
		R3:GGCCTCCTTAGGGTTACCTG	
del10p11.21	PARD3	F:GTTCCACTGCTGGGATGTTT	600
		R:CGAGGCCTGGCTTATAACAT	
del10q23.1	NRG3	F:GCCACATGGGACAGACTTIT	700
		R:TCAAGTGGTGAAAGGGCAGT	

1.3 统计学处理 应用 SPSS 10.0 软件进行分析, 计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。

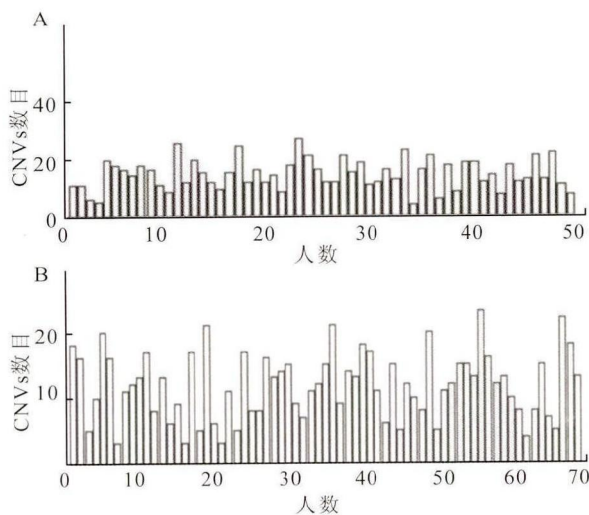
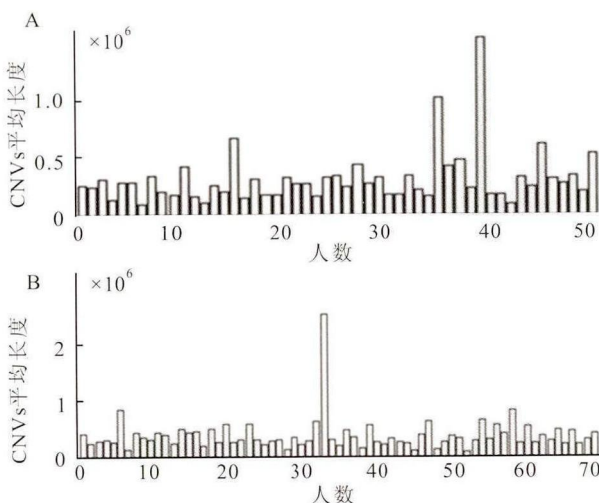
2 结果

2.1 研究对象的一般情况 共收集 51 例无脑畸形和脑膨出胚胎为病例组, 其中男 25 例, 女 26 例, 均为散发 NTDs, 无家族病史。75 例正常流产胚胎为对照组, 其中男 38 例, 女 37 例。病例组与对照组性别分布差异无统计学意义($P=0.856$)。

2.2 Array-CGH 结果及数据对比分析 针对软件所筛查出的基因组 CNVs, 首先对两组的全基因组 CNVs 数目、全基因组 CNVs 平均长度进行对比分析(图 2、3), 病例组与对照组之间差异无统计学意义。接着利用国际基因组拷贝数变异多态性数据库, 过滤去除良性多态性 CNVs, 27 个颅部 NTDs 胚胎中发现 48 个非多态性 CNVs, 24 个正常流产胚胎中发现 33 个非多态性 CNVs。病例组与对照组非多态性 CNVs 无重叠。对于以上发现的非多态性 CNVs, 比

表2 病例组和对照组 CNVs 比较分析

项目	病例组(n=51)	对照组(n=75)	P 值	OR 值	95% CI
非多态性 CNVs 数目(n)	48	33	—	—	—
非多态性 genic CNVs 数目(n)	37	26	—	—	—
非多态性 genic CNVs 中基因数目(n)	77	44	—	—	—
非多态性 CNVs 样本[n(%)]	27(52.9)	24(32.0)	0.019	2.391	1.148 ~ 4.977
非多态性 CNVs 缺失样本[n(%)]	17(33.3)	15(20.0)	0.070	—	—
非多态性 CNVs 重复样本[n(%)]	15(29.4)	12(16.0)	0.058	—	—
非多态性 genic CNVs 样本[n(%)]	25(49.0)	20(26.6)	0.010	2.644	1.248 ~ 5.601
非多态性 genic CNVs 缺失样本[n(%)]	16(31.4)	13(17.3)	0.053	—	—
非多态性 genic CNVs 重复样本[n(%)]	13(25.5)	9(12.0)	0.044	—	—
非多态性 ciliogenic CNVs 样本[n(%)]	11(21.5)	7(9.3)	0.054	—	—
非多态性 ciliogenic CNVs 缺失样本[n(%)]	8(15.6)	2(2.66)	0.010	—	—
非多态性 ciliogenic CNVs 重复样本[n(%)]	4(9.8)	5(6.6)	0.532	—	—

图2 病例组与对照组 CNV 数目比较
A: 病例组; B: 对照组图3 病例组与对照组 CNV 平均长度比较
A: 病例组; B: 对照组

常父母的 CNVs 数据库, 均未发现重复, 说明病例组非多态性 CNVs 属于罕见或颅部 NTDs 特有的。其中有 63 个非多态性 CNVs 为非多态性 genic CNVs, 病例组和对照组分别包含 37 和 26 个。随机挑选 4 个非多态性 genic CNVs 用 PCR 方法验证, 结果与 Array-CGH 相符。病例组平均每个样本携带非多态性 CNVs 数目是对照组 2.14 倍 (0.94 vs 0.44), 非多态性 genic CNVs 数目是对照组 2.06 倍 (0.72 vs 0.35)。病例组含非多态性 CNVs 和非多态性 genic CNVs 的样本比例均显著高于对照组 (52.9% vs 32.0%, $P < 0.05$; 49.0% vs 26.6%, $P < 0.05$), 并且非多态性 genic CNVs 比非多态性 CNVs 的差异更显著 (0.010 vs 0.019)。非多态性 CNVs 导致 NTDs 发生风险增加 2.391 倍 [比值比 (odds ratio, OR) = 2.391, 95% 置信区间 (confidence interval, CI): 1.148 ~ 4.977], 非多态性 genic CNVs 导致 NTDs 发生风险增加 2.644 倍 (OR = 2.644, 95% CI: 1.248 ~ 5.601)。同时比较样本携带非多态性 CNVs 和多态性 genic CNVs 的平均长度, 病例组与对照组之间差异无统计学意义。

病例组携带的非多态性 genic CNVs 中共发现 77 个基因, 是对照组的 1.75 倍 (77 vs 44), 见表 2。尤其, 在 77 个基因内, 发现一个 microRNA-miR223 (图 4)。另外有 7 个基因是已报道的 NTDs 候选基因的同源基因 (表 3), 提示 NTDs 特有非多态性 genic CNVs 中某些基因可能是部分 NTDs 的致病原因。CALR 基因缺陷型小鼠具有 NTDs 表型, 本研究 CALR3 缺失 (图 5) 患者表型有脑畸形, 具有表型一致性。同时发现 18 例样本携带非多态性 ciliogenic CNVs, 但病例组和对照组间的非多态性 ciliogenic CNVs 的样本数差异无统计学意义 ($P = 0.054$)。

对美国波士顿儿童医院临床分子诊断实验室芯片数据库和首都儿科研究所实验室 300 个智力低下及正

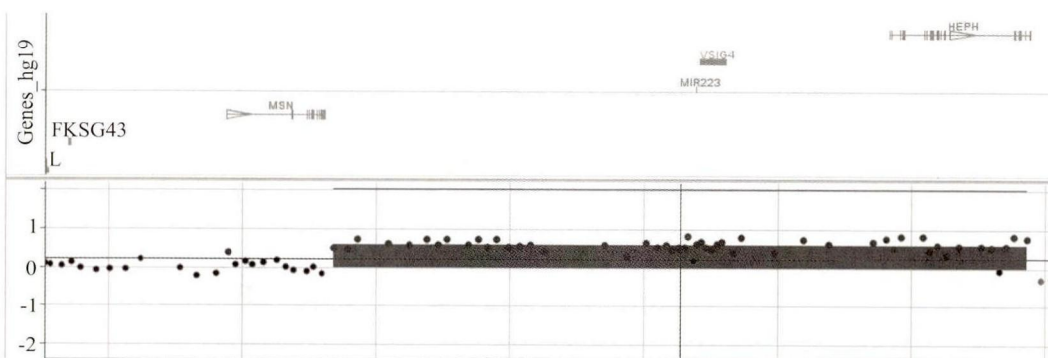


图4 Array-CGH 显示一例颅部 NTDs 患者携带 miR223 重复

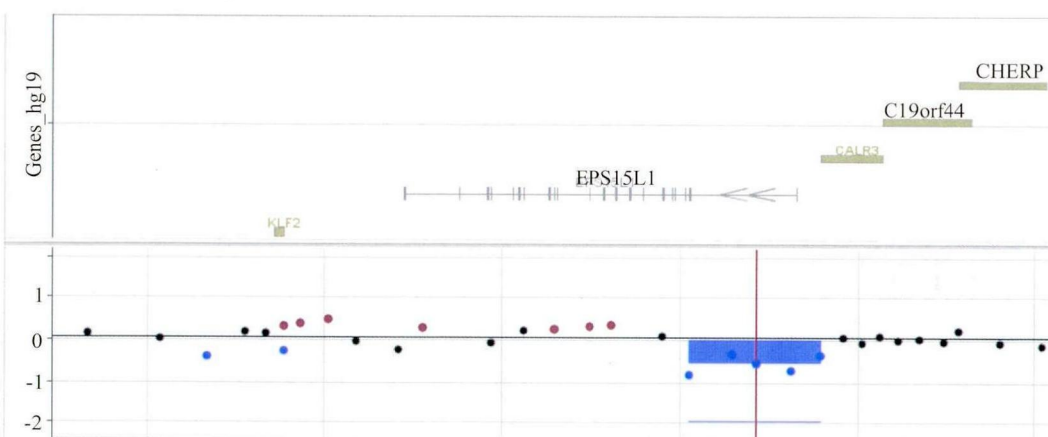


图5 Array-CGH 显示一例颅部 NTDs 患者携带 CALR3 基因缺失

表3 已报道神经管畸形候选基因的同源基因

已报道候选基因	本研究中基因	位置	类型
CALR ^[7]	CALR3	细胞质	转录调节因子
LMO4 ^[7]	LMO1	细胞核	转录调节因子
SLC2A4 ^[8]	SLC4A1A	胞质膜	转运蛋白
ZIC1 ^[9]	ZNF331	细胞核	转录调节因子
ZIC2 ^[9]	ZNF813	细胞核	转录调节因子
ZIC3 ^[9]	ZNF512	细胞核	其他
ZIC5 ^[7]	ZNF761	细胞核	其他

3 讨论

NTDs 是胎儿致死及致残的常见病因,明确其病因对治疗、随访以及再次生育风险咨询均有重要意义。CNVs 一般指长度为 1 000 bp 以上的基因组大片段的拷贝数增加或者减少,是引起人类遗传和表型多样性的重要因素之一。研究^[6]表明采用细胞遗传学方法即染色体核型分析方法进行产前诊断的颅部 NTDs 中发现 6.5% 存在染色体异常,其中三体型最常见。但通过染色体核型分析检测出的基因组失衡片段都在 5×10^6 bp 以上,不利于定位 NTDs 致病基因。Array-CGH 技术具有自动化、高通量、高密度探针等特点,可以筛查小于 5×10^5 bp,甚至 1×10^4 bp 的基因组微失衡,从而可以发现片段更小的

NTDs 相关 CNVs,便于寻找新的 NTDs 致病基因。经过检测与分析,本研究所有样本携带的 CNVs 均小于 3×10^6 bp,大部分集中于 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ bp 之间,且未发现三体型。而西方国家 NTDs 患者中相当一部分携带大片段染色体异常,包括三体型^[6]。这种现象可能提示山西地区和以往研究病例采集地区之间存在遗传差异。同时在病例组发现一类非多态性 CNVs,以往未见报道,并且在非 NTDs 的智力低下患者 CNVs 数据库中未发现,表明该类 CNVs 是颅部 NTDs 特有的,对发现 NTDs 致病基因至关重要。由于缺少父母样本,无法评估这些非多态性 CNVs 是否为新生。故采用病例-对照研究方法,对病例组和对照组样本携带非多态性 CNVs 的数目进行比较,特别是非多态性 genic CNVs,发现颅部 NTDs 患者存在非多态性 genic CNVs 富集现象。但本研究没有在病例组内发现像 16p11.2 这样的再发性基因组 (recurrent CNV)^[10]。

本研究对非多态性 genic CNVs 内基因进一步研究,病例组有 1 例样本携带非多态性 genic CNV 重复,其中包括 miR223 基因。miRNA 是一类广泛存在于真核系统中的非编码小 RNA,在基因表达和

基因调控的整个过程中起重要作用。Chen et al^[11]在研究造血系统分化相关的 miRNA 时首次发现 miR223, 并且在骨髓中优势表达。随后, 相关文献^[12]报道 miR223 与造血系统增殖分化密切相关, 如髓系祖细胞增殖和招募红系祖细胞及维持其干性等; miR223 异常表达与免疫系统疾病/血液系统及实体性恶性肿瘤相关, 如风湿性关节炎, 急性淋巴细胞白血病, 胃癌等。目前尚未见 miR223 与神经发育相关的报道。本研究首次在 NTDs 患者中发现该基因, 提示 miR223 可能在神经管发育方面起重要作用。

同时发现 1 例 NTDs 样本携带非多态性 genic CNV 缺失, 其中包括 CALR3 基因。CALR3 属于钙网蛋白基因。目前研究^[13]证实 CALR3 突变 (R73Q/K82R) 可导致肥厚性心肌病的发生。对其同源基因 CALR 研究^[7]显示, 50% 的 CALR 基因敲除小鼠有心肌病的表型, 16% 有无脑儿表型。CALR3 呈显性遗传模式, 目前发现的变异均为新发突变。本研究该样本为无脑儿, 因缺少父母样本, 无法排除其父母来源。但在美国波士顿儿童医院临床分子诊断实验室 CNVs 数据库和首都儿科研究所分子遗传实验室 300 个智力低下及正常父母 CNVs 数据库及对照组中均未发现该片段的缺失或者重复, 这些表明 CALR3 基因可能是神经管发育畸形新的候选基因, 有必要做进一步的人群验证研究。

综上所述, 本研究应用 Array-CGH 方法发现非多态性 genic CNVs 的富集是 NTDs 发生的危险因素。Array-CGH 方法作为一种细胞遗传学方法在研究 NTDs 的发病原因上具有重要的应用价值, 可以帮助寻找新的人类 NTDs 候选基因。

参考文献

- [1] Gu X, Lin L, Zheng X, et al. High prevalence of NTDs in Shanxi province; a combined epidemiological approach [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2007, 79(10): 702-7.
- [2] Copp A J, Greene N D. Genetics and development of neural tube defects [J]. *J Pathol*, 2010, 220(2): 217-30.
- [3] Copp A J, Greene N D. Neural tube defects--disorders of neurulation and related embryonic processes [J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2013, 2(2): 213-27.
- [4] De Marco P, Merello E, Piatelli G, et al. Planar cell polarity gene mutations contribute to the etiology of human neural tube defects in our population [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2014, 100(8): 633-41.
- [5] Vanlerberghe C, Petit F, Malan V, et al. 15q11.2 Microdeletion (BP1-BP2) and developmental delay, behaviour issues, epilepsy and congenital heart disease: a series of 52 patients [J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58(3): 140-7.
- [6] Cameron M, Moran P. Prenatal screening and diagnosis of neural tube defects [J]. *Prenat Diagn*, 2009, 29(4): 402-11.
- [7] Harris M J, Juriloff D M. Mouse mutants with neural tube closure defects and their role in understanding human neural tube defects [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2007, 79(3): 187-210.
- [8] Greene N D, Stanier P, Copp A J. Genetics of human neural tube defects [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(R2): R113-29.
- [9] Kibar Z, Capra V, Gros P. Toward understanding the genetic basis of neural tube defects [J]. *Clin Genet*, 2007, 71(4): 295-310.
- [10] Wu N, Ming X, Xiao J, et al. TBX6 null variants and a common hypomorphic allele in congenital scoliosis [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(4): 341-50.
- [11] Chen C Z, Li L, Lodish H F, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation [J]. *Science*, 2004, 303(5654): 83-6.
- [12] Fulci V, Scappucci G, Sebastiani G D, et al. miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis [J]. *Hum Immunol*, 2010, 71(2): 206-11.
- [13] Landstrom A P, Ackerman M J. Beyond the cardiac myofibril: hypertrophic cardiomyopathy-associated mutations in genes that encode calcium-handling proteins [J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(5): 507-18.

[1] Gu X, Lin L, Zheng X, et al. High prevalence of NTDs in Shanxi

Application of microarray comparative genomic hybridization to investigate the relationship between cranial neural tube defects and genomic copy number variations

Wang Jing¹, Guo Liu², Cai Chunquan³, et al

(¹Reproductive Medicine Center, Clinical College of PLA Affiliated Anhui Medical University, The 105th Hospital of PLA, Hefei 230031; ²Dept of Neurology, Children Hospital of Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020; ³Dept of Neurosurgery, Children's Hospital of Tianjin, Tianjin 300074)

Abstract Objective To investigate the pathogenic role of genomic copy number variations (CNVs) in the cranial

网络出版时间:2016-4-19 11:04:48 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160419.1104.036.html>

Graves 病¹³¹I 或抗甲状腺药物治疗前后 外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low} 调节性 T 细胞的变化

杨 静, 潘天荣, 杜益君, 钟 兴

摘要 目的 探讨调节性 T 细胞(Treg)在 Graves 病(GD)患者外周血中变化,以及¹³¹I 或抗甲状腺药物(ATD)治疗后其变化趋势,寻找评价¹³¹I 和 ATD 治疗疗效的新指标。方法 健康者 40 例设为对照组,初诊 GD 患者 40 例设为 GD 组,并将 GD 组随机分成¹³¹I 治疗组(20 例)及 ATD 治疗组(20 例)。检测¹³¹I 治疗组、ATD 治疗组治疗前、治疗后及对照组 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low} Treg 比例、白介素-10(IL-10)、转化生长因子-β1(TGF-β1)水平,通过统计学软件处理相关结果。结果 ① 治疗前 GD 组 Treg 比例较对照组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);② ¹³¹I 治疗组、ATD 治疗组治疗后第 3 个月及第 6 个月 Treg 比例较治疗前均升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$);③ 治疗后第 3 个月及第 6 个月,ATD 治疗组 Treg 比例与¹³¹I 治疗组差异无统计学意义;④ 治疗前 GD 组 IL-10、TGF-β1 水平较对照组均降低,治疗后 6 个月,细胞因子水平较治疗前均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),各时间点¹³¹I 治疗组与 ATD 治疗组之间,细胞

因子差异无统计学意义。结论 GD 患者 Treg 比例和功能显著降低,治疗后部分恢复,因此,对于甲亢患者,Treg 可能是评价免疫状态及治疗后病情缓解的指标之一。

关键词 Graves 病;调节性 T 细胞;碘 131;抗甲状腺药物

中图分类号 R 581.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)05-0691-05

Graves 病(Graves disease, GD)又称弥漫性毒性甲状腺肿,是一种器官特异性自身免疫性疾病,主要表现为高代谢症候群、弥漫性甲状腺肿、突眼等多系统综合征,其主要内科治疗方法为抗甲状腺药物(antithyroid drugs, ATD)和放射性¹³¹I 治疗。但目前 GD 发病机制尚未完全清楚,并且治疗效果、复发率的评价等尚无确切指标。调节性 T 细胞(Treg)自 1995 年被首次发现以来^[1],一直是免疫学者的研究热点,其通过释放抑制性细胞因子,抑制效应 T 细胞的功能,参与多种免疫抑制疾病的发生发展。Saitoh et al^[2]发现 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞与锯齿类动物 GD 的发生及病情严重程度相关。该研究旨在研究 GD 患者外周血 Treg 细胞比例及功能变化,以及¹³¹I 和 ATD 治疗后其变化趋势,寻找评价¹³¹I 和

2016-02-25 接收

作者单位:安徽医科大学第二附属医院内分泌科,合肥 230601

作者简介:杨 静,女,硕士研究生;

潘天荣,男,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: ptr1968@163.com

neural tube defects, the genomic CNVs were screened in the cases with cranial neural tube defects and matched controls using microarray comparative genomic hybridization (Array-CGH). **Methods** The genomic DNA from 51 cases with cranial neural tube defects cases and 75 matched controls were subjected for whole genome CNVs analysis via the Oligo 244 k microarray chip. For genomic CNVs detected, the database of genomic variants was used as a filter to remove the benign polymorphic CNVs. To the remained non-polymorphic CNVs, non-polymorphic genic CNVs or non-polymorphic ciliogenic CNVs were named depending on whether the non-polymorphic CNVs contained a reference gene or a cilia gene. Then χ^2 test was applied to analyze the correlation between genomic CNVs and cranial neural tube defects. **Results** 48 and 33 non-polymorphic CNVs were detected in cases and controls respectively. Among them, 37 and 26 CNVs involved genes (non-polymorphic genic CNVs). Significantly more non-polymorphic CNVs and non-polymorphic genic CNVs were detected in cranial neural tube defects patients than in the control (52.9% vs 32.0%, $P < 0.05$; 49.0% vs 26.6%, $P < 0.05$). Non-polymorphic genic CNVs were associated with a 2.644-fold increased risk for cranial neural tube defects ($OR = 2.644$). **Conclusion** Evidence from the genome-wide CNV study suggests that genic CNVs are associated with cranial neural tube defects.

Key words array comparative genomic hybridization; cranial neural tube defects; genomic copy number variations