

马晓敏,王欣,姚新生,等. 全外显子组测序在自身免疫性疾病中的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 95-101.
Ma XM, Wang X, Yao XS, et al. Progress in research of whole-exon sequencing in patients with autoimmune diseases [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 95-101.
doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 06. 015

全外显子组测序在自身免疫性疾病中的研究进展

马晓敏,王欣,姚新生,谭贵琴,周芳宇,魏文文,于红松*

(遵义医科大学基础医学院,贵州遵义 563000)

【摘要】 自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AIDs)是指机体对自身抗原发生免疫应答而导致自身组织损害的一类疾病,其确切发病机制尚不明确,目前普遍认为遗传因素在 AIDs 的发生发展中发挥重要作用。近年来,全外显子组测序技术的发展与应用鉴定了多个遗传变异与 AIDs 相关,并证实这些变异位点通过不同机制参与疾病的各个过程,包括打破免疫耐受引起疾病发生,影响疾病严重程度及预后等,促进了对 AIDs 的进一步认识。因此,本文就全外显子组测序技术在系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、多发性硬化病、银屑病、干燥综合征、白塞病中的应用及研究进展进行综述,旨在更好地理解 AIDs 的发病机制,为 AIDs 的诊断与治疗提供新的思路。

【关键词】 自身免疫性疾病;全外显子组测序;遗传变异;单核苷酸多态性

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 06-0095-07

Progress in research of whole-exon sequencing in patients with autoimmune diseases

MA Xiaomin, WANG Xin, YAO Xinsheng, TAN Guiqin, ZHOU Fangyu, WEI Wenwen, YU Hongsong*
(School of Basic Medical Science, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

【Abstract】 Autoimmune diseases (AIDs) are disorders in which the body reacts to autoantigens, leading to tissue damage. The exact pathogenesis of AIDs is still unknown. Many studies have shown that genetic factors play an important role in the occurrence and development of AIDs. In recent years, the development and application of whole-exon sequencing technology has identified several genetic variants associated with AIDs and has confirmed that these variants are involved in various disease processes through different mechanisms, including breaking immune tolerance and affecting disease severity and prognosis. This has promoted a greater understanding of AIDs. Therefore, this article reviews the application and research progress of whole-exon sequencing in patients with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, psoriasis, Sjogren's syndrome, and Behçet's disease in an effort to more clearly understand the pathogenesis of AIDs and provide new ideas for diagnosis and treatment.

【Keywords】 autoimmune diseases; whole-exon sequencing; genetic variation; single-nucleotide polymorphism

自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AIDs)是一类因免疫功能发生紊乱或机体自身发生免疫应答从而使得自身器官系统受损的疾病^[1]。正常机体的免疫系统具有区别“自己”和“非己”的能力,对非己抗原能够发生免疫应答,对自身抗原则是处于无应答或微弱应答的免疫耐受状态;如果正常的免

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81670844);贵州省科技计划重点项目(黔科合基础[2019]1464);贵州省普通高等学校科技拔尖人才支持计划项目(黔教合 KY 字[2017]077);遵义医科大学优秀青年人才计划(18-ZY-001)。

【作者简介】 马晓敏(1996—),女,在读硕士研究生,主要从事自身免疫病易感基因的鉴定。E-mail:1147672731@qq.com

【通信作者】 于红松(1983—),男,博士,副教授,主要从事自身免疫病的发病机制研究。E-mail:yuhongsong@163.com

疫耐受被打破,处于非正常免疫激活状态的 T 细胞就会持续迁延,对自身抗原产生异常的免疫应答,导致 AIDs 的发生;AIDs 的主要特征是患者血清中可检测到高浓度的自身抗体或是能够与自身组织起反应的淋巴细胞。研究发现,环境因素和遗传因素可以增加普通人群患 AIDs 的风险^[2-4]。大量遗传学研究还表明,不同的 AIDs 有着共同的遗传背景^[5-7]。

全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS)、全外显子组测序 (whole exon sequencing, WES) 与全基因组测序等技术的飞速发展,极大地加深了我们对 AIDs 相关遗传因素的理解^[8]。GWAS 的核心是研究分子变异和目标表型性状之间的关联,极大地扩大了对最常见形式 AIDs 遗传因素的理解,但只能部分解释复杂性状的遗传性,不能找到真正的致病基因或者突变位点,对基因与环境因素交互作用缺乏足够的关联研究, GWAS 对低频变异和罕见变异的检测能力也十分有限^[8-11]。全基因组测序是针对个体所有基因序列进行的测序分析,其测序范围广、数据多、分析困难、专业性强、费用昂贵,因此目前难以大规模应用于临床^[12]。而 WES 则只是针对 DNA 的外显子区域,更简便、经济和高效,同时目标区域覆盖度更高,便于变异检测;虽然 WES 捕获探针仅覆盖人类基因组的 1%~1.5% 的区域,但是该区域包含了大约 85% 的已知致病基因变异,可一次性精准检测人类基因组 20000 多个基因中 180000 个外显子的致病变异位点;WES 还解决了 GWAS 对罕见突变和结构变异性不敏感的缺点,通过其高效的方法能鉴定新的稀有编码变体^[13-14]。本文主要以系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、多发性硬化病、银屑病、干燥综合征、白塞病等常见 AIDs 为例,对 WES 在 AIDs 中的应用及研究进展进行综述。

1 WES 与系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种累及多系统的慢性 AID,病程迁延反复^[15]。邝少松等^[16]通过小鼠动物模型证实其主要的病理特征是 T 淋巴细胞的失衡,导致了机体免疫紊乱产生大量自身抗体引发炎症和组织损害,常累及全身多系统或多器官病变,包括心脏、各个关节、皮肤、肺、血管、肝、肾,以及神经系统;在我国人群中的患病率为 70/10 万,全国患病总人数近一百万,

尚缺乏特异的有效治疗手段^[17]。GWAS 发现 SLE 存在遗传易感性,目前已发现 SLE 发病与多个易感基因有关^[18]。

SLE 的发病可能是机体免疫失衡所致,近年来,研究人员通过 WES 技术已经新鉴定出多个遗传变异可能通过打破免疫耐受参与 SLE 的发生。李国民等^[19]对一例 SLE 患儿及其父母进行了 WES 和生物信息学分析,后使用 Sanger 法验证突变位点并在其家系其他成员中进行突变分析,筛选得到 92 个变异位点,检测到 1 个可能致病基因,即 *SLC7A7* 经典剪切区 IVS4+1 G>A 纯合变异,此基因突变可以引起巨噬细胞和淋巴细胞中氨基酸代谢异常,从而导致免疫耐受被破坏,出现自身抗体。李国民等^[18]对另一例 SLE 患儿及其父母进行 WES,发现了 105 个变异位点,筛选到可能的致病基因 *NRAS*c.38G>A 杂合突变。而 Li 等^[2]对 7 例 SLE 患者及其家属进行 WES,在 4 例患者外周静脉血中发现了杂合的 *NRAS*c.38A>G 突变,但其父母均未携带,故为新发突变;另 2 例患者检测到 *TNFAIP3*c.559C>T 和 *PIK3CD*c.3061G>A 杂合突变;*NRAS* 基因编码蛋白是 RAS/MAPK 信号通路中的信号转导分子之一,该信号通路可将细胞外生长因子信号传至胞内,对调节细胞周期和细胞的分化、生长、衰老及凋亡起重要作用,因此该基因杂合突变会使 RAS/MAPK 信号通路调节异常^[17];*TNFAIP3* 是一个系统的负调控因子,主要诱导免疫耐受,其杂合突变可能打破机体免疫平衡,导致 AIDs 的发生^[20];*PIK3CD* 编码的磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 在免疫细胞的激活和功能中起关键作用,基因突变引起的 PI3K 活性增强会导致 AIDs 的发生^[21]。此外,有研究发现相关基因的突变也可以通过调节 B 细胞相关信号通路导致 AIDs 的发生,Al-mayouf 等^[22]对一例罹患 SLE 的六岁女童进行 WES,分析确定了致病性 *TALDO1*c.793Cdel 纯合子变异和 *PTEN*c.518G>C 杂合变异;*PTEN* 可通过 B 细胞受体调节正常信号,并在建立外周免疫耐受中发挥作用,其杂合变异可能诱导 AIDs 的发生。Jiang 等^[23]对 116 例 SLE 患者行 WES,对 97 名没有慢性病病史的健康老年人行 GWAS,研究鉴定出 *BLK* 基因 6 个罕见突变或新的错义突变以及 *BANK1* 基因的低频突变参与了 SLE 的发病。

以上研究表明,通过 WES 可以检测到与 SLE 相关的基因变异位点,这些突变位点通过打破自身

免疫耐受、影响信号通路等不同机制使得机体免疫失衡而导致 SLE 的发生,这促进了我们对于 SLE 发病遗传因素的认识,也可能为 SLE 的诊断与治疗提供靶标,但尚有一些突变位点缺乏对其相应机制的阐释,还需进一步研究来证实。

2 WES 与类风湿性关节炎

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种病因不明的慢性多发性 AID^[24],其基本病理改变为滑膜炎、血管翳的形成,并逐渐出现关节软骨和骨的破坏,最终可导致关节畸形和功能障碍,影响了高达 1% 的世界人口,由遗传和环境危险因素共同作用导致其发生,其中遗传率约为 65%^[25-26]。最近的 GWAS 和相关性研究已经确定了 50 多个 RA 易感位点, GWAS 的模拟数据和直接测序数据表明,高频、低频和罕见变异体的混合导致了 RA 患病风险的上升^[27]。近年来,大量研究人员已将 WES 技术应用到对 RA 遗传因素的研究中。

Okada 等^[28]通过 WES,在人类染色体 2q23 区域的 *PLB1* 上发现了一个非同义的 c.2263G>C (p. G755R) 突变,该突变在显性遗传模式的家系成员中与 RA 显著共分离,随后在 1088 例 RA 患者和 1088 名健康对照者 (欧洲血统) 中进行 *PLB1* 基因的测序分析,证实该突变的存在及其显著致病风险。Wang 等^[29]对 51 例不伴有间质性肺疾病 (interstitial lung disease, ILD) 的 RA 患者和 45 例合并 ILD 的 RA 患者 (RA-ILD) 进行 WES,研究发现在 RA-ILD 队列中,携带 *MUC5B* 变异的患者急性加重或死亡的风险更高,而 RA 患者 *MUC5B* 突变率为 17.6%,因此其变异体的携带者状态可作为 RA-ILD 预后降低和病情加重的指标。

综上, WES 研究发现了新的遗传变异参与 RA 的发生,另外发现患者对相应变异体的携带与否和疾病的严重程度有关,这有助于临床对患者预后的判断,但由于 WES 在 RA 中的应用研究依然较少,更多变异位点尚需进一步的研究确定。

3 WES 与多发性硬化症

多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 是一种炎症性、自身免疫性脱髓鞘疾病,以轴突损伤、神经元丢失和中枢神经系统萎缩为特征^[30-31]。越来越多的证据表明, MS 的发生由环境和遗传因素共同作用导致^[32]。近期的 GWAS 和 Meta 分析发现,人

类白细胞抗原 DR (HLA-DR) 的多态性与欧洲和北美等地区的高加索人群 MS 的易感性显著关联,而与包括中国人群在内的亚洲人群 MS 的发生却无显著关联^[30],遗传异质性表明 MS 尚有其他关键的遗传变异未被鉴定,而 WES 的应用丰富了我们对于 MS 相关遗传因素的认识^[33]。

Wang 等^[30]对来自中国南方的 8 例 MS 患者和 26 名健康对照者外周血单个核细胞中的基因组 DNA 进行 WES,共发现了 41227 个可能的变异,有 17 个变异体具有显著的等位基因频率,经 Sanger 测序证实,3 例 MS 患者具有异质性变异,即位于 *TRIOBP* 第 7 外显子的罕见变异 (Chr22:37723520G>T, rs201693690),导致了氨基酸替换, MS 患者的此等位基因频率明显高于健康对照组,因此 *TRIOBP* 可能是中国南方人群 MS 的新的危险基因,但 *TRIOBP* 如何影响免疫或炎症的机制尚不清楚。Kattimani 等^[31]对 1 例复发性缓解性多发性硬化症 (relapse-remitting multiple sclerosis, RRMS) 女性患者进行 WES 分析,发现 miR-8485 携带 CA 碱基的移码纯合子缺失;而 *NRXN1* 携带外显子 8 的 CT 到 TC 碱基的非移码纯合替换,丝氨酸替换为亮氨酸;这二者突变改变了钙稳态和 *NRXN1*/*NLGN1* 细胞粘附分子结合亲和力, miR-8485 可诱导 *NRXN1* 基因沉默,而 *NRXN1* 在调节钙通道活性和突触处 Ca^{2+} 触发的神经递质释放中发挥重要作用,因此突变体 miR-8485 对 *NRXN1* 调节表达失调,会导致 *NRXN1* 的过度表达,触发 Ca^{2+} 内流增加, Ca^{2+} 持续升高可能引起氧化应激和细胞死亡,导致神经变性。

上述这些研究结果提示多个遗传变异参与了 MS 的发生,且在不同人群中有所差异,另外还发现这些变异可以通过相应机制影响到患者的具体症状,对于研究相应治疗方式提供了新的思路,但是仍有变异位点的关键作用机制尚且不明,有待进一步的研究。

4 WES 与银屑病

银屑病是一种免疫介导的具有多基因遗传性和复发性的慢性炎症性皮肤病,以红细胞斑块、角质形成、细胞增生和淋巴细胞浸润为特征,病程较长,易复发,有的病例甚至终生不愈,其发病率约为世界人口的 2%,且该病发病以青壮年为主,对人类的身体健康和精神状况均造成较大影响,常由感染、外伤、药物等环境因素诱发; GWAS 已鉴定了多

个与银屑病相关的易感位点,但仍未能清楚解释其发病机理,而 WES 技术的应用加深了我们对银屑病发病机制的理解^[34-37]。

Signa 等^[38]研究了一个以儿童期起病的红皮病型银屑病为特征的有 3 对双胞胎的大家庭,对该家族的 5 名成员进行了 WES 分析;在 *CARD14* 第 4 外显子中发现新的杂合突变(*C.446T>G*),此突变可导致以弥漫性红皮病型银屑病为特征的不寻常的临床表型和严重的儿童期银屑病的发生,该变异的存在通过 Sanger 测序得到证实;同时该研究发现不同的 SNP 可对生物制剂的疗效造成影响,这将有助于我们对银屑病的精准治疗。此外,还有研究发现有些突变与患者治疗疗效相关,Kuang 等^[34]采用 WES 对 22 例寻常型银屑病患者(11 例甲氨蝶呤治疗有效和 11 例甲氨蝶呤治疗无效)进行了检测,研究发现 3 个错义突变(*SMG6/rs216195 T>C*、*IMMT/rs1050301 G>A* 和 *UPK1A/rs2285421 T>C*)可能与甲氨蝶呤的疗效有关,但其具体作用机理还需进一步研究证实。Carlsson 等^[39]研究发现,*UPK1A* 在银屑病等炎症性皮肤病中表达显著升高,但是否由 *UPK1A/rs2285421 T>C* 错义突变所导致尚不清楚。

以上研究表明,WES 研究新发现了一些参与银屑病发生的遗传变异,这些变异不仅仅导致疾病的发生,还有可能与治疗效果相关,但尚未阐明具体机制,亟待进一步更深入的研究。

5 WES 与干燥综合征

干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)是一种以口干眼干燥为典型表现的 AID,随病情进展常累及全身各个系统器官^[40]。SS 可分为单独发病的原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)和伴有其他 AIDs 的继发性干燥综合征(secondary Sjögren's syndrome, sSS),其病因复杂,具体发病机制尚不明确,目前普遍认为其发病机制涉及遗传因素、感染因素和内分泌因素等^[41]。近期的 WES 研究,进一步加深了我们对 SS 发病机制的理解。

杜蒙^[40]应用 WES 分析了 91 例 pSS 患者和 152 名健康对照者,筛选到 25 个罕见变异位点,进一步分析发现,*CREBBP* 和 *OAS1* 是 pSS 的易感基因,但其具体作用机制尚不清楚。王启迪等^[41]对 11 例 pSS 患者和 6 名健康对照者进行 WES,筛选获得 25 个候选变异位点,后通过 Sanger 测序验证,结果表明,*IFIH1*c.2115A>C、*SIDT1*c.1216G>A 可能与 SS 发

病相关;*IFIH1* 编码胞浆 RNA 解旋酶,可在病毒感染过程中提供识别 dsRNA 的胞浆受体,通过线粒体抗病毒信号蛋白激活 IFN-I 信号通路;*SIDT1* 是一种多次跨膜蛋白,其膜外区域可结合 dsRNA,并将 dsRNA 转运到细胞内,其作用可能主要与 pSS 患者机体的多系统和器官累及有关;因此,推测 *IFIH1* 可能是导致 pSS 发生的主效基因,而 *SIDT1* 仅为其中的一个微效基因,然而变异位点的影响、基因在疾病中的具体作用还需功能实验的证实。Shen 等^[13]分析 15 例 SS 患者和 100 名健康对照者的 WES 数据,确定了 *PRAMEF13*、*TARBP1*、*UGT2B28*、*TRBV56* 和 *NAPB* 为 SS 新的易感基因,并发现 *UGT2B28/rs72552705* 和 *MSH5/rs2075789* 为 SS 风险基因位点;*UGT2B28* 在调节类固醇激素方面起着重要作用,具有结合某些胆汁酸和雌激素的固有能力,类固醇激素影响免疫细胞功能和炎症,但与其与 AIDs 的关系缺乏数据验证。

WES 的应用不仅鉴定了 SS 相关的新的遗传变异位点,还发现这些遗传变异位点在疾病的发生发展中起到了不同程度的影响,这为进一步阐释 SS 的发病机制提供了新的思路和研究靶点。

6 WES 与白塞病

白塞病(Behçet's disease, BD)是一种累及多系统的由自身免疫介导的炎症性疾病,以非特异性血管炎为主要病理损害,其典型的临床特征包括口腔和生殖器溃疡、葡萄膜炎和皮肤病变等,其发病机制尚不明确,目前普遍认为 BD 的病因包括遗传学、表观遗传学、免疫学及环境因素等^[42-44]。近年来 WES 研究鉴定发现了多个遗传变异参与 BD 的发生发展。

Dimopoulou 等^[42]对一例 BD 患者及其父母进行了 WES,研究发现 BD 患者 *ERAP1* 基因启动子区域出现罕见的纯合子突变(1-bp 缺失),且 BD 患者中 *ERAP1* 的表达水平显著低于正常对照;此研究也发现 WES 可以补充基于 DNA 微阵列的 GWAS 研究,以调查稀有和非编码变体。Oggenovski 等^[43]对 14 例来自德国的 BD 患者进行了 WES,并通过 Sanger 法测序验证 WES 结果,研究发现了与 BD 发生相关联的 77 个变异体,其中 2 个为新发现的关联变异体(*LIMK2/rs149034313* 和 *NEIL/rs5745908*);*LIMK2/rs149034313* 影响趋化因子和细胞因子信号通路介导的炎症、T 细胞激活以及血管生成,还参与

调控细胞骨架重组,而细胞骨架重塑是 BD 中白细胞黏附和浸润的中心;*NEIL1*/rs5745908 是一个剪切位点变异,可能引入有害的内含子保留,导致终止密码子提前出现以及产生非编码转录本,这种有害的效应可能会对氧化应激后的 DNA 损伤修复产生不良后果;由于这些基因对 BD 中白细胞浸润和氧化应激的增加是至关重要的,因此所发现的罕见变异关联可能会为未来的研究提供新的疾病靶点和关键途径。Shigemura 等^[44]调查了一个有 BD 病史的日本家庭,对 6 例 4 代以上 BD 患者进行分析,对患者 1 和他母亲(患者 2)单个核细胞提取的基因组 DNA 进行 WES,研究发现 BD 患者均携带 *TNFAIP3* 杂合错义突变(chr6_138197226_G>A, C243Y),该突变可能通过抑制 NF-κB 的活化而增加人类炎性细胞因子(IL-1β, IL-6 和 TNF-α)的产生,表明 *TNFAIP3* 突变(chr6_138197226_G>A, C243Y)可能是常染色体显性 BD 的致病基因。

目前,尽管 WES 在 BD 中的应用较少,但现有 WES 研究已经鉴定多个基因变异参与 BD 的发生,

这些变异通过影响炎性细胞因子的生成、调控细胞骨架系统或增加氧化应激等机制参与了 BD 的发生发展,这加深了我们对 BD 发生相关遗传因素的认识,有利于将来对其具体发病机制的阐释并应用于临床诊断和治疗。

通过以上所述可知,WES 可以检测到与 AIDs 相关的基因位点变异(详见表 1),但某些位点的变异不仅仅局限于一种疾病,多种 AIDs 在遗传风险上也共享某些疾病易感基因(详见表 2)。例如,*IFIH1* 作为介导 I 型干扰素产生的抗病毒解旋酶基因之一,可导致干扰素调节因子和 NF-κB 等转录因子的激活,从而触发先天免疫应答,这可能会增加 AIDs 的风险,经研究证实其遗传变异与多种 AIDs 易感性有关联;rs1990760 为 SLE、RA、MS 等的共有风险变异,其与血清 IL-18、颗粒酶 B 水平呈显著正相关,IL-18 可调节 T 细胞分化,打破机体免疫平衡,导致严重的组织炎症和自身免疫;颗粒酶 B 通过促进抗原表位的产生和刺激自身反应性 T 细胞在获得性免疫应答和自身抗原的呈递中起着重要作用,还可

表 1 常见 AIDs 中的外显子变异情况
Table 1 Exon variants in common AIDs

基因 Gene	变异描述 Description of variant	疾 病 Disease	变异类型 Variation type	参考文献 Reference
<i>SLC7A7</i>	IVS4+1G>A	系统性红斑狼疮 SLE	纯合变异 Homozygous mutations	[19]
<i>NRAS</i>	c.38G>A	系统性红斑狼疮 SLE	杂合突变 Heterozygous mutations	[18]
<i>NRAS</i>	c.38A>G	系统性红斑狼疮 SLE	杂合突变 Heterozygous mutations	[2]
<i>TNFAIP3</i>	chr6_138197226_G>A, C243Y	白塞病 BD	杂合错义突变 Heterozygous missense mutation	[44]
<i>TNFAIP3</i>	c.559C>T	系统性红斑狼疮 SLE	杂合突变 Heterozygous mutations	[2, 20]
<i>PIK3CD</i>	c.3061G>A	系统性红斑狼疮 SLE	杂合突变 Heterozygous mutations	[2, 21]
<i>PTEN</i>	c.518G>C	系统性红斑狼疮 SLE	杂合突变 Heterozygous mutations	[22]
<i>PLB1</i>	c.2263G>C(p.G755R)	类风湿性关节炎 RA	非同义突变 Non-synonymous mutations	[28]
<i>MUC5B</i>	O-糖基化区域 O-glycosylation area	类风湿性关节炎 RA	错义突变 Missense mutation 非移码缺失 Non-frame shift deletion mutation	[29]
<i>TRIOBP</i>	Chr22;37723520G>T, rs201693690	多发性硬化症 MS	罕见变异 Rare variations	[30]
<i>MIR-8485</i>	CA 碱基 bases CA	多发性硬化症 MS	移码纯合子缺失 Frame shift homozygous deletion	[31]
<i>NRXN1</i>	外显子 8 的 CT 到 TC 碱基 bases CT to TC in exon 8	多发性硬化症 MS	非移码纯合替换 Non-frame shift homozygous substitution	[31]
<i>CARD14</i>	C.446T>G	银屑病 Psoriasis	杂合突变 Heterozygous mutations	[38]
<i>SMG6</i>	rs216195 T>C	银屑病 Psoriasis	错义突变 Missense mutation	[34]
<i>IMMT</i>	rs1050301 G>A	银屑病 Psoriasis	错义突变 Missense mutation	[34]
<i>UPK1A</i>	rs2285421 T>C	银屑病 Psoriasis	错义突变 Missense mutation	[34]
<i>IFIH1</i>	c.2115A>C	干燥综合征 SS	杂合变异 Heterozygous mutations	[41]
<i>SIDT1</i>	c.1216G>A	干燥综合征 SS	杂合变异 Heterozygous mutations	[41]
<i>UGT2B28</i>	rs72552705	干燥综合征 SS	错义突变 Missense mutation	[13]
<i>ERAP1</i>	1-bp 缺失 rs140416843 1-bpdeletions140416843	白塞病 BD	纯合突变 Homozygous mutations	[42]
<i>LIMK2</i>	rs149034313	白塞病 BD	错义突变 Missense mutation	[43]
<i>NEIL</i>	rs5745908	白塞病 BD	剪接供体变异 Splice donor variations	[43]

表 2 不同 AIDs 共性的外显子变异情况
Table 2 Common exon variants involved in different AIDs

基因 Gene	变异描述 Description of variant	变异类型 Variation type	氨基酸改变 Amino acid change	疾病 Disease	参考文献 Reference
<i>IFIH1</i>	rs3747517(T>C)	错义变异 Missense variant	R843H	系统性红斑狼疮 SLE 多发性硬化症 MS	[45, 48]
<i>IFIH1</i>	rs1990760(C>T)	错义变异 Missense variant	T946A	系统性红斑狼疮 SLE 类风湿性关节炎 RA 多发性硬化症 MS	[45, 46, 48]
<i>IFIH1</i>	rs10930046(T>C)	错义变异 Missense variant	R460H	系统性红斑狼疮 SLE 多发性硬化症 MS 银屑病 Psoriasis	[45, 47, 48]
<i>TNFAIP3</i>	rs2230926(T>C,G)	错义变异 Missense variant	F127S F127C	系统性红斑狼疮 SLE 干燥综合征 SS	[49, 50]
<i>ERAP1</i>	rs30187(T>A,C)	错义变异 Missense variant	K528R K528M	银屑病 Psoriasis 多发性硬化症 MS	[51, 52]

以促进 IL-18 的激活,而 IL-18 在 SLE、RA、MS 中均有异常增高。此外,rs3747517 与 SLE、MS 的发病相关,独立 SNPs 的稀有等位基因 rs10930046 变异的携带对银屑病、MS、SLE 有保护作用^[45-50]。而多项研究发现,*TNFAIP3* 的遗传变异也与 SLE、RA、MS、银屑病、SS、BD 等 AIDs 相关,rs2230926 是 SLE 和 SS 的共有变异位点,作为 NF- κ B 途径的重要负反馈调节因子,rs2230926 异常导致 NF- κ B 通路的失控,可能参与 AIDs 的发生发展^[51-52]。而 BD 的易感因子 *ERAP1* 的变异位点 rs30187 与银屑病和 MS 的遗传易感性有关联,其能够调控 MHC I 类分子的表达,还有助于释放炎性细胞因子的膜结合受体,通过对抗原的处理和提呈及影响肽修剪参与机体免疫应答^[53-54]。*MSH5* 也被发现在 SLE、MS 及 SS 中发挥作用,其变异使得调节失调可能导致相关疾病易感性,但具体机制还需更深入研究来证实^[13,55-56]。由此可见 AIDs 共享的疾病易感基因可能对疾病的发生发展有相同的作用机制,对这些变异的鉴定将促进我们对 AIDs 的进一步认识,为今后的研究提供新的思路。

7 小结与展望

综上所述,WES 在多种 AIDs 中的使用已新鉴定了多个疾病独有或共有的遗传变异,这些变异位点通过各种不同的途径参与疾病的发生发展,对 AIDs 的发生发展提出了新机制。但是,这些相关联的遗传变异如何参与 AIDs 发生发展的具体分子机制,尚未完全阐明,有待于进一步的研究。随着测序技术的进步及广泛应用,WES 将来可能有望与蛋白组学、表观遗传学等多组学联合测序,辅以细胞成像技术、原位杂交、免疫组织化学等技术,促进对

复杂疾病中基因异常表达调控机制及后续修饰的认识,为 AIDs 的预防、早期诊断、监测、治疗及临床预后提供重要的参考。

参考文献:

[1] Wang Y, Chen S, Chen J, et al. Germline genetic patterns underlying familial rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and primary Sjögren’s syndrome highlight T cell-initiated autoimmunity [J]. Ann Rheum Dis, 2020, 79(2): 268-275.

[2] Li G, Li Y, Liu H, et al. Genetic heterogeneity of pediatric systemic lupus erythematosus with lymphoproliferation [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(20): e20232.

[3] 杜娟,姚新生,于红松. HLA 基因与常见自身免疫病相关性研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(1): 118-122, 128.

[4] Kwiatkowska B, Maslinska M. The place of omega-3 and omega-6 acids in supplementary treatment of inflammatory joint diseases [J]. Reumatologia, 2020, 58(1): 34-41.

[5] Richard-Miceli C, Criswell LA. Emerging patterns of genetic overlap across autoimmune disorders [J]. Genome Med, 2012, 4(1): 6.

[6] Zhernakova A, Van Diemen CC, Wijmenga C. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(1): 43-55.

[7] Solovieff N, Cotsapas C, Lee PH, et al. Pleiotropy in complex traits: challenges and strategies [J]. Nat Rev Genet, 2013, 14(7): 483-495.

[8] Zhernakova A, Withoff S, Wijmenga C. Clinical implications of shared genetics and pathogenesis in autoimmune diseases [J]. Nat Rev Endocrinol, 2013, 9(11): 646-659.

[9] 卜李那,赵毅强. 全基因组关联分析及其扩展方法的研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(1): 150-158.

[10] 周泽文,张若昕,魏庆义,等. 肝细胞癌全基因组关联分析研究进展及展望 [J]. 中国癌症防治杂志, 2020, 12(1): 6-13.

[11] 饶书权,杜廷福,许琪. 外显子组测序在人类疾病中的应用

- [J]. 遗传, 2014, 36(11): 1077-1086.
- [12] 刘发娣, 洪葵. 全基因组与外显子组测序的应用评估 [J]. 临床检验杂志, 2016, 34(5): 385-387.
- [13] Shen Q, Lee K, Han SK, et al. Variants at potential loci associated with Sjogren's syndrome in Koreans: A genetic association study [J]. Clin Immunol, 2019, 207: 79-86.
- [14] 宗奕岑, 胡承, 贾伟平. 全外显子测序在糖尿病中的应用 [J]. 自然杂志, 2019, 41(6): 439-443.
- [15] Batu ED, Kosukeu C, Taskiran E, et al. Whole Exome Sequencing in Early-onset Systemic Lupus Erythematosus [J]. J Rheumatol, 2018, 45(12): 1671-1679.
- [16] 邝少松, 杨林, 严家荣, 等. 系统性红斑狼疮 MRL/lpr 小鼠的免疫作用机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(4): 38-42.
- [17] 李春梅. ITGAM 基因单核苷酸多态性与中国汉族系统性红斑狼疮的相关性分析 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- [18] 李国民, 刘海梅, 钱琰琰, 等. NRAS 基因突变致系统性红斑狼疮 1 例并文献复习 [J]. 中国循证儿科杂志, 2017, 12(6): 452-456.
- [19] 李国民, 刘海梅, 张涛, 等. 赖氨酸尿性蛋白耐受不良 1 家系 (1 例合并系统性红斑狼疮) 报告并文献复习 [J]. 中国循证儿科杂志, 2017, 12(3): 190-195.
- [20] 李扬秋. A20 的免疫调节作用及其临床意义 [J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(4): 851-856.
- [21] Maxwell MJ, Tsantikos E, Kong AE, et al. Attenuation of phosphoinositide 3-kinase δ signaling restrains autoimmune disease [J]. J Autoimmun, 2012, 38(4): 381-391.
- [22] Al-mayouf SM, Altassan RS, Alowain MA. Systemic lupus erythematosus in a girl with PTEN variant and transaldolase deficiency: a novel phenotype [J]. Clin Rheumatol, 2020, 39(11): 3511-3515.
- [23] Jiang SH, Athanasopoulos V, Ellyard JI, et al. Functional rare and low frequency variants in BLK and BANK1 contribute to human lupus [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2201.
- [24] Cieslinski JZ, Goeldner I, Skare TL, et al. Mannose-binding lectin deficiency and miscarriages in rheumatoid arthritis [J]. Autoimmunity, 2017, 50(7): 409-413.
- [25] Bang SY, Na YJ, Kim K, et al. Targeted exon sequencing fails to identify rare coding variants with large effect in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(5): 447.
- [26] 惠彩霞, 曾本华, 刘晓飞, 等. 基于无菌动物研究肠道微生物与类风湿关节炎发病相关性 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(6): 667-670, 675.
- [27] Hashiramoto A, Konishi Y, Murayama K, et al. A variant of death-receptor 3 associated with rheumatoid arthritis interferes with apoptosis-induction of T cell [J]. J Biol Chem, 2018, 293(6): 1933-1943.
- [28] Okada Y, Diogo D, Greenberg JD, et al. Integration of sequence data from a Consanguineous family with genetic data from an outbred population identifies PLB1 as a candidate rheumatoid arthritis risk gene [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e87645.
- [29] Wang N, Zhang Q, Jing X, et al. The Association Between MUC5B mutations and clinical outcome in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease: a retrospective exploratory study in China [J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e920137.
- [30] Wang H, Pardeshi LA, Rong X, et al. Novel variants identified in multiple sclerosis patients from southern China [J]. Front Neurol, 2018, 9: 582.
- [31] Kattimani Y, Veerappa AM. Dysregulation of NRXN1 by mutant MIR8485 leads to calcium overload in pre-synapses inducing neurodegeneration in Multiple sclerosis [J]. Mult Scler Relat Disord, 2018, 22: 153-156.
- [32] Deeba E, Koptides D, Lambrianides A, et al. Complete sequence analysis of human toll-like receptor 3 gene in natural killer cells of multiple sclerosis patients [J]. Mult Scler Relat Disord, 2019, 33: 100-106.
- [33] Gil-Varea E, Fedetz M, Eixarch H, et al. A new risk variant for multiple sclerosis at 11q23.3 locus is associated with expansion of CXCR5⁺ circulating regulatory T cells [J]. J Clin Med, 2020, 9(3): 625.
- [34] Kuang YH, Lu Y, Yan KX, et al. Genetic polymorphism predicting Methotrexate efficacy in Chinese patients with psoriasis vulgaris [J]. J Dermatol Sci, 2019, 93(1): 8-13.
- [35] Li X, Li J, Lu F, et al. Role of SPRED1 in keratinocyte proliferation in psoriasis [J]. J Dermatol, 2020, 47(7): 735-742.
- [36] 王昌媛, 张洪英, 曲才杰. MicroRNAs 在银屑病发病机制中的研究进展 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2020, 36(3): 189-192.
- [37] 孙广青. 基于外显子测序的银屑病致病基因研究及早筛模型探索 [D]. 广东: 华南理工大学, 2019.
- [38] Signa S, Campione E, Rusmini M, et al. Whole exome sequencing approach to childhood onset familial erythrodermic psoriasis unravels a novel mutation of CARD14 requiring unusual high doses of ustekinumab [J]. Pediatr Rheumatol Online J, 2019, 17(1): 38.
- [39] Carlsson H, Petersson S, Enerbäck C. Cluster analysis of S100 gene expression and genes correlating to psoriasis (S100A7) expression at different stages of breast cancer development [J]. Int J Oncol, 2005, 27(6): 1473-1481.
- [40] 杜蒙. 原发性干燥综合征易感基因与子痫前期候选基因的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [41] 王启迪, 杜蒙, 安莉莎, 等. 外显子组测序探究原发性干燥综合征相关基因 [J]. 免疫学杂志, 2019, 35(11): 997-1002.
- [42] Dimopoulou C, Lundgren JD, Sundal J, et al. Variant in ERAP1 promoter region is associated with low expression in a patient with a Behcet-like MHC-I-opathy [J]. J Hum Genet, 2020, 65(3): 325-335.
- [43] Ognenovski M, Renauer P, Gensterblum E, et al. Whole exome sequencing identifies rare protein-coding variants in Behcet's disease [J]. Arthritis Rheumatol, 2016, 68(5): 1272-1280.