

doi: 10.3969/j.issn1008-0392.2010.03.018

· 临床研究 ·

## 一个单纯性下颌前突家系的遗传研究

李勤, 陈凤山, 李九军

(同济大学附属口腔医院正畸科, 上海 200072)

**【摘要】**目的 对一个中国汉族单纯性下颌前突家系进行遗传研究,为找到其致病机制奠定基础。方法 先对这一单纯性下颌前突家系的遗传模式进行判断,再根据候选区域法,对1p36、6q25、19p13.2、1p22.1、3q26.2、11q22、12q13.13、12q23区域利用微卫星位点进行基因分型,并用Linkage和Genehunter等软件对基因分型的结果进行参数和非参数连锁分析,分析此次实验家系的下颌前突致病基因是否存在于这些候选区域。结果 此家系共21人,有11例患者,其中10例是直系家属,5例男性患者,5例女性患者。该家系在1p36、6q25、19p13.2、1p22.1、3q26.2、12q13.13、12q23区域分析结果LOD值均小于0。而在11q22区域,微卫星位点D11S1886与D11S4206之间(遗传距离为3.1cm),LOD值分别为0.59和0.63,NPL值分别为1.18、1.19。结论 该汉族单纯性下颌前突家系为单基因遗传,最有可能的遗传模式为常染色体显性或不完全外显性遗传。中国汉族可能存在其他未报道过的基因位点,拟下一步做全基因组扫描确认。

**【关键词】** 下颌前突; 遗传; 连锁分析

**【关键词】** R 782.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1008-0392(2010)03-0074-03

### A genetic analysis of a simplex mandibular prognathism pedigree

LI Qin, CHEN Feng-shan, LI Jiu-jun

(Dept. of Orthodontics, Stomatology Hospital, Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the molecular pathogenesis of mandibular prognathism (MP), a simplex MP pedigree was genetic analyzed. **Methods** The genetic pattern of this pedigree was speculated with online database. Eight candidate regions 1p36, 6q25, 19p13.2, 1p22.1, 3q26.2, 11q22, 12q13.13, 12q23 were selected for testing the pedigree of 21 members, STR markers were used for genotyping analysis, and Linkage and Genehunter software were used to analyse whether there is the disease-causing gene exists in these regions. **Results** Twenty one family members of this pedigree were involved in the study. Eleven members confirmed with MP. Ten of them are lineal relatives (five male and five female). The LOD value of regions 1p36, 6q25, 19p13.2, 1p22.1, 3q26.2, 12q13.13, 12q23 were less than 0. However in region 11q22 between marker D11S1886 and D11S4206 (genetic distance was 3.1cm), LOD value were 0.59 and 0.63, NPL value were 1.18 and 1.19 respectively. **Conclusion** The result indicates that the MP inheritance most likely with a single gene pass down. The MP heritability patterns maybe an autosomal-dominant or autosomal-dominant

收稿日期: 2010-04-01

基金项目: 上海市浦江人才计划 (07PJ1-1408100)

作者简介: 李勤(1986—),女,硕士研究生.E-mail:liqin0322@hotmail.com

通信作者: 陈凤山.E-mail:orthodboy@126.com

with incomplete penetrance in Chinese Han people. There maybe another regions for MP in Chinese Han people by using a genome-wide scan. A futher study is needed to confirm this speculation.

**【Key words】** mandibular prognathism; genetic; linkage analysis

下颌前突(mandibular prognathism, MP)是临床上常见的错殆畸形之一<sup>[1-2]</sup>,文献表明遗传在MP的发生中占有着重要的地位。但其遗传模式却颇具争议,多种遗传方式被人提出<sup>[3-4]</sup>。随着分子生物学的发展,对MP的研究更深入。2005年,Yamaguchi<sup>[5]</sup>报道了3个MP的基因座位(1p36.6q25和19p13.2)。2009年Frazier<sup>[6]</sup>等人报道了3个MP基因座位,分别是1p22.1、3q26.2、11q22、12q13.13、12q23。但MP的具体致病基因还未曾报道。

本次实验收集到一个单纯性下颌前突的家系,现对曾报道过的位点进行筛选,确认该家系的MP致病基因是否与报道过的位点存在连锁关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

本次家系来自山西太原。家系图见图1。经知情人同意后,收集家系成员的外周静脉血,头颅侧位片以及面像和口内殆像。所有家系患者的诊断以头颅侧位片为标准,参照面像和殆像,小于ANB角小于0度即为MP患者。

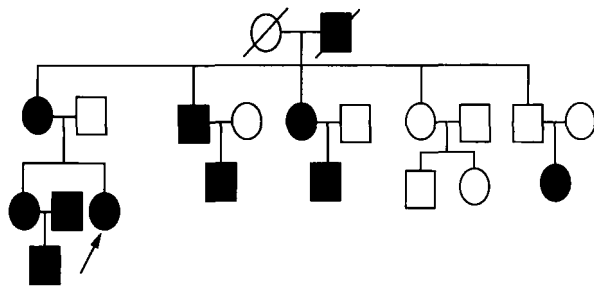


图1 患者家系图

Fig.1 Pedigree chart of a mandibular progathism family

### 1.2 方法

1.2.1 外周静脉血DNA提取 外周静脉血采用ACD抗凝。选用TIANGEN试剂盒提取DNA。

1.2.2 候选区域微卫星位点的选择及引物来源 根据分析研究,MP的致病基因可能与1p36.6q25和19p13.2(Yamaguchi)和1p22.1、3q26.2、11q22、12q13.13和12q23(Frazier-Bowersr)区域存在连锁关系。分别

位于微卫星标记D1S234,D6S305,D19S884和D1S2865,D1S435,D3S3041,D11S1886,D11S4206,D12S1613,D12S1583,D12S354,D12S369,D12S368位点附近。

此次实验,根据以上资料所提供的信息进行候选区域扫描。所有微卫星引物序列均来自Marshfield遗传图和UCSC物理图(<http://genome.ucsc.edu/index.html>),为标有FAM的荧光引物,由上海生工生物工程公司合成。

1.2.3 PCR扩增 每个样品按照DNTP1 $\mu$ l,模板DNA2 $\mu$ l,引物0.5 $\mu$ l,Taq酶0.2 $\mu$ l,10Xloading buffer2.5 $\mu$ l的比例,然后加ddH<sub>2</sub>O至25 $\mu$ l做成一个反应体系。反应条件分三步,第一步为94 $^{\circ}$ C预变性5min,第二步为94 $^{\circ}$ C变性30s,55 $^{\circ}$ C退火30s,72 $^{\circ}$ C延伸30s,共35个循环;第三步为72 $^{\circ}$ C延伸10min。

1.2.4 数据收集 扩增的PCR产物经纯化和检测后在ABI 3730测序仪上做毛细管凝胶电泳。用ABI Prismtm 3730XL Collection Software软件收集数据,用GeneMarker1.8软件进行基因分型。

1.2.5 软件分析 使用Pedcheck软件检查基因型数据的错误并对其进行孟德尔遗传模式的校对。使用Genehunter version 2.1进行参数及非参数连锁分析,分别计算两点、多点LOD值和NPL值。

## 2 结果

### 2.1 家系分析

家系总共有21例,共11例下颌前突患者,其中10例是直系家属,男性5例,女性5例。第2代,5例同胞中,有3例MP患者,其中女性2例,男性1例;第3代,共7例,其中5例为MP患者,其中女性3例,男性2例。

### 2.2 连锁分析

连锁分析时,设置纯合致病基因外显率0.90,杂合0.90,纯合正常基因0.01,致病基因频率设置为0.001。分析结果表明,11q22.2-11q22.3这个区域,微卫星位点D11S1886与D11S4206之间(遗传距离为3.1cM),LOD值分别为0.59和0.63,NPL值分别为1.18、1.19。其他区域LOD值与NPL值均<0。

### 3 讨 论

#### 3.1 下颌前突的遗传模式

临床上的MP是指下颌骨发育过度一类疾病的统称,根据是否伴有其他全身性系统疾病,下颌前突它可分为单纯性的下颌前突,或伴有其他系统性疾病的综合性下颌前突。此次实验研究的为临床上较常见的单纯性下颌前突。尽管遗传因素在MP发病过程中起着至关重要的作用,其遗传模式却颇具争议,多种遗传模式被相继提出,如常染色体显性遗传或不完全外显的显性遗传,常染色体隐性遗传。除单基因遗传形式,Litton(1970年)提出了MP为多基因遗传的说法。2008年对55个MP家系中的2050例患者进行了关联分析,认为MPCru2为单基因遗传,且由关键基因影响着下颌前突的表达。此次实验中家系共有4代,每代均有患者,第2代人5例同胞中有3例下颌前突(女性2例,男性1例),而第3代入中有7例中有5例下颌前突(女性3例,男性2例),男女患者概率基本相同,性别差异不显明,其患病率大于多基因遗传(5%~15%),倾向于常染色体遗传;并高于常染色体隐性遗传概率(1/4),接近显性遗传的概率,推断认为该家系的下颌前突为单基因遗传病,最有可能为常染色体显性或不完全外显性。

#### 3.2 候选区域的连锁分析

本家系的连锁分析中,除11q22.2-11q22.3区域,剩余位点的LOD值均小于-2,排除MP基因与其连锁的可能性。这些位点阴性结果出现的原因可能为研究的种族不同,本次实验研究的样本为汉族,而文献中研究的为韩国和日本<sup>[6]</sup>,以及西班牙;MP的发病率因种族的不同而不同,而不同种族间可能存在不同的连锁位点。而11q22.2-11q22.3区域,微卫星位点D11S1886与D11S4206之间(遗传距离为3.1cM),LOD值分别为0.59和0.63,NPL值分别为1.18、1.19。NPL值接近验证性连锁的阈值(NPL=1.2),应进一步分析,确定连锁位点。

#### 3.3 下颌发育的候选基因

随着生物技术的发展,遗传因素尤其是关键基因在疾病中的重要作用越来越受重视<sup>[8,9]</sup>。参与颅面发育的基因众多,如growth hormone receptor (GHR), homeobox (HOX), fibroblast growth factors (FGFs), sonic hedgehog (SHH), wingless (Wnts) 和 bone

morphogenetic proteins (BMPs) 等等,并且GHR基因的多态性被证实与下颌高度相关<sup>[10-11]</sup>。在此次11q22.2-11q22.3区域内,有20多个基因,其中主要包括MMP家族(MMP1, MMP3, MMP8, MMP10, MMP12, MMP13, MMP20),研究表明该基因家族在肿瘤细胞的浸润、发生和生长过程中起着非常重要的作用。除此之外,还有核糖体蛋白家族(ribosomal protein),包括RPL21P96、RPS2P39、RPSAP50、RPLP2P3等,它们是免疫学上独立的蛋白质。另外其他一些基因也提示与下颌甚至颅面发育相关甚微。提示这个区域可能与下颌前突的发病概率较小,该家系可能存在其他未报道过的位点。拟下一步实验做全基因组扫描确认该家系MP基因的连锁区域。

该下颌前突家系属于单基因遗传,最有可能的遗传模式为常染色体显性或不完全外显性遗传。但该家系在所报道过的MP位点均未发现明显连锁现象,推断中国汉族可能存在一个新的MP位点,拟下一步做全基因组扫描分析。

#### 【参考文献】

- [ 1 ] Alexander AE, McNamara JA Jr, Franchi L, et al. Semilongitudinal cephalometric study of craniofacial growth in untreated Class III malocclusion [J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2009,135(6):1-14.
- [ 2 ] Baccetti T, Rey D, Oberti G, et al. Long-term outcomes of Class III treatment with mandibular cervical headgear followed by fixed appliances [J]. Angle Orthod, 2009,79(5):828-34.
- [ 3 ] Watanabe M, Suda N, Ohshima K. Mandibular prognathism in Japanese families ascertained through orthognathically treated patients[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2005, 128(4): 466-470.
- [ 4 ] Chang HP, Tseng YC, Chang HF. Treatment of mandibular prognathism [J]. J Formos Med Assoc, 2006,105(10):781-790.
- [ 5 ] Yamaguchi T, Park SB, Narita A, et al. Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patients[J]. J Dent Res, 2005,84(3):255-259.
- [ 6 ] Frazier BS, Rincon RR, Zhou J, et al. Evidence of linkage in a Hispanic cohort with a Class III dentofacial phenotype[J]. J Dent Res,2009,88(1):56-60.

(下转第 87 页)

疗-手术间隔时间、及手术方式肿瘤病理类型等其他因素均无影响。

目前,对于新辅助化疗对NSCLC的N<sub>2</sub>降期作用,国外研究甚少,国内尚无报道。以往的研究发现,新辅助化疗后总的N<sub>2</sub>降期率为40~60%,其中大部分患者表现为单个、孤立的N<sub>2</sub><sup>[8-10]</sup>。与此相似,本组病例中,新辅助化疗后的N<sub>2</sub>降期率为44.2%(19/43)。通过多因素分析发现,N<sub>2</sub>是否融合是唯一的与N降期显著相关的影响因素,即单个、孤立的N<sub>2</sub>患者接受新辅助化疗后出现N<sub>2</sub>降期的可能性远大于融合成团者。因此,在临床实践中,新辅助化疗患者的选择是十分重要的环节。在决定治疗方案前,应对于N<sub>2</sub>的状态进行认真的评估,尽可能排除N<sub>2</sub>融合的患者,而是选择单个、孤立的N<sub>2</sub>患者实施新辅助化疗及以后的手术治疗,从而达到最佳的治疗效果。

综上所述,新辅助化疗能够改善Ⅲ期NSCLC的手术治疗效果;在此机制中,N<sub>2</sub>降期发挥了非常重要的作用,是否出现N<sub>2</sub>降期显著影响患者预后;而化疗前是否存在N<sub>2</sub>融合则是新辅助化疗后能否出现N<sub>2</sub>降期的关键。因此,在患者选择上应考虑尽可能排除N<sub>2</sub>融合的患者。

### 【参考文献】

- [ 1 ] 周彩存.非小细胞肺癌治疗进展[J]. 同济大学学报: 医学版, 2007, 28:1-4.
- [ 2 ] 孙辉, 张玲, 周崧雯, 等. 多西他赛二线治疗非小细胞肺癌每周方案的临床分析[J]. 同济大学学报: 医学版, 2009, 30:81-84.
- [ 3 ] Caglar HB, Baldini EH, Othus M, et al. Outcomes of patients with stage III non-small cell lung cancer treated with chemotherapy and radiation with and without surgery[J]. *Cancer*, 2009, 115:4156-4166.
- [ 4 ] Sanborn RE, Lally BE. Adjuvant therapy for non-small cell lung cancer with mediastinal nodal involvement[J]. *Thorac Surg Clin*, 2008, 18:423-435.
- [ 5 ] Evans NR, Li S, Wright CD, et al. The impact of induction therapy on morbidity and operative mortality after resection of primary lung cancer[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 139:991-996.
- [ 6 ] Pinder-Schenck M, Bepler G. Neoadjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer [J]. *Minerva Chir*, 2009, 64:611-628.
- [ 7 ] Kim SH, Cho BC, Choi HJ, et al. The number of residual metastatic lymph nodes following neoadjuvant chemotherapy predicts survival in patients with stage I II NSCLC[J]. *Lung Cancer*, 2008, 60:393-400.
- [ 8 ] Decaluwé H, De Leyn P, Vansteenkiste J, et al. Surgical multimodality treatment for baseline resectable stage III A-N<sub>2</sub> non-small cell lung cancer. Degree of mediastinal lymph node involvement and impact on survival[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2009, 36:433-439.
- [ 9 ] Pauw R, Meerbeek JP. Neoadjuvant chemotherapy in the treatment of nonsmall-cell lung cancer [J]. *Curr Opin Oncol*, 2007, 19:92-97.
- [ 10 ] Hehr T, Friedel G, Steger V, et al. Neoadjuvant chemoradiation with paclitaxel/carboplatin for selected Stage III non-small-cell lung cancer: long-term results of a trimodality Phase II protocol [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 76:1376-1381.
- [ 7 ] Cruz RM, Krieger H, Ferreira R, et al. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism[J]. *Am J Med Genet A*, 2008,146(1):71-77.
- [ 8 ] 李九军, 李勤, 贺永春, 等. 遗传因素对同卵双生子颅颌面部软硬组织形态的影响研究[J]. 同济大学学报: 医学版, 2009, 30(03):70-73.
- [ 9 ] 林小平, 陈义汉. GATA4基因突变与散发型先天性心脏病[J]. 同济大学学报: 医学版, 2009, 30(06):9-13.
- [ 10 ] Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, et al. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor gene in a Japanese population [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2009,136(4):536-541.
- [ 11 ] Sasaki Y, Satoh K, Hayasaki H, et al. The P561T polymorphism of the growth hormone receptor gene has an inhibitory effect on mandibular growth in young children[J]. *Eur J Orthod*, 2009, 31(5):536-541.

### (上接第 76 页)

- [ 7 ] Cruz RM, Krieger H, Ferreira R, et al. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism[J]. *Am J Med Genet A*, 2008,146(1):71-77.
- [ 8 ] 李九军, 李勤, 贺永春, 等. 遗传因素对同卵双生子颅颌面部软硬组织形态的影响研究[J]. 同济大学学报: 医学版, 2009, 30(03):70-73.
- [ 9 ] 林小平, 陈义汉. GATA4基因突变与散发型先天性心脏病[J]. 同济大学学报: 医学版, 2009, 30(06):9-13.
- [ 10 ] Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, et al. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor gene in a Japanese population [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2009,136(4):536-541.
- [ 11 ] Sasaki Y, Satoh K, Hayasaki H, et al. The P561T polymorphism of the growth hormone receptor gene has an inhibitory effect on mandibular growth in young children[J]. *Eur J Orthod*, 2009, 31(5):536-541.