粘连,在粘连松解后,为了预防脑瘢痕再次产生诱发癫痫发作,我们将人工硬脑膜覆盖于脑组织进行隔离。⑤术后至少正规抗癫痫治疗 2 年,定期做 VEEG 随访,根据发作情况与 VEEG 结果调整药物与药量。

外伤性癫痫致痫灶的定位易于其他类型癫痫,且外伤性癫痫致痫灶常较局限,与外伤软化灶有一定关系,在致痫灶准确定位的基础上手术往往可取得良好效果。因此,对于确定为顽固性的外伤性癫痫,无手术禁忌者应积极采取手术治疗。

参考文献:

[1] Pagni C A, Zenga F. Prevention and treatment of post-traumatic epilepsy[J]. Expert Rev Neurother, 2006, 6(8): 1223 - 1233.
[2] Swartz B E, Houser C R, Tomiyasu U, *et al*. Hippocampal cell loss in posttraumatic human epilepsy[J]. Epilepsia, 2006, 47(8): 1373 - 1382.
[3] Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology[J]. Epilepsia, 2001, 42(2): 796 - 803.
[4] 吴国材, 李梅, 吴南, 等. 脑磁图、视频脑电图在癫痫术前评估中的应用[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(11): 1080 - 1083.
[5] Rathore C, Kesavadas C, Ajith J, *et al*. Cost-effective utilization of single photon emission computed tomography (SPECT) in decision making for epilepsy surgery[J]. Seizure, 2011, 20(2): 107 - 114.
[6] 谭启富, 李龄, 吴承远. 癫痫外科学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 777 - 778.
[7] Tellez-Zenteno J F, Hunter G, Wiebe S. Injuries in people with self-reported epilepsy: a population-based study[J]. Epilepsia, 2008, 49(6): 954 - 961.
[8] 吴南, 谢兵, 张久全, 等. fMRI 功能导航下切除汉语运动性语言区附近病变[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2010, 36(1): 34 - 38.
[9] 张久全, 冯华. 脑磁图在语言功能成像中的应用进展[J]. 中华神经外科杂志, 2010, 26(9): 857 - 859.
[10] 谭启富. 癫痫手术治疗的痫灶定位[J]. 临床神经外科杂志, 2009, 6(3): 165 - 168.
[11] 王俊伟, 吴南, 兰川, 等. 皮层电刺激技术在语言区附近病变手术中的应用[J]. 中国临床神经外科杂志, 2010, 15(12): 705 - 708.

(**收稿**:2011-09-25;**修回**:2011-11-02)
(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2012)01-0087-03

短篇论著

甘肃裕固族、东乡族、保安族人群 CD14 基因启动子区 -159C/T 多态性研究

马剑华[1],文建强[2],马恩和[1],张格祥[1],张 莉[1],张小爱[3],王 玉[1] (730000 兰州,兰州大学公共卫生学院[1];730000 兰州,甘肃省健康教育所[2];100071 北京,军事医学科学院微生物流行病研究所[3])

[**摘要**] **目的** 了解裕固族、东乡族、保安族人群 CD14 基因启动子区 -159 位点基因多态性及其分布特点。**方法** 采用梯度 PCR-RFLP 技术研究以上 3 个民族人群 CD14 -159C/T 基因多态性,并与文献报道的我国不同地区汉族人群进行对比分析。**结果** 裕固族、东乡族、保安族 3 个民族的研究样本 CD14 -159C/T 位点频率分布均服从哈代-温伯格平衡,3 个民族 CD14 -159C/T 位点均以 C 等位为主,C 等位检测频率分别为 68.75%、82.40%、73.33%。我国不同地区汉族人群 CD14 -159C/T 位点等位均以 T 等位为主,T 等位频率分布在 50.66% ~63.94% 之间。**结论** 裕固族、东乡族、保安族人群 CD14 -159 基因多态性分布特点与中国汉族人群存在明显差别,-159 位点等位在裕固族、东乡族、保安族人群中均以 C 等位为主,我国不同地区汉族人群均以 T 等位为主。

[**关键词**] 裕固族;东乡族;保安族;CD14;多态性
[**中图法分类号**] R394.3; R394.5 [**文献标志码**] A

CD14 是一种白细胞分化抗原,主要由成熟的单核巨噬细胞所产生,在先天免疫防御和炎症反应过程中具有多种作用。近年研究表明在许多国家和地区 CD14 基因启动子区存在 -159C/T 多态性,我国多见对不同地区汉族人群 CD14 -159C/T 多态性研究,鲜见对少数民族的研究[1-5]。裕固族、东乡族、保安族是我国甘肃省特有的少数民族,主要分别聚居在甘肃省境内肃南裕固族自治县(地处河西走廊南部)、临夏州东乡族自治县、临夏州积石山保安族东乡族撒拉族自治县。至今缺乏对三民族该基因多态性的相关研究。本研究用梯度聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)核苷酸分型技术,研究 CD14 -159 位点多态性在三民族人群中的分布。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择裕固族、保安族和东乡族志愿者为研究对象,纳入和

[**基金项目**] 兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky-2009-133);甘肃省青年科技基金(1107RJYA075)
[**通信作者**] 马剑华,E-mail: majianhua@lzu.edu.cn

排除标准如下:①3代以上居住在甘肃省肃南裕固族自治县、临夏积石山保安族自治县及临夏东乡族自治县的裕固族、保安族和东乡族人群;②询问病史排除肝脏、肾脏、内分泌和心脑血管疾病患者;③所有研究对象之间无直系亲属血缘关系。最终选择裕固族人40名,男性18名,女性22名,年龄(9.5±1.7)岁;保安族人30名,男性10名,女性20名,年龄(41.9±21.1)岁;东乡族人125名,男性66名,女性59名,年龄(10.8±2.3)岁。

1.2 实验方法

1.2.1 血液中基因组DNA提取及目的DNA片段PCR扩增

采用DNA提取试剂盒(天根公司)提取DNA。引物序列[6]:上游引物5′-TGAGGATCATCCTTTTCCCAAAC-3′,下游引物5′-CAGGCTTCACACTTGTGAACTCTTC-3′(引物由北京奥科基因技术有限公司合成)。PCR反应体系25 μl,反应条件:95 ℃ 15 min、94 ℃ 30 s、58 ℃ 1 min、72 ℃ 40 s,13个循环。然后94 ℃ 30 s、58 ℃ 40 s、72 ℃ 40 s,28个循环。最后72 ℃延伸反应5 min。前13个循环采用梯度PCR。PCR产物152 bp。

1.2.2 限制性内切酶酶切及基因型检测 取PCR产物5 μl,加入1 μl缓冲液、1 μl限制性内切酶*Hae*Ⅲ(NEB公司)、水补充至10 μl 37 ℃酶切过夜,酶切产物经2%琼脂糖凝胶电泳分型。*Hae*Ⅲ识别位点为5′-CCTGTTACGG C CCCCCTCCC-3′中的加框处,PCR产物经酶切后C/C基因型产生2个片段(121、31 bp),T/T基因型1个片段(152 bp);T/C基因型3个片段(152、121、31 bp)。根据电泳结果结合凝胶扫描系统自带软件判定基因型。

1.2.3 测序验证 随机选择30个(15%总样本量)样本进行测序验证,测序引物同1.2.1,扩增产物经双向测序验证(北京诺赛基因组研究中心测序),结果显示,本次梯度PCR-RFLP分型准确率99%以上。

1.3 统计学分析

采用Arlequin软件对CD14-159位点在待测民族中的分布进行哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验。采用SPSS 16.0统计软件运用χ^2检验分析基因型及等位频率,若不满足χ^2检验则计算Fisher's精确概率。

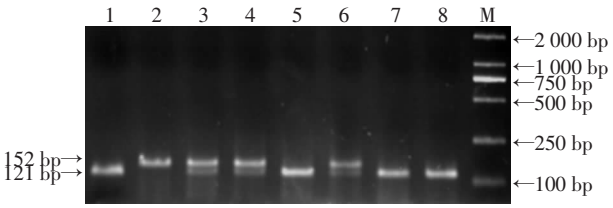
2 结果

2.1 基因分型

裕固族、保安族、东乡族均存在CD14-159C/T多态性,基因型表达3个民族均有CC、TT和CT 3种基因型。1、5、7、8泳道出现2个条带为C/C基因型,2泳道出现1个条带为T/T基因型,3、4、6泳道出现3个条带为T/C基因型(图1)。

2.2 哈代-温伯格平衡检验

经计算,CD14-159C/T位点在各民族人群中的频率分布均服从哈代-温伯格平衡(裕固族$\chi^2=1.781$,$P=0.182$;东乡族$\chi^2=0.006$,$P=0.937$;保安族$\chi^2=0.015$,$P=0.901$),表明所选观察样本符合哈代-温伯格平衡,有较好的代表性,可用于遗传学研究。



1、5、7、8:C/C基因型;2:T/T基因型;3、4、6:T/C基因型;M:标准

图1 梯度PCR-RFLP法检测CD14-159C/T基因分型结果

2.3 3个少数民族CD14-159C/T等位频率分布

在裕固族、东乡族、保安族人群中CD14-159位点存在C/T等位变异,3个民族该位点等位均以C为主,C等位检测频率分别为68.75%、82.40%、73.33%,差异无统计学意义($P=0.086$)。C/C、T/T、T/C 3种基因型的频率分布差异有统计学意义($P=0.031$,表1)。

2.4 3个少数民族CD14-159C/T位点与汉族比较

把选自我国北方地区的汉族样本[1]和3个少数民族作χ^2分析,汉族CD14-159C/T基因型分布和等位频率分布与3个民族均不同,差别有统计学意义($P<0.01$);等位表达汉族以T为主(63.94%),3个少数民族均以C为主(表1)。基因型分布汉族以TC杂合子为主,东乡族和保安族以CC纯合子为主(分别为68.00%、53.33%)。裕固族以TC杂合子为主(52.50%)。

3 讨论

本研究显示裕固族、东乡族、保安族人群该位点存在C/C、T/T、C/T 3种基因型,分布差异有统计学意义($P<0.05$),C/T等位频率差异无统计学意义($P>0.05$),3个民族均以C等位为主。而国内不同地区汉族人群该位点以T等位为主,频率分布在50.66%~63.94%,基因型以TC杂合子为主[1-6]。表明这3个民族与汉族人群CD14-159位点主等位表达存在显著差异。这种差异可能与民族的演化和变迁有关。裕固族和新疆维吾尔族有共同的渊源关系[7],但CD14-159多态性分布不同,后者主等位为T[8],与汉族人群相近。东乡族人是古代进入东乡地区的蒙古人与当地的回、汉等民族在长期共同生活中逐渐形成的民族;保安族是以蒙古人为主,和部分回、汉、藏等族自然同化而成的[9]。因此,不同民族间CD14-159C/T基因型及主等位的差异可能与民族的演化和变迁有关。

表1 3个少数民族与汉族CD14-159C/T位点基因多态性分布比较[例(%)]

民族	基因型			χ^2	P	等位		χ^2	P
	CC	TT	CT			C	T		
裕固族	17(42.50)	2(5.00)	21(52.50)	36.26	<0.01	55(68.75)	25(31.25)	33.23	<0.01
东乡族	85(68.00)	4(3.20)	36(28.80)	180.70	<0.01	206(82.40)	44(17.60)	170.80	<0.01
保安族	16(53.33)	2(6.67)	12(40.00)	42.19	<0.01	44(73.33)	16(26.67)	33.15	<0.01
汉族(北方)[1]	56(11.91)	187(39.79)	227(48.30)	—	—	339(36.06)	601(63.94)	—	—

研究表明 CD14 - 159 位点基因多态性与慢性乙肝[10]、肺结核[11]、儿童霍奇金淋巴瘤[12]、胃癌[6]等疾病相关,T 等位的较高表达可能与乙肝、结核、胃癌相关。甘肃省河西地区 2004 年胃癌检出率为 7.79%[13]。临夏市乙肝及肺结核发病率也较高,2008 年资料显示乙肝及肺结核分别位居当地各类传染病第 1、2 位,并有增加趋势[14]。由本研究可知,CD14 - 159C/T 主等位在民族间的分布有较大差别。可为进一步研究该地区不同民族基因多态性与相关疾病的关系奠定基础,并为相关疾病的流行病学研究提供人群资料。

参考文献:

[1] 李雷, 张葵, 邱方, 等. 江苏地区汉族人群白细胞分化抗原 14 启动子 C(- 159)T 多态性与冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(43): 8749 - 8752.
[2] 冯凯, 刘兴, 蒋建新. 重庆地区汉族 CD14 启动子区多态性分析[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(18): 1667 - 1669.
[3] 谢玉霞, 付真彦, 马依彤, 等. 新疆地区维汉民族 CD14 启动子 - 159 位点基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2008, 10(10): 784
[4] 韦叶生, 蓝艳, 刘运广, 等. 广西地区汉族人群 CD14 基因启动子 - 159C/T 多态性研究[J]. 广东医学, 2006, 27(2): 179 - 181.
[5] 熊小泉, 李艳, 明凯华. 湖北地区汉族人群 CD14 启动子 T - 260C 位点多态性研究[J]. 华中医学杂志, 2005, 29(1): 16 - 17.
[6] Zhao D, Sun T, Zhang X, *et al*. Role of CD14 promoter polymorphisms in Helicobacter pylori infection--related gastric carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(8): 2362 - 2368.
[7] 《裕固族简史》编写组. 裕固族简史[M]. 兰州: 甘肃人民出版社, 1983: 80 - 88.
[8] 胡海芳, 王燕, 张华, 等. 维吾尔族 CD14 基因单核苷酸多态性和遗传结构分析[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(16): 1831 - 1835, 1840.
[9] 余方平. 简析中国西部与中华各民族起源演化之关系[J]. 商洛师范专科学校学报, 2006, 20(2): 58 - 61.
[10] Mohammad-Alizadeh A H, Ranjbar M, Hajilooi M, *et al*. Association of promoter polymorphism of the CD14 C(- 159) T endotoxin receptor gene with chronic hepatitis B[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(35): 5717 - 5720.
[11] Rosas-Taraco A G, Revol A, Salinas-Carmona M C, *et al*. CD14 C(- 159)T polymorphism is a risk factor for development of pulmonary tuberculosis[J]. J Infect Dis, 2007, 196(11): 1698 - 1706.
[12] Andrie E, Michos A, Kalampoki V, *et al*. Genetic variants in immunoregulatory genes and risk for childhood lymphomas [J]. Eur J Haematol, 2009, 83(4): 334 - 342.
[13] 李玉民, 石斌, 柴琛, 等. 甘肃省河西地区胃癌发病状况的调查[J]. 中华普通外科杂志, 2004, 19(3): 183 - 184.
[14] 韩世发, 路宏昌, 张格祥. 临夏市 2008 年传染病疫情分析[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2010, 12(19): 249 - 250.

(收稿:2011-08-03;修回:2011-11-01)
(编辑 吴培红)

(上接 80 页)

2 讨论

肾小球巨大稀少症(oligomeganephronia,OMN)为罕见的先天性肾发育不良性疾病,其发病与基因和种族相关[1],有报道与患者出生时低体质量有关[2]。临床无特异表现,仅以蛋白尿、肾功能减退或双肾缩小就诊。肾组织检查,在标准取材的情况下表现为肾单位数目减少,肾小球体积增大,肾小管肥大和间质纤维化,肾小球 Bowman's 囊壁增厚[3]。本例患者出生时低体质量(1.5 kg),临床表现为血清肌酐、胱抑素 C 增高,肾小球滤过率(eGFR)为 41 ml/(min·1.73 m^2),双肾缩小,尿常规及血压正常。肾组织活检表现为肾小球数量明显减少,体积增大,肾小管肥大,间质纤维化及 Bowman's 囊壁增厚不明显。结合患者病史、临床特点及肾脏病理改变可除外糖尿病肾病、狼疮性肾炎、肥胖相关性肾病、高血压肾损害、感染后肾小球肾炎等导致肾小球体积增大的常见疾病。部分 OMN 患者存在局灶节段性肾小球硬化的表现[4],应与其他局灶节段性肾小球硬化相鉴别,从临床表现上局灶节段性肾小球硬化患者常有大量蛋白尿、镜检红细胞、高血压等表现,病理上两种疾病都可能出现肾小球节段硬化和肾小球体积增大,但原发性局灶节段性肾小球硬化肾小球体积增大的倍数远不如 OMN。本例患者的病史、临床特征、实验室检查和肾脏病理改变符合 OMN 的表现和诊断标准。

明确诊断 OMN 并不困难,但因其临床表现隐匿、特征不典型常被人们忽略。OMN 是导致青少年终末期肾脏疾病的重要因素,当患者出现典型临床症状时已有 eGFR 下降和双肾缩小等肾功能严重受损的表现。由于 OMN 没有特异性的治疗措施,只有提高对本病的认识,尽早行肾组织活检明确诊断,动态检测尿液及肾脏功能,避免应用肾毒性药物才能有效延缓 OMN 进展至终末期肾脏疾病的进程。

参考文献:

[1] Zaffanello M, Brugnara M, Franchini M, *et al*. TCF2 gene mutation leads to nephro - urological defects of unequal severity: an open question[J]. Med Sci Monit, 2008, 14(6): RA78 - RA86.
[2] 王少凡, 陈惠萍, 姚小丹, 等. 肾小球巨大稀少症临床及病理分析[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2009, 18(4): 329 - 333, 357.
[3] 陈惠萍, 李世军, 刘志红. 肾小球巨大稀少症[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2007, 16(2): 192 - 195.
[4] Korbet S M. Primary focal segmental glomerulosclerosis[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 19(7): 1333 - 1340.

(收稿:2011-07-21;修回:2011-10-06)
(编辑 龙 亮)