

# 全外显子组测序筛选 1 个人类白细胞抗原 - B27 阴性强直性脊柱炎家系的强直性脊柱炎易感基因

任伟凡<sup>1</sup>, 辛大伟<sup>1</sup>, 胡劲涛<sup>2</sup>, 吴凤晴<sup>1</sup>, 周化腾<sup>1</sup>, 杜伟斌<sup>1</sup>, 全仁夫<sup>1</sup>

(1. 杭州市萧山区中医院, 浙江 杭州 311201;

2. 浙江中医药大学附属杭州市中医院, 浙江 杭州 310007)

**摘要** 目的: 筛选 1 个人类白细胞抗原 - B27 阴性强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 家系的 AS 易感基因。方法: 纳入 1 个 AS 家系的 15 名核心成员, 其中 AS 患者 2 例。采集 AS 家系 15 名核心成员的外周血, 提取外周血基因组。将先证者、先证者女儿、先证者儿子的基因组进行全外显子组测序, 分析测序数据, 筛选 AS 易感基因, 并采用 Sanger 测序验证筛选出的 AS 易感基因。结果: 外显子组测序获得了高质量的测序数据。RELA 基因 10 号外显子上存在一个杂合移码突变 c. 1039delG。Sanger 测序结果显示, 先证者、先证者女儿及先证者孙子的基因组上存在该突变, 其他家系成员不存在该突变。结论: 突变的 RELA 基因可能是该 AS 家系的 AS 易感基因。

**关键词** 脊柱炎, 强直性; HLA - B27 抗原; 易感基因; 全外显子组测序

## Screening of susceptible gene to ankylosing spondylitis in a human leucocyte antigen - B27 - negative family by whole exome sequencing

REN Weifan<sup>1</sup>, XIN Dawei<sup>1</sup>, HU Jintao<sup>2</sup>, WU Fengqing<sup>1</sup>, ZHOU Huateng<sup>1</sup>, DU Weibin<sup>1</sup>, QUAN Renfu<sup>1</sup>

1. Xiaoshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311201, Zhejiang, China

2. Hangzhou TCM Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310007, Zhejiang, China

**ABSTRACT** **Objective:** To screen the ankylosing spondylitis (AS) - susceptibility gene in a human leucocyte antigen (HLA) - B27 - negative family. **Methods:** Fifteen core members in an AS family were enrolled in the study, including 2 AS cases and their peripheral blood samples were collected for extracting the genomic DNA. The Whole exome sequencing (WES) was performed on proband and proband's daughter and son. The sequencing data were analyzed for screening the AS - susceptibility gene, which was verified by Sanger sequencing. **Results:** The high - quality sequencing data yielded via WES. A heterozygous frameshift mutation c. 1039delG in exon 10 of RELA gene was observed. As revealed by Sanger sequencing, the mutation was only present in the genomes of the proband and the proband's daughter and grandson, while not present in other family members. **Conclusion:** The mutated RELA gene is presumably the AS - susceptibility gene in this family.

**Keywords** spondylitis, ankylosing; HLA - B27 antigen; susceptible gene; whole exome sequencing

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种自身免疫性疾病, 患病率为 0.1% ~ 1.4%<sup>[1]</sup>。AS 主要累及中轴骨, 临床表现早期主要为后背疼痛和僵硬, 晚期主要为脊柱关节强直。AS 的发生是遗传、环境和免疫等因素相互作用的结果, 而遗传因素起着重要作用<sup>[2]</sup>。研究表明, 人类白细胞抗原 (human leucocyte antigen, HLA) - B27 基因与 AS 易感性强相关<sup>[3-4]</sup>。临床上 AS 患者中约 90% 为 HLA - B27 阳性, 但 HLA - B27 基因仅占 AS 遗传度的 23%<sup>[5]</sup>。因此, 可以推测还存在其他基因影响 AS 的发生。为了

筛选其他 AS 易感基因, 我们对一个 HLA - B27 阴性 AS 家系中的 3 名成员的基因组进行了全外显子组测序, 并对测序数据进行了分析, 现总结报告如下。

## 1 临床资料

纳入 1 个 AS 家系的 15 名核心成员, 均为 HLA - B27 阴性, 其中 AS 患者 2 例, 其余均正常。先证者, 女, 58 岁, 符合美国风湿病学会 1984 年修订的纽约标准<sup>[6]</sup>; 先证者女儿, 35 岁, 符合 1991 年欧洲脊柱关节病研究组提出的脊柱关节病的诊断标准<sup>[7]</sup>。试验方案经医院医学伦理委员会审查通过。

## 2 方法

### 2.1 全外显子组测序及测序数据分析 采集 AS 家

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (2018ZB111)

通讯作者: 全仁夫 E-mail: quanrenfu@126.com

系 15 名核心成员的外周血,提取外周血基因组。将先证者、先证者女儿、先证者儿子的外周血基因组进行全外显子组测序(广州基迪奥生物科技有限公司)。将原始测序数据通过过滤和质量控制后获得有效数据,统计捕获目标区域长度、有效测序片段数量、有效数据大小、目标区域有效数据大小;采用 BWA 工具将外显子序列比对到人类参考基因组,获得比对结果,计算比对率(测序片段比对的参考基因组在参考基因组中所占的比例)及捕获效率(比对到目标区域的序列在比对到参考基因组的序列中所占的比例)。采用 SAMtool 软件将比对结果输出为 BAM 格式文件,采用 Picard 软件标记重复测序片段,统计测序深度及测序片段覆盖度。

**2.2 AS 易感基因筛选** 采用 GATK 软件挖掘单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)突变信息,采用 ANNOVAR 软件注释分析 SNP 突变,参照以下步骤筛选 AS 易感基因:①剔除外显子和剪接区以外的突变;②剔除外显子和剪接区内的同义突变;③剔除千人基因组数据库中突变频率 $\geq 0.01$ 的

突变;④剔除外显子组整合数据库中突变频率 $\geq 0.01$ 的突变;⑤采用 SIFT、Polyphen、MutationTaster、MutationAssessor、M-CAP、FATHMM、CADD 等软件进行蛋白损伤预测,选择至少有 4 个软件的预测结果显示为有害的突变;⑥保留患者共有而正常人不具有的变异;⑦确定 AS 易感基因名称、位置及突变类型。

**2.3 AS 易感基因验证** 根据筛选出的易感基因设计引物,分别以 15 名 AS 家系核心成员的基因组为模板,扩增目的基因。采用琼脂糖凝胶电泳分离目的基因,并对目的基因进行 Sanger 测序(华大基因科技有限公司),确定存在该移码突变的成员。

### 3 结果

**3.1 全外显子组测序数据分析结果** 全外显子组测序获得了较高质量的测序数据,具体数据分析结果见表 1。

**3.2 AS 易感基因筛选结果** RELA 基因 10 号外显子上存在一个杂合移码突变 c. 1039delG(图 1),突变的 RELA 基因可能为 AS 易感基因。

表 1 全外显子组测序数据分析结果

样本	捕获目标区域长度/bp	有效测序片段/条	有效数据/Mb	目标区域有效数据/Mb	比对率/%	捕获效率/%
先证者	58 970 115	153 737 099	15 331.10	11 338.80	99.92	73.96
先证者女儿	58 970 115	171 906 652	17 107.30	9 662.94	99.91	56.48
先证者儿子	58 970 115	179 912 146	17 901.30	10 767.20	99.91	60.15
平均值	58 970 115	168 518 632	16 779.90	10 589.65	99.91	63.53

样本	测序深度	被至少 1 条测序片段覆盖区域占比/%	被至少 10 条测序片段覆盖区域占比/%	被至少 20 条测序片段覆盖区域占比/%
先证者	192.28	99.75	98.78	97.26
先证者女儿	163.86	99.87	98.62	96.64
先证者儿子	182.59	99.72	98.64	96.98
平均值	179.58	99.78	98.68	96.96

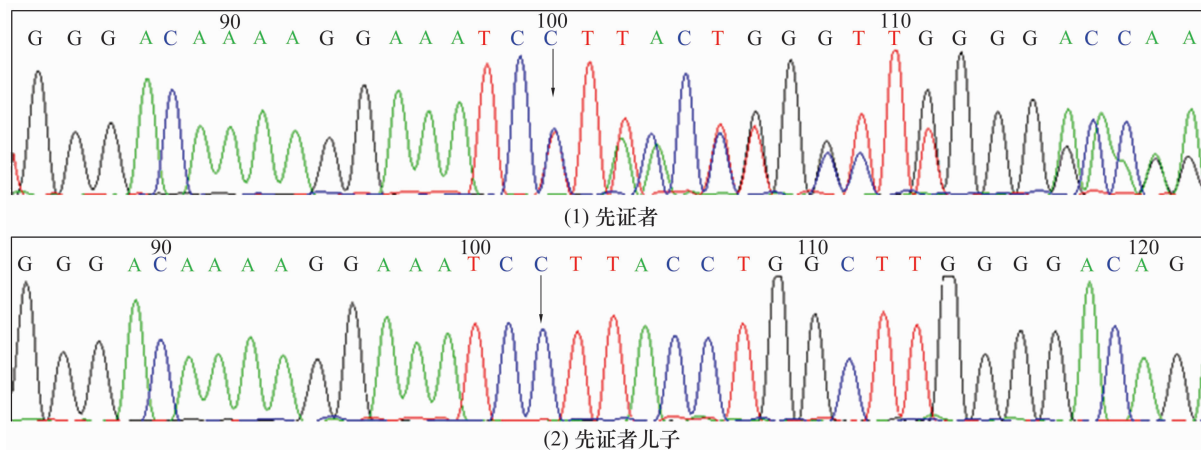


图 1 移码突变 c. 1039delG 测序峰图

**3.3 AS 易感基因验证结果** 根据 RELA 基因设计引物:正向引物,5' - AACTAAGTCCTGAGAGGCAAT - 3';反向引物,5' - TGAGAACTGACCTAGCCCTT - 3'。Sanger 测序结果显示,先证者、先证者女儿及先证者孙子的基因组上存在 RELA 基因移码突变,其他家系成员不存在该突变。

## 4 讨论

AS 具有一定的家族遗传性,以 15 ~ 35 岁为发病高峰<sup>[8]</sup>。目前,AS 的发病机制尚未完全明确。多项研究显示,HLA - B27 基因与 AS 的发生强相关。Qian 等<sup>[9-12]</sup>的研究结果表明,在 AS 患者中,HLA - B27 阳性患者的发病时间早、临床症状重。然而,HLA - B27 基因仅占 AS 遗传度的 23%<sup>[5]</sup>。因此,应该还存在其他 AS 易感基因。本研究的家系成员均为 HLA - B27 阴性,其中有 2 例 AS 患者;这 2 例患者的发病时间均在 30 岁以后,且腰部疼痛不剧烈、晨僵症状时而好转。通过外显子组测序及数据分析,结果显示该家系中可能存在其他的 AS 易感基因。

核因子(nuclear factor -  $\kappa$ B, NF -  $\kappa$ B)是细胞中重要的转录因子,与炎症反应、细胞分化、细胞生长、细胞凋亡等过程密切相关。NF -  $\kappa$ B 蛋白以与 NF -  $\kappa$ B 抑制蛋白(inhibitor of NF -  $\kappa$ B, I $\kappa$ B)结合的状态存在于细胞质中,外界刺激促使 I $\kappa$ B 磷酸化、泛素化,进而被蛋白酶体降解,随后 NF -  $\kappa$ B 蛋白进入细胞核并与靶基因结合,调控基因转录<sup>[13]</sup>。NF -  $\kappa$ B 家族包括 RelA(p65)、RelB、NF -  $\kappa$ B1(p50)、NF -  $\kappa$ B2(p52)和 c - Rel 5 位成员。除了 RelB,其他成员均能形成同源或异源二聚体,其中 p50/p65 异源二聚体最为常见,几乎存在于所有有核细胞中。NF -  $\kappa$ B 家族成员均含有 Rel 同源结构域,该结构域含有 300 个氨基酸,具有特异性 DNA 序列结合、二聚化和抑制蛋白结合 3 个功能。p65 包含 Rel 同源结构域、连接区及拓扑结构域,其中拓扑结构域主要负责 p65 的转录活性调节<sup>[14]</sup>。

AS 的主要病理表现为炎症介导的骨破坏和病理性骨形成<sup>[15]</sup>。NF -  $\kappa$ B 信号通路是典型的炎症信号转导通路。炎症性肠病、类风湿关节炎、牛皮癣、哮喘、全身炎症反应综合征等多种疾病与 NF -  $\kappa$ B 信号通路密切相关<sup>[16-19]</sup>。在多种炎症性疾病中,NF -  $\kappa$ B 能够被激活并持续表达,而 NF -  $\kappa$ B 的表达可进一步诱导促炎性细胞因子、趋化因子、黏附因子、基质金属蛋白酶等多种蛋白的表达<sup>[20]</sup>。Mulero 等<sup>[21]</sup>研究发

现,多种炎症性疾病患者体内 NF -  $\kappa$ B 活性增加,同时炎症细胞募集增加,白细胞介素(interleukin, IL) - 8、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等促炎性细胞因子表达量增加。韩飞等<sup>[22]</sup>采用实时定量 PCR 检测类风湿关节炎患者、骨关节炎患者和健康成人的滑膜组织中 NF -  $\kappa$ B 的 mRNA 表达,结果显示类风湿关节炎患者的 NF -  $\kappa$ B mRNA 表达量显著高于骨关节炎患者和健康成人;采用原位免疫组织化学染色法检测 p65 在细胞核中的表达,结果显示类风湿关节炎患者 p65 的活性系数(细胞核 p65 阳性百分比/细胞质 p65 阳性百分比)显著高于骨关节炎患者和健康成人。方利等<sup>[23]</sup>采用酶联免疫吸附分析法检测了 30 例 AS 患者(试验组)和 30 位健康志愿者(对照组)外周血血清中 NF -  $\kappa$ B 信号通路相关蛋白的表达量,结果显示试验组患者外周血血清中 TNF -  $\alpha$ 、IL - 1 $\beta$ 、IL - 17、NF -  $\kappa$ B 激活剂 1、p65、p50、I $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B 激酶  $\beta$ 、颗粒膜蛋白 140、血小板活化因子、血栓素 A2 的含量均显著高于对照组,提示 AS 患者体内 NF -  $\kappa$ B 信号通路处于激活状态。除了参与炎症反应,NF -  $\kappa$ B 对成骨细胞和破骨细胞代谢具有一定的调节作用。在关节炎和骨质疏松症的相关研究中,激活的 NF -  $\kappa$ B 能够抑制成骨细胞骨形成,促进破骨细胞骨吸收,并能够影响软骨细胞的增殖与分化,抑制 NF -  $\kappa$ B 表达能够发挥抗炎和抗骨质溶解的作用<sup>[24-26]</sup>。

既往研究 AS 易感基因多以全基因组关联分析为主,目前已发现 50 多种基因与 AS 相关<sup>[27-30]</sup>。但是针对 1 个家系的研究,由于患病人数和突变基因携带者较少,不宜采用连锁分析或关联分析的方式。而采用 Sanger 测序法逐个验证候选基因,成本较高、周期较长。随着高通量测序技术的发展,将全基因组测序和全外显子组测序用于单个家系和散发病例的致病基因研究,具有一定的优势。Liu 等<sup>[31]</sup>采用全外显子组测序联合基因筛查在 1 个家族性房间隔缺损家系中发现新的致病突变 TBX20。外显子仅占整个基因组的 1%,但约 85% 的致病突变都位于外显子上<sup>[32]</sup>。相较于全基因组测序,外显子组测序的费用低、耗时少、效率高。此外,全外显子组测序能够较为准确的确定候选基因,便于后续的基因筛选和功能鉴定。

移码突变是指基因编码区内缺失或增加的核苷酸数目不是 3 的倍数而造成阅读框移动的突变。由于阅读框移动,导致突变位点后的氨基酸组成种类

和顺序都发生了改变,进而影响蛋白的结构和功能。本研究结果显示,RELA 基因 10 号外显子上存在一个杂合移码突变 c. 1039delG。RELA 基因位于 11 号染色体,有 10 个外显子,编码 p65 蛋白。RELA 基因发生该移码突变会导致 p65 蛋白拓扑结构域发生变化,从而影响 p65 的转录活性,影响 NF- $\kappa$ B 信号通路的信号转导。AS 易感基因的验证结果显示,先证者、先证者女儿及先证者孙子的基因组上均存在该突变。RELA 基因突变可能是导致该家系 AS 发生的重要遗传因素。先证者孙子尚未出现 AS 临床症状,可能与其未到发病年龄有关。但需提醒其注意自身身体状况,如出现 AS 临床症状,应尽早干预以避免病情恶化。本研究结果表明,突变的 RELA 基因可能是该 AS 家系的 AS 易感基因。

### 参考文献

- [1] LIU L, YUAN Y, ZHANG S, et al. Osteoimmunological insights into the pathogenesis of ankylosing spondylitis[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(9): 6090-6100.
- [2] O'RIELLY D D, UDDIN M, RAHMAN P. Ankylosing spondylitis: beyond genome-wide association studies[J]. Curr Opin Rheumatol, 2016, 28(4): 337-345.
- [3] LIN H, GONG Y Z. Association of HLA-B27 with ankylosing spondylitis and clinical features of the HLA-B27-associated ankylosing spondylitis: a meta-analysis[J]. Rheumatol Int, 2017, 37(8): 1267-1280.
- [4] AKKOC N, YARKAN H, KENAR G, et al. Ankylosing spondylitis: HLA-B\*27-positive versus HLA-B\*27-negative disease[J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(5): 26.
- [5] UDDIN M, MAKSYMOWYCH W P, INMAN R, et al. UGT2B17 copy number gain in a large ankylosing spondylitis multiplex family[J]. BMC Genet, 2013, 14: 67.
- [6] VAN DER LINDEN S, VALKENBURG H A, CATS A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4): 361-368.
- [7] DOUGADOS M, VAN DER LINDEN S, JUHLIN R, et al. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy[J]. Arthritis Rheum, 1991, 34(10): 1218-1227.
- [8] 韩仁芳, 陈梦雅, 刘瑞, 等. 强直性脊柱炎 2261 例流行特征及功能状态现状分析[J]. 安徽医药, 2017, 21(1): 73-77.
- [9] QIAN Q, XU X, HE H, et al. Clinical patterns and characteristics of ankylosing spondylitis in China[J]. Clin Rheumatol, 2017, 36(7): 1561-1568.
- [10] 冀肖健, 孙锴, 胡拯源, 等. 强直性脊柱炎患者人类白细胞抗原-B27 分子携带状态临床对比研究: 基于脊柱关节炎智能移动管理系统的真实世界数据[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(3): 179-184.
- [11] XIONG J, CHEN J, TU J, et al. Association of HLA-B27 status and gender with sacroiliitis in patients with ankylosing spondylitis[J]. Pak J Med Sci, 2014, 30(1): 22-27.
- [12] REYNOLDS T L, KHAN M A, VAN DER LINDEN S, et al. Differences in HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis: study of clinical disease activity and concentrations of serum IgA, C reactive protein, and haptoglobin[J]. Ann Rheum Dis, 1991, 50(3): 154-157.
- [13] HOMS H C, STARK L A. The NF- $\kappa$ B nucleolar stress response pathway[J]. Biomedicines, 2021, 9(9): 1082.
- [14] HAYDEN M S, GHOSH S. NF- $\kappa$ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions[J]. Genes & Development, 2012, 26(3): 203-234.
- [15] 任伟凡, 胡劲涛, 高炀, 等. 强直性脊柱炎一家系全外显子组测序分析[J]. 中国骨伤, 2020, 33(7): 672-676.
- [16] 张盼强, 祝星宇, 王艳宏, 等. 天然药物基于核转录因子 $\kappa$ B 信号通路抗类风湿性关节炎的机制研究[J]. 中国药房, 2019, 30(7): 1004-1008.
- [17] 赵玉霞, 梅红, 彭罕鸣, 等. 白细胞介素 38 通过核因子- $\kappa$ B 与信号转导及转录激活因子 3 信号通路抑制儿童炎症性肠病的分子机制[J]. 中华消化杂志, 2019, 39(4): 237-243.
- [18] 王洪武, 邓超, 蔡兴俊. 烟草烟雾暴露对哮喘小鼠肺组织 NF- $\kappa$ B p65 表达的影响[J]. 中国热带医学, 2019, 19(11): 1018-1021.
- [19] LI Q, VERMA I M. NF- $\kappa$ B regulation in the immune system[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(10): 725-734.
- [20] PASPARAKIS M. Regulation of tissue homeostasis by NF- $\kappa$ B signalling: implications for inflammatory diseases[J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(11): 778-788.
- [21] MULERO M C, HUXFORD T, GHOSH G. NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B, and IKK: Integral Components of Immune System Signaling[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1172: 207-226.
- [22] 韩飞, 尤欣, 唐福林. 核因子 $\kappa$ B 在类风湿关节炎滑膜组织中的表达与意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(3): 143-146.
- [23] 方利, 刘健, 朱福兵, 等. 基于细胞因子/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨强直性脊柱炎患者血瘀状态形成的机制[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 2913-2917.

262 - 264.

- [32] 孟庆江, 张宇. 痛点封闭结合运动疗法对肩周炎的影响[J]. 临床医学, 2014, 34(9): 121 - 122.
- [33] SHEN Z F, ZHU G F, SHEN Q H, et al. Effect of Yi Jinjing (sinew-transforming Qigong exercises) plus tuina on scapulohumeral periarthritis [J]. J Acupunct Tuina Sci, 2017, 15(4): 285 - 289.
- [34] 陈维勇. 易筋经九鬼拔马刀式在肩周炎功能康复中的作用观察[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [35] 朱鹏展, 牛志军, 赵立军. 易筋经九鬼拔马刀势锻炼配合手法松解治疗肩周炎临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(7): 129 - 132.
- [36] 马英, 郭鹤. 八段锦的中医养生原理[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(7): 1403 - 1405.
- [37] 李海红. 八段锦锻炼对康复治疗师职业性颈肩疾病的影响[D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- [38] 王超, 刘丽娟. 健身气功 - 八段锦锻炼配合针灸治疗肩周炎的疗效观察[J]. 体育世界(学术版), 2009(5): 24 - 26.
- [39] 汪春, 郭知学, 陈志刚. 4 周八段锦锻炼治疗肩周炎疗效观察[J]. 中国运动医学杂志, 2010, 29(3): 285 - 287.
- [40] 张怀志, 陈白, 黄肖海, 等. 八段锦运动治疗肩周炎的临床效果[J]. 临床合理用药, 2018, 11(7): 85 - 87.
- [41] 周亚东, 赵倩文. 华佗五禽戏动静养生思想[J]. 安徽中医药大学学报, 2017, 36(3): 1 - 2.
- [42] 叶青, 周亚东. 华佗五禽戏养生理理[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(4): 121 - 123.
- [43] 曾婷苑, 颜洪亮, 廖雪珍, 等. 五禽戏锻炼联合耳穴压豆在肩周炎患者中的应用观察[J]. 中医临床研究, 2020, 12(5): 80 - 82.
- [44] 杨佳昕. 新版五禽戏对关节镜下气滞血瘀型冻结肩术后早期康复的临床研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2021.

(收稿日期: 2021-12-09 本文编辑: 时红磊)

(上接第 28 页)

- [24] SIMMONDS R E, FOXWELL B M. Signalling, inflammation and arthritis; NF - kappaB and its relevance to arthritis and inflammation[J]. Rheumatology, 2008, 47(5): 584 - 590.
- [25] MARTIN - MILLAN M, ALMEIDA M, AMBROGINI E, et al. The estrogen receptor - alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(2): 323 - 334.
- [26] MCDONALD M M, KIM A S, MULHOLLAND B S, et al. New insights into osteoclast biology [J/OL]. JBMR Plus, 2021, 5(9) [2021 - 06 - 09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8441501/>.
- [27] LIN Z, BEI J X, SHEN M, et al. A genome - wide association study in Han Chinese identifies new susceptibility loci for ankylosing spondylitis [J]. Nat Genet, 2011, 44(1): 73 - 77.
- [28] EVANS D M, SPENCER C C, POINTON J J, et al. Interaction between ERAP1 and HLA - B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA - B27 in disease susceptibility[J]. Nat Genet, 2011, 43(8): 761 - 767.
- [29] LI Z, AKAR S, YARKAN H, et al. Genome - wide association study in Turkish and Iranian populations identify rare familial Mediterranean fever gene (MEFV) polymorphisms associated with ankylosing spondylitis [J/OL]. PLoS Genet, 2019, 15(4) [2021 - 06 - 09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6467421/>.
- [30] JUNG S H, YIM S H, HU H J, et al. Genome - wide copy number variation analysis identifies deletion variants associated with ankylosing spondylitis [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(8): 2103 - 2112.
- [31] LIU J J, FAN L L, CHEN J L, et al. A novel variant in TBX20 (p. D176N) identified by whole - exome sequencing in combination with a congenital heart disease related gene filter is associated with familial atrial septal defect [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2014, 15(9): 830 - 837.
- [32] MANOLIO T A, COLLINS F S, COX N J, et al. Finding the missing heritability of complex diseases [J]. Nature, 2009, 461(7265): 747 - 753.

(收稿日期: 2021-08-09 本文编辑: 吕宁)

反映学术进展 引领学科发展