·综述·

非综合征型单纯腭裂遗传流行病学研究进展

薛恩慈[1]　王斯悦[1]　郑鸿尘[1]　王梦莹[1]　王雪珩[1]　陈曦[1]　江锦[1]　李静[2]　李楠[2]
周治波[2]　朱洪平[2]　吴涛[1]
[1]北京大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系 100191；[2]北京大学口腔医院儿科/颌面外科 100081
通信作者：吴涛，Email：twu@bjmu.edu.cn

【摘要】 单纯腭裂是一种较为常见的出生缺陷，其中非综合征型单纯腭裂（NSCPO）占 50%。NSCPO 是受遗传和环境共同作用的复杂疾病，与非综合征型唇裂伴或不伴腭裂（NSCL/P）不同，通过全基因组关联研究发现的与 NSCPO 相关的常见遗传变异相对较少。本文对 NSCPO 的遗传流行病学研究进展进行综述。根据现有研究证据将已发现的 NSCPO 候选基因分为研究证据比较充分的候选基因、具备一定研究证据的候选基因和现有研究证据较少的候选基因三类，展望了表观遗传学研究、新一代测序技术、交互作用分析在 NSCPO 病因探索中的应用，为进一步开展病因学研究提供线索。

【关键词】 单纯腭裂；　非综合征型单纯腭裂；　遗传易感因素
基金项目：国家自然科学基金（81102178，81573225）；北京市自然科学基金（7172115）

Progress in genetic epidemiology of non-syndromic cleft palate only

Xue Enci[1], Wang Siyue[1], Zheng Hongchen[1], Wang Mengying[1], Wang Xueheng[1], Chen Xi[1], Jiang Jin[1], Li Jing[2], Li Nan[2], Zhou Zhibo[2], Zhu Hongping[2], Wu Tao[1]
[1]Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; [2]Department of Pediatrics/Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Stomatology, Peking University, Beijing 100081, China
Corresponding author: Wu Tao, Email:twu@bjmu.edu.cn

【**Abstract**】 One of the most common birth defects is cleft palate only (CPO) of which non-syndromic cleft palate only (NSCPO) accounts for 50%. NSCPO is a complex disease where multiple genes and environmental factors contribute to its risk. Unlike non-syndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL/P), previous genome-wide association studies only identified a few common genetic variations achieving genome-wide significance. This review summarizes the recent findings on genetic epidemiology of NSCPO. According to the current evidence, the candidate genes are divided into three categories: candidate genes with strong evidence, candidate genes with suggestive evidence, and candidate genes with inadequate evidence. The findings of epigenetic studies, the next generation sequencing studies, interaction analysis on NSCPO are also reviewed.

【**Key words**】 Cleft palate only;　Non-syndromic cleft palate only;　Genetic risk factors
Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81102178, 81573225); Beijing Municipal Natural Science Foundation (7172115)

唇腭裂（oral clefts）是在胚胎发育过程中颌腭组织发育不全或发育受阻所导致的一组颌面部先天畸形[1]。根据解剖部位可将唇腭裂划分为单纯唇裂（cleft lip only，CLO），单纯腭裂（cleft palate only，CPO）以及唇裂伴腭裂（cleft lip with palate，CLP）[2]。通常因为胚胎起源和流行病学特征的相似性，将 CLO 和 CLP 合并称为唇裂伴或不伴腭裂（cleft lip with or without cleft palate，CL/P）[3]。CL/P 的患病率高于 CPO，CPO 的总体患病率约为 1/2 500 活产儿，我国为 0.26/

DOI：10.3760/cma.j.cn112338-20200409-00545
收稿日期　2020-04-09　　**本文编辑**　李银鸽
引用本文：薛恩慈，王斯悦，郑鸿尘，等. 非综合征型单纯腭裂遗传流行病学研究进展[J]. 中华流行病学杂志，2021，42(6): 1133-1138. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200409-00545.

1 000活产儿，男女性别比为1∶2[4]。此外，唇腭裂还可分为综合征型与非综合征型两类，非综合征型唇腭裂（non-syndromic oral clefts，NSOC）患儿不伴有其他畸形或异常，是受多基因影响的疾病。NSOC相对于综合征型更为常见，约70%的CL/P患者和50%的CPO患者为非综合征型。最近一项Meta分析结果显示我国NSOC患病率约为1.67/1 000（95%*CI*：1.53/1 000~1.82/1 000），其中非综合征型单纯腭裂（mon-syndromic cleft palate only，NSCPO）亚型患病率为0.27/1 000（95%*CI*：0.24/1 000~0.30/1 000）[5]。腭裂患者不仅有软组织畸形，大部分患者还可伴有不同程度的骨组织缺损和畸形，在吮吸、进食及语言等生理功能障碍方面比唇裂严重。NSCPO所造成的多种生理功能及心理障碍，特别是语言功能障碍和牙错乱，会对患者的日常生活、学习、工作带来不利影响。不仅如此，既往研究表明NSCPO会增加患者全死因死亡风险[6]。

唇组织和初级腭、次级腭有不同的发育起源，且CPO、CLO和CLP的表型也不相同，有研究证实NSOC的各个亚型可能有不同的遗传病因[7-8]。然而目前研究证据大多针对非综合征型唇裂伴或不伴腭裂（non-syndromic cleft lip with or without cleft palate，NSCL/P）这一混合亚型，NSCPO这一特定亚型的遗传病因在以往的探索中较少被单独研究。全基因组关联研究（genome-wide association study，GWAS）是复杂疾病致病基因的高效定位方法。通过GWAS已经至少发现了43个与NSCL/P相关的位点达到了全基因组显著性（$P<5\times10^{-8}$），而GWAS发现的NSCPO的遗传位点非常有限，其结果总结见表1。因此，本文将对既往发现与NSCPO亚型相关的遗传病因发现进行综述，为后续开展病因学研究提供线索。

一、NSCPO的遗传危险因素

NSCPO患者存在明显的家族聚集性。双生子研究中发现同卵双生子的发病一致率高于异卵双生子，NSCPO的遗传度为90%[13]。挪威的一项研究表明[14]，有家族史的一级亲属发生NSCPO的风险是一般人群的56倍。另有研究显示[15]，这种风险会随着亲缘系数的降低而显著降低。目前对NSCPO遗传危险因素的探索研究主要包括：GWAS、候选基因验证研究、全基因组测序（whole genome sequencing，WGS）、全外显子测序（whole exome sequencing，WES）、动物模型和功能实验等。本文将目前发现的与NSCPO相关联的遗传基因分为研究证据比较充分的候选基因、具备一定研究证据的候选基因和现有研究证据较少的候选基因3类，其结果见表2。

1. 研究证据比较充分的候选基因：这类基因现有的研究证据包括：GWAS和/或Meta分析研究发现其与NSCPO的发病风险显著关联；人群中有高质量的研究验证其阳性关联；有表达分析、动物模型等研究支持其生物学功能。此类候选基因有*GRHL3*和*IRF6*。

（1）果蝇头状因子3基因（grainyhead like transcription factor 3，*GRHL3*）：*GRHL3*位于染色体1p36.11，是果蝇头状因子基因家族的一员，所编码的转录因子在胚胎发育过程中能够发挥关键的调控作用[16]。Leslie等[10]2016年基于欧洲人群中78个NSCPO病例，1 700个正常对照以及165个NSCPO核心家系开展了GWAS，研究发现*GRHL3*的rs41268753（$P=4.08\times10^{-9}$）达到了全基因组显著水平。该研究亦报道了独立人群验证结果，在欧洲人群246个NSCPO

表1　GWAS发现的NSCPO危险等位基因

参考文献	发表时间	研究类型	样本量	研究人群	NSCPO候选基因
Beaty等[9]	2011年	家系研究	550（先证者-父母）	欧洲、亚洲、非洲等	无
Leslie等[10]	2016年	家系研究 病例对照	165（先证者-父母） 78/1 700（病例/对照）	欧洲、亚洲、美洲等	*GRHL3*
Leslie等[11]	2017年	Meta分析	78/1 700（病例/对照） 616（先证者-父母）	欧洲、亚洲、非洲、美洲等	*GRHL3*
Butali等[12]	2019年	病例对照	205/2 159（病例/对照）	非洲	*CTNNA2*
Huang等[7]	2019年	病例对照	930/5 068（病例/对照） 724/3 265（病例/对照） 417/1 832（病例/对照）	中国南方、北方	*GRHL3*、*POMGNT2*、*WHSC1*、*DOCK9*、*PAX9*、*DLK1*、*FOXC2*、*FOXL1*、*MAU2*
合计			2 071/10 16		

表2　部分NSCPO候选基因的既往研究证据

候选基因	染色体区域	GWAS和/或Meta分析	独立样本验证研究/候选基因研究	表达分析及动物模型
GRHL3	1p36.11	√[10-11]	√[18]	√[10,19-20]
IRF6	1q32.2	√[7-8]	√[24-26]	√[7,27-28]
PAX9	14q13.3	√[7]		√[30-31]
CTNNA2	2p12	√[12]		√[32]
PAX7	1p36.13		√[33]	
SYT14	1q32.2		√[33]	

注：√表示发现相关研究结果，参见文献

患者/1 685 个正常对照中进行验证，结果发现 rs41265753（P=2.8×10^{-4}）依然达到了校正后的显著性水平。荧光素酶活性实验中，rs41268753 突变型 *GRHL3* 活性约为野生型的三分之一。斑马鱼胚胎实验结果显示 rs41268753 这一突变干扰了周皮的发育。这为 rs41265753 变异导致 NSCPO 发生的生物学机制提供了线索。2017 年对 Beaty 等[9]和 Leslie 等[10]发表的 GWAS 结果进行 Meta 分析[11]，在 NSCPO 亚型分析中共纳入了 78 个 NSCPO 病例，1 700 个正常对照以及 616 个 NSCPO 核心家系。结果显示，*GRHL3* 的 rs41268753 经 Meta 分析后达到了全基因组显著水平。Eshete 等[17]2018 年对来自非洲 3 个国家 134 个 NSCPO 核心家系和 270 个正常对照的 *GRHL3* 进行外显子测序以识别可能的罕见变异，结果发现了 5 个在对照组和公开外显子数据库、全基因组数据库中均不存在的新发变异（2 个错义突变、1 个移码突变、1 个无义突变、1 个剪切位点）。2016 年 Mangold 等[18]对 69 个 NSCPO 患者的 *GRHL3* 编码区进行测序，并将结果与公开数据库进行对比，结果发现 18 个常见变异和 12 个罕见变异，其中 rs41268753 的 P 值最显著。为了验证这一结果，在 3 个不同的病例对照研究中（47/187、94/177、51/94）进行测序并与 2011 年 Beaty 等[9]发表的 GWAS 数据合并进行 Meta 分析，结果发现 rs41268753（P=2.73×10^{-9}）达到了全基因组显著性。同时已有小鼠、斑马鱼等动物模型发现 *GRHL3* 与 NSCPO 等先天畸形有关[19-20]。

（2）干扰素调节因子 6 基因（interferon regulatory factor 6，*IRF6*）：*IRF6* 位于染色体 1q32.2，该基因编码干扰素调节转录因子（IRF）家族的一个成员。其变异与唇腭裂的关联已在多个研究中得到证实[21-23]。值得注意的是，近年来研究表明 *IRF6* 这一基因与 NSCPO 亚型也存在显著关联。2008 年 Rahimov 等[24]发现 *IRF6* 上的 rs2235371 和 rs642961 组成的单体型与 NSCL/P 有关，并在亚型中进行验证，结果显示在大多数人群中该单体型对 NSCPO 和非综合征型单纯唇裂作用方向是相反的。2010 年 Nikopensius 等[25]在 104 个 NSCPO 病例/606 个正常对照中对 GWAS 及其他研究中发现的 40 个 NSOC 候选基因进行验证，研究发现 *IRF6*（rs17389541）与 NSCPO 发生有关。2016 年 Yu 等[8]对中国人群共计 7 404 名病例/16 059 名正常对照进行 GWAS，在验证阶段发现 *IRF6* 上的 rs861020 在 NSCPO 和 NSCLO 亚型的作用方向是相反的。2018 年 Gurramkonda 等[26]对来源于印度人群的 176 名 NSCPO 病例/176 名正常对照进行研究，发现 *IRF6* 内含子区域的 rs2235375 与 NSCPO 亚型有关而与 NSCLO 无关。2019 年 Huang 等[7]在中国人群中通过多阶段的 GWAS 设计并经 Meta 分析发现 *IRF6* 上的 rs12405750 与 NSCPO 有关（P=8.8×10^{-11}）。同时研究发现，该位点的不同等位基因对 NSCPO 和 NSCLO 亚型作用是相反的。继而在 64 名 NSCPO 患者和 49 名 NSCLO 患者中探索 *IRF6* 的表达情况，发现相对较低的 *IRF6* 表达水平是 NSCPO 的危险因素，是 NSCLO 的保护因素。在小鼠模型中同样发现 *IRF6* 的表达量对腭组织发育影响显著[27]。Ke 等[28]通过对小鼠腭组织培养发现 *IRF6* 在腭组织融合过程中起到重要作用。以上多个研究表明，*IRF6* 的表达量对 NSCPO 和 NSCLO 亚型的作用方向相反，未来仍需在人群中对 *IRF6* 开展高质量的验证研究确认其与 NSCPO 亚型的关系，并开展其表达量及相关调控基因对不同 NSOC 亚型影响的确证性研究。

2. 具备一定研究证据的候选基因：这类基因现有的研究证据包括：GWAS 和/或 Meta 分析研究发现其与 NSCPO 的发病风险显著关联；表达分析、动物模型等研究支持其生物学功能；但人群中尚缺乏高质量的研究验证其阳性关联。此类候选基因有 *PAX9* 和 *CTNNA2*。

（1）配对盒基因 9（paired box 9，*PAX9*）：*PAX9* 位于染色体 14q13.3，其作为 PAX 基因家族的一员，所编码的转录因子在胚胎发育中的作用至关重要，主要参与颅面和肢体的发育，与牙齿的发生、分化密切相关[29]。Huang 等[7]多阶段 GWAS 并经 Meta 分析后发现 *PAX9* 的 rs730643（P=2.92×10^{-16}）、rs2415363（P=2.76×10^{-14}）、rs60708031（P=4.39×10^{-15}）达到了全基因组显著性。Maguire 等[30]研究发现 *SLA25A* 缺失的小鼠可以通过降低 *PAX9* 的表达导致 NSCPO 的发生。Li 等[31]在小鼠模型中研究发现 *PAX9* 缺陷的胚胎在腭架抬高、重新定向方面存在缺陷，其透明质酸（一种参与腭架抬高的高分子细胞外基质糖胺聚糖）的积累显著减少，并发现 Wnt 信号通路在 *PAX9* 介导的腭二次发育调控中发挥了重要作用。*PAX9* 与 NSCPO 的关联未来仍需要在人群中开展高质量研究进行验证。

（2）连环蛋白 α2 基因（catenin alpha 2，*CTNNA2*）：*CTNNA2* 位于染色体 2p12，是与经典钙黏蛋白相关的细胞骨架组分连环蛋白家族的成员。2019 年 Butali 等[12]开展了第一个非洲人群的 NSCPO 亚型 GWAS。研究为两阶段设计，包括 205 个 NSCPO 病例和 2 159 个正常对照。在发现阶段 *CTNNA2* 上的 rs80004662（P=7.41×10^{-9}）达到了全基因组显著性，经过验证阶段并经 Meta 分析后发现 *CTNNA2* 上的 rs80004662（P=7.29×10^{-9}）和 rs113691307（P=7.33×10^{-9}）均达到了全基因组显著性。同时该研究发现 *CTNNA2* 会在小鼠胚胎第 14.5 天的口腔结构中表达。另有研究表明 *CTNNA2* 在小鸡中的直系同源基因与神经嵴迁移过程有关[32]。2019 年 Huang 等[7]在中国人群中开展的 GWAS 注意到了该基因，但研究所用的检测芯片没有覆盖到 *CTNNA2* 的位点。虽然动物模型发现 *CTNNA2* 与细胞骨架成分密切相关，在生长发育过程中起到关键作用，并且在 GWAS 研究中得到阳性结果，但人群中尚缺乏高质量的大样本研究证实其与 NSCPO 的关联。

3. 现有研究证据较少的候选基因：这类基因现有的研究证据包括①人群中有个别研究报道其与 NSCPO 存在关联；②表达分析、动物模型等研究支持其生物学功能的研究较少或尚无。此类候选基因有 *PAX7*、*SYT14*、*ARHGAP29*、*DLK1*、*POMGNT2*、*WHSC1*、*DOCK9*、*KLHDC4* 等。

Duan 等[33]在已发表的 GWAS 研究中挑选了 38 个位点，

在中国汉族人群144个NSCPO核心家系中进行验证。研究发现*PAX7*上的rs742071和*SYT14*的rs2485893与NSCPO有关。Liu等[34]对一个家系中5名NSCPO患者进行WES研究，发现*ARHGAP29*是NSCPO的一个重要候选基因。该基因在颌面组织中高度表达，并用多个功能实验证实了这一发现。在小鼠原位杂交和免疫荧光染色研究中发现，*ARHGAP29*在唇腭组织形成过程中起到重要作用[35]。Huang等[7]所开展的中国人群NSOC GWAS通过多阶段设计并结合生物信息学分析对所发现的基因进行基因本体富集和生物通路富集，最终在NSCPO亚型中共发现了11个达到了全基因组显著水平的基因，其中有10个是没有被发现过的，包括*DLK1*、*POMGNT2*、*WHSC1*、*DOCK9*、*KLHDC4*等。目前还没有其他人群研究验证这些基因与NSCPO的关联，未来还需要对这些现有证据较少的候选基因开展进一步的确证性研究。

二、前景与挑战

目前发现的与NSCPO相关联的基因位点仅能解释很小的一部分遗传度，还有“消失”的遗传度没有得到合理解释[11]。可能有以下三方面原因：一方面其余未被解释的部分可能是通过表观遗传机制作用的；另一方面NSCPO的发生可能是由诸多具有微小效应的遗传位点共同作用所致，而现有研究仅发现了其中一小部分。还有可能NSCPO是由一些罕见变异位点所致，常见的GWAS等研究无法检测这类变异。探寻这些尚未发现的变异位点需要在更大的样本量中应用新的测序技术；此外，NSCPO可能是由基因和基因交互作用、基因-环境交互作用所致。已有研究发现基因-基因交互作用以及基因-环境交互作用会增加NSCPO的发生风险。

1. 表观遗传学：是研究DNA序列不发生改变的情况下，生物表型和基因表达模式发生改变的学科，涵盖内容包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑、非编码RNA等。表观遗传学研究发现除了基因组DNA外，一些不影响DNA序列的基因组修饰也会影响个体的发育。虽然通过GWAS、WES、目标区域测序等研究发现了一些和NSCPO发生有关的基因位点，但是这些基因仅能解释总遗传风险中较少一部分，未被解释的一部分可能是通过表观遗传机制作用的。表观遗传学调控机制对细胞分化至关重要，这一过程在每个特定生物体的细胞水平是高度保守的。当这种高度保守的过程直接或间接地受到外部环境影响时，就会导致基因表达的改变，从而导致功能的改变。目前NSCPO相关的表观遗传学研究主要集中在DNA甲基化和微小RNA（microRNAs，miRNAs）与NSCPO发生的关系上。DNA甲基化能关闭某些基因的活性，而DNA去甲基化则诱导了基因的重新活化。既往机制研究通过动物模型发现不同基因甲基化水平和腭裂发生之间存在关系[36-39]，但在人群中开展的DNA甲基化和NSCPO之间的关系的研究较少。有研究通过生物信息学手段研究DNA甲基化水平与NSCL/P之间的关系[40]，但尚未发现有针对NSCPO亚型的类似研究。Sharp等[41]对150名唇腭裂儿童（其中NSCPO 50例）进行表观基因组关联研究（epigenome-wide association studies，EWAS），发现NSOC各个亚型之间甲基化水平存在差异。NSCPO与NSCLP相比发现有17个基因片段（82个位点）甲基化水平存在差异，NSCPO与NSCLO相比发现有294个基因片段（1 063个位点）甲基化水平存在差异。Joubert等[42]研究表明，新生儿DNA甲基化水平和母亲孕期吸烟存在关联。进一步推测吸烟等NSCPO发生的环境危险因素可能是通过影响DNA甲基化水平导致NSCPO的发生。另外也有在人群中开展的关于miRNAs和NSCPO之间关系的研究。Schoen等[43]将5个NSCPO患者和10个年龄相仿的对照进行比较，研究发现成纤维细胞miRNAs的表达在两组之间存在差异，hsa-miR-93-5p等3个miRNAs在NSCP患者中表达上调，hsa-miR-29c-5p等6个miRNAs在NSCP患者中表达下调。未来可以对NSCPO这一亚型开展大样本量的研究以发现可能的表观遗传学病因。

2. 新一代测序技术的应用：由于GWAS理论基础是常见疾病可以归因于人群弱势等位基因频率（minor allele frequency，MAF）大于1%的常见遗传变异，其从理论设计上无法发现频率低但却具有较大致病效应的罕见遗传变异以及新发突变[44]。在传统GWAS中，纳入检测和分析的位点是MAF大于1%~5%的位点，大多数频率低于1%的位点并未被检测或未被纳入分析，然而Kido等[45]研究发现风险等位基因往往富集在弱势等位基因（minor allele）中，尤其是在MAF较低的罕见变异中。随着新一代测序技术的迅速发展、测序费用降低和时间缩短，使得二代测序等技术在大规模人群中的运用成为现实。目前发现的NSCPO候选基因位点大多位于蛋白质非编码区内，所以对人类整个基因组开展WGS将为NSCPO的病因学研究提供了新的可能。与GWAS相比，WGS具有更高的覆盖均匀性，可以更好地识别拷贝数变异、基因融合等罕见变异。此外，WGS还覆盖基因组内含子、启动子、非编码区和调控元件等非编码区域。虽然存在成本高、所需时间长以及产生的数据容量较大等局限性，WGS还没有得到广泛的应用，但WGS在基因组覆盖以及富集策略等方面仍然占有一定优势。出生缺陷领域中，2018年Zhu等[46]在肺动脉高压合并先天性心脏病的病例中进行WGS，研究发现参与Wnt和Notch信号通路的*SOX17*上存在罕见变异并能够解释约3.2%的病例。目前在NSOC中，已有对NSCLP的WGS[47]，尚未发现针对NSCPO亚型的WGS发表。未来针对NSCPO亚型开展的WGS为探索其未被解释的遗传度提供了新的机遇。

3. 基因-基因交互作用、基因-环境交互作用：基因与发育过程中环境危险因素暴露之间可能存在相互作用，进而导致了NSCPO的发生。一项包含5项病例对照研究的Meta分析研究发现*TGFA*与吸烟在导致NSCPO发生可能存在基因环境交互作用[48]。既往有研究发现叶酸补充在人群中对唇腭裂有预防作用[49-50]。Beaty等[9]2011年在GWAS中考虑了包括叶酸在内的多种维生素补充，同时也纳入母亲孕期

被动吸烟、饮酒共三项环境因素，探讨基因-环境交互作用。研究发现在NSCPO亚型的患者中*BAALC*和维生素补充之间存在交互作用，*TBK1*、*ZNF236*与母亲孕期被动吸烟之间存在交互作用，*MLLT3*和*SMC2*基因与母亲饮酒存在交互作用。Wu等[51]在亚洲和欧中人群中做了相似的研究，发现*SLC2A9*基因上的rs3733585、rs12508991以及*WDR1*基因上的rs6820756、rs7699512这4个位点与母亲孕期被动吸烟这一环境因素可能存在基因-环境交互作用。Nikopensius等[25]对GWAS及其他研究中发现的40个NSOC候选基因验证研究中，发现NSCPO患者中*MSX1*和*BMP2*，*FGF1*和*PVRL2*，*COL2A1*和*FGF2*之间存在基因-基因交互作用。Duan等[33]在已发表的GWAS研究中挑选了38个位点，在中国汉族人群144个NSCPO家系中进行验证，研究发现*DIEXF*和*SYT14*之间存在基因-基因交互作用。然而上述研究还处在探索阶段，仍缺乏其他独立人群研究、生物学机制研究的验证。未来仍需要在人群中开展相关研究验证其结果。

三、总结与展望

NSCPO为多基因遗传病，遗传和环境因素均会影响其发生风险。与NSCL/P不同，GWAS发现的与NSCPO相关联的位点非常有限，提示NSCPO可能是由多个微效基因位点作用所致，目前的研究结果只能解释NSCPO很小一部分遗传度。后GWAS时代，WES、WGS等新型测序技术开始应用于NSCPO病因学研究中，这将为揭示NSCPO发生的遗传危险因素及其作用机制提供重要证据。复杂疾病的病因学研究不仅需要从统计学意义上发现疾病相关基因，更要揭示基因突变如何参与疾病发生的生物学机制。即便是人群关联证据比较明确的候选基因，今后仍需要继续定位致病位点、阐明其生物学致病机制。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参　考　文　献

[1] Mossey PA, Little J, Munger RG, et al. Cleft lip and palate [J]. Lancet, 2009, 374(9703): 1773-1785. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60695-4.

[2] Leslie EJ, Marazita ML. Genetics of cleft lip and cleft palate [J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2013, 163C(4): 246-258. DOI:10.1002/ajmg.c.31381.

[3] Mangold E, Ludwig KU, Nöthen MM. Breakthroughs in the genetics of orofacial clefting[J]. Trends Mol Med, 2011, 17(12):725-733. DOI:10.1016/j.molmed.2011.07.007.

[4] Cooper ME, Ratay JS, Marazita ML. Asian oral-facial cleft birth prevalence[J]. Cleft Palate Craniofac J, 2006, 43(5): 580-589. DOI:10.1597/05-167.

[5] Fan DZ, Wu SZ, Liu L, et al. Prevalence of non-syndromic orofacial clefts: based on 15 094 978 Chinese perinatal infants[J]. Oncotarget, 2018, 9(17): 13981-13990. DOI: 10.18632/oncotarget.24238.

[6] Christensen K, Juel K, Herskind AM, et al. Long term follow up study of survival associated with cleft lip and palate at birth[J]. BMJ, 2004, 328(7453): 1405. DOI: 10.1136/bmj.38106.559120.7C.

[7] Huang LL, Jia ZL, Shi Y, et al. Genetic factors define CPO and CLO subtypes of nonsyndromicorofacial cleft[J]. PLoS Genet, 2019, 15(10): e1008357. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008357.

[8] Yu YQ, Zuo XB, He M, et al. Genome-wide analyses of non-syndromic cleft lip with palate identify 14 novel loci and genetic heterogeneity[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14364. DOI:10.1038/ncomms14364.

[9] Beaty TH, Ruczinski I, Murray JC, et al. Evidence for gene-environment interaction in a genome wide study of nonsyndromic cleft palate[J]. Genet Epidemiol, 2011, 35(6):469-478. DOI:10.1002/gepi.20595.

[10] Leslie EJ, Liu H, Carlson JC, et al. A genome-wide association study of nonsyndromic cleft palate identifies an etiologic missense variant in GRHL3[J]. Am J Human Genet, 2016, 98(4): 744-754. DOI: 10.1016/j. ajhg. 2016.02.014.

[11] Leslie EJ, Carlson JC, Shaffer JR, et al. Genome-wide meta-analyses of nonsyndromic orofacial clefts identify novel associations between FOXE1 and all orofacial clefts, and TP63 and cleft lip with or without cleft palate[J]. Human Genet, 2017, 136(3):275-286. DOI:10.1007/s00439-016-1754-7.

[12] Butali A, Mossey PA, Adeyemo WL, et al. Genomic analyses in African populations identify novel risk loci for cleft palate[J]. Human Mol Genet, 2019, 28(6):1038-1051. DOI:10.1093/hmg/ddy402.

[13] Grosen D, Bille C, Petersen I, et al. Risk of oral clefts in twins[J]. Epidemiology, 2011, 22(3): 313-319. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3182125f9c.

[14] Sivertsen Å, Wilcox AJ, Skjærven R, et al. Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first degree relatives[J]. BMJ, 2008, 336(7641):432-434. DOI:10.1136/bmj.39458.563611.AE.

[15] Grosen D, Chevrier C, Skytthe A, et al. A cohort study of recurrence patterns among more than 54 000 relatives of oral cleft cases in Denmark: support for the multifactorial threshold model of inheritance[J]. J Med Genet, 2010, 47(3):162-168. DOI:10.1136/jmg.2009.069385.

[16] Carpinelli MR, de Vries ME, Jane SM, et al. Grainyhead-like transcription factors in craniofacial development[J]. J Dental Res, 2017, 96(11): 1200-1209. DOI: 10.1177/0022034517719264.

[17] Eshete MA, Liu H, Li M, et al. Loss-of-function GRHL3 variants detected in African patients with isolated cleft palate[J]. J Dent Res, 2018, 97(1): 41-48. DOI: 10.1177/0022034517729819.

[18] Mangold E, Böhmer AC, Ishorst N, et al. Sequencing the GRHL3 coding region reveals rare truncating mutations and a common susceptibility variant for nonsyndromic Cleft Palate[J]. Am J Hum Genet, 2016, 98(4): 755-762. DOI:10.1016/j.ajhg.2016.02.013.

[19] Peyrard-Janvid M, Leslie EJ, Kousa YA, et al. Dominant mutations in GRHL3 cause Van der Woude Syndrome and disrupt oral periderm development[J]. Am J Human Genet, 2014, 94(1):23-32. DOI:10.1016/j.ajhg.2013.11.009.

[20] Dworkin S, Simkin J, Darido C, et al. Grainyhead-like 3 regulation of endothelin-1 in the pharyngeal endoderm is critical for growth and development of the craniofacial skeleton[J]. Mechan Dev, 2014, 133:77-90. DOI:10.1016/j.mod.2014.05.005.

[21] Birnbaum S, Ludwig KU, Reutter H, et al. Key susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24[J]. Nat Genet, 2009, 41:473-477. DOI:10.1038/ng.333.

[22] Mangold E, Ludwig KU, Birnbaum S, et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. Nat Genet, 2010, 42(1):24-26. DOI:10.1038/ng.506.

[23] Beaty TH, Murray JC, Marazita ML, et al. A genome-wide association study of cleft lip with and without cleft palate identifies risk variants near MAFB and ABCA4[J]. Nat Genet, 2010, 42(6):525-529. DOI:10.1038/ng.580.

[24] Rahimov F, Marazita ML, Visel A, et al. Disruption of an AP-2α binding site in an IRF6 enhancer is associated with

cleft lip[J]. Nat Genet, 2008, 40(11): 1341-1347. DOI: 10.1038/ng.242.
[25] Nikopensius T, Jagomägi T, Krjutškov K, et al. Genetic variants in COL2A1, COL11A2, and IRF6 contribute risk to nonsyndromic cleft palate[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2010, 88(9):748-756. DOI:10.1002/bdra.20700.
[26] Gurramkonda VB, Syed AH, Murthy J, et al. IRF6 rs2235375 single nucleotide polymorphism is associated with isolated non-syndromic cleft palate but not with cleft lip with or without palate in South Indian population [J]. Brazil J Otorhinolaryngol, 2018, 84(4): 473-477. DOI: 10.1016/j.bjorl.2017.05.011.
[27] Iwata JI, Suzuki A, Pelikan RC, et al. Smad4-Irf6 genetic interaction and TGFβ -mediated IRF6 signaling cascade are crucial for palatal fusion in mice[J]. Development, 2013, 140(6):1220-1230. DOI:10.1242/dev.089615.
[28] Ke CY, Xiao WL, Chen CM, et al. IRF6 is the mediator of TGFβ3 during regulation of the epithelial mesenchymal transition and palatal fusion[J]. Sci Rep, 2015, 5: 12791. DOI:10.1038/srep12791.
[29] Phan M, Conte F, Khandelwal KD, et al. Tooth agenesis and orofacial clefting: genetic brothers in arms? [J]. Human Genet, 2016, 135(12): 1299-1327. DOI: 10.1007/s00439-016-1733-z.
[30] Maguire S, Estabel J, Ingham N, et al. Targeting of Slc25a21 is associated with orofacial defects and otitis media due to disrupted expression of a neighbouring gene [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91807. DOI: 10.1371/journal.pone.0091807.
[31] Li C, Lan Y, Krumlauf R, et al. Modulating Wnt Signaling Rescues Palate Morphogenesis in Pax9 Mutant Mice[J]. J Dental Res, 2017, 96(11): 1273-1281. DOI: 10.1177/0022034517719865.
[32] Jhingory S, Wu CY, Taneyhill LA. Novel insight into the function and regulation of αN-catenin by Snail2 during chick neural crest cell migration[J]. Dev Biol, 2010, 344(2):896-910. DOI:10.1016/j.ydbio.2010.06.006.
[33] Duan SJ, Huang N, Zhang BH, et al. New insights from GWAS for the cleft palate among han Chinese population [J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2017, 22(2): e219-227. DOI:10.4317/medoral.21439.
[34] Liu H, Busch T, Eliason S, et al. Exome sequencing provides additional evidence for the involvement of ARHGAP29 in Mendelian orofacial clefting and extends the phenotypic spectrum to isolated cleft palate[J]. Birth Defects Res, 2017, 109(1):27-37. DOI:10.1002/bdra.23596.
[35] Leslie EJ, Mansilla MA, Biggs LC, et al. Expression and mutation analyses implicate ARHGAP29 as the etiologic gene for the cleft lip with or without cleft palate locus identified by genome-wide association on chromosome 1p22[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2012, 94(11):934-942. DOI:10.1002/bdra.23076.
[36] Shu X, Shu SY, Zhai YX, et al. Genome-wide DNA methylation profile of gene cis-acting element methylations in all-trans retinoic acid-induced mouse cleft palate[J]. DNA Cell Biol, 2018, 37(12):993-1002. DOI: 10.1089/dna.2018.4369.
[37] Chang KV, Chen JD, Wu WT, et al. Is sarcopenia associated with hepatic encephalopathy in liver cirrhosis? A systematic review and Meta-analysis[J]. J Formosan Med Associat, 2019, 118(4): 833-842. DOI: 10.1016/j.jfma.2018.09.011.
[38] Yuan XG, Qiu L, Pu YL, et al. Histone acetylation is involved in TCDDinduced cleft palate formation in fetal mice[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(2): 1139-1145. DOI: 10.3892/mmr.2016.5348.
[39] Howe LJ, Richardson TG, Arathimos R, et al. Evidence for DNA methylation mediating genetic liability to non-syndromic cleft lip/palate[J]. Epigenomics, 2019, 11(2):133-145. DOI:10.2217/epi-2018-0091.
[40] 赵安达, 黄怡憬, 张海峰, 等. 非综合征型唇腭裂 DNA 甲基化谱的生物信息学分析[J]. 上海口腔医学, 2019, 28(1): 57-62. DOI:10.19439/j.sjos.2019.01.011.
Zhao AD, Huang YJ, Zhang HF, et al. Study on DNA methylation profiles in non-syndromic cleft lip/palate based on bioinformatics[J]. Shanghai J Stomatol, 2019, 28(1):57-62. DOI:10.19439/j.sjos.2019.01.011.
[41] Sharp GC, Ho K, Davies A, et al. Distinct DNA methylation profiles in subtypes of orofacial cleft[J]. Clin Epigenet, 2017, 9:63. DOI:10.1186/s13148-017-0362-2.
[42] Joubert BR, Felix JF, Yousefi P, et al. DNA Methylation in Newborns and Maternal Smoking in Pregnancy: Genome-wide Consortium Meta-analysis[J]. Am J Hum Genet, 2016, 98(4): 680-696. DOI: 10.1016/j. ajhg. 2016.02.019.
[43] Schoen C, Glennon JC, Abghari S, et al. Differential microRNA expression in cultured palatal fibroblasts from infants with cleft palate and controls[J]. Eur J Orthod, 2018, 40(1):90-96. DOI:10.1093/ejo/cjx034.
[44] Reich DE, Lander ES. On the allelic spectrum of human disease[J]. Trends Genet, 2001, 17(9): 502-510. DOI: 10.1016/S0168-9525(01)02410-6.
[45] Kido T, Sikora-Wohlfeld W, Kawashima M, et al. Are minor alleles more likely to be risk alleles?[J]. BMC Med Genom, 2018, 11:3. DOI:10.1016/S0168-9525(01)02410-6.
[46] Zhu N, Welch CL, Wang JY, et al. Rare variants in SOX17 are associated with pulmonary arterial hypertension with congenital heart disease[J]. Genome Med, 2018, 10: 56. DOI:10.1186/s13073-018-0566-x.
[47] Takahashi M, Hosomichi K, Yamaguchi T, et al. Whole-genome sequencing in a pair of monozygotic twins with discordant cleft lip and palate subtypes[J]. Oral Dis, 2018, 24(7):1303-1309. DOI:10.1111/odi.12910.
[48] Zeiger JS, Beaty TH, Liang KY. Oral clefts, maternal smoking, and TGFA: a Meta-analysis of gene-environment interaction[J]. Cleft Palate-Craniof J, 2005, 42(1): 58-63. DOI:10.1597/02-128.1.
[49] Jia ZL, Shi B, Chen CH, et al. Maternal malnutrition, environmental exposure during pregnancy and the risk of non-syndromic orofacial clefts[J]. Oral Dis, 2011, 17(6): 584-589. DOI:10.1111/j.1601-0825.2011.01810.x.
[50] Wilcox AJ, Lie RT, Solvoll K, et al. Folic acid supplements and risk of facial clefts: national population based case-control study[J]. BMJ, 2007, 334(7591): 464. DOI: 10.1136/bmj.39079.618287.0B.
[51] Wu T, Schwender H, Ruczinski I, et al. Evidence of gene-environment interaction for two genes on chromosome 4 and environmental tobacco smoke in controlling the risk of nonsyndromic cleft palate[J]. PLoS One, 2014, 9(2):e88088. DOI:10.1371/journal.pone.0088088.

本刊2021年第2期作者单位名称的更正

本刊2021年第2期“系统综述/Meta分析”栏目中“我国HIV感染者合并感染HBV现况”(第327-334页)一文的通信作者周明浩的单位“江苏省卫生健康委员会”改为“南京医科大学公共卫生学院和江苏省卫生健康委员会”。特此更正。

本刊编辑部