

高级卫生专业技术资格考试指导用书

# 风湿免疫学 高级教程

主 编 栗占国 张奉春 曾小峰

高级卫生专业技术资格考试指导用书编辑委员会

中华医学会组织编著



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

高级卫生专业技术资格考试指导用书

# 风湿免疫学高级教程

FENGSHI MIANYIXUE GAOJI JIAOCHENG

高级卫生专业技术资格考试指导用书编辑委员会

中华医学会 组织编著

主编 栗占国 张奉春 曾小峰



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北京

---

图书在版编目(CIP)数据

风湿免疫学高级教程/栗占国,张奉春,曾小峰主编. —北京:人民军医出版社,2013.5  
高级卫生专业技术资格考试指导用书  
ISBN 978-7-5091-6595-9

I. ①风… II. ①栗… ②张… ③曾… III. ①风湿性疾病—免疫性疾病—资格考试—教材 IV. ①R593

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 091187 号

---

策划编辑:徐卓立 姚磊 文字编辑:伦踪启 卢紫晔 责任审读:谢秀英

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱 邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927300—8743

网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

---

印、装:北京京华虎彩印刷有限公司

开本:850mm×1168mm 1/16

印张:24.75 字数:707千字

版、印次:2013年5月第1版第1次印刷

印数:0001—2000

定价(含光盘):190.00元

---

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

## 内 容 提 要

本书由卫生部人才交流中心《中国卫生人才》杂志社和中华医学会组织国内最具权威的专家共同编写,按照国家对高级卫生专业技术资格要求人员的要求,集中、准确地介绍了风湿免疫学专业的基本理论和临床操作技术,全书分上下两篇,上篇 7 章介绍了风湿免疫病的基础知识,包括遗传学研究进展、各种细胞因子的意义及相关的检查方法等,下篇 35 章分别讲述了类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、硬皮病、炎性肌病等近 40 余种风湿免疫疾病的相关发病原因与基础、临床表现及当前诊治,重点阐述常见病的防治新法、疑难病分析、国内外发展现状和趋势等前沿信息。本书不仅是拟晋升高级专业技术职务的应试者考前复习的指导用书,还可以帮助主治医师及其他相关中级专业技术职务医务人员开展继续教育,提高临床会诊、病例综合分析和运用先进医疗技术的能力。本书具有权威性、实用性和先进性,是中、高年资医师必备案头书。

# 出版说明

为了进一步深化卫生专业职称改革,2000年国家人事部、卫生部下发了《关于加强卫生专业技术职务评聘工作的通知》(人发[2000]114号)。通知要求,卫生专业的副高级技术资格通过考试与评审相结合的方式获得;正高级专业技术职务资格通过答辩,由评审委员会评议,通过后即获得高级专业技术职务资格。根据通知精神和考试工作需要,副高级专业技术职务资格考试在全国各个省、自治区、直辖市职称改革领导小组的领导下设立了多个考区。目前,很多地区正高级专业技术职务资格的评审工作也逐渐采用考评结合的方法。通过考试取得的资格代表了相应级别专业技术职务要求的水平与能力,作为单位聘任相应专业技术职务的必要依据。

高级技术资格考试制度的逐渐完善,使其相配套的考前辅导及考试用书市场明显滞后的矛盾日渐突出。鉴于职称改革制度和考生的双重需求,《中国卫生人才》杂志社和中华医学会共同组织医学各学科权威专家编辑、出版了《高级卫生专业技术资格考试指导用书》(以下简称《指导用书》)。《指导用书》在介绍基础理论知识和常用治疗方法的基础上更注重常见病防治新法、疑难病例分析、国内外发展现状和发展趋势等前沿信息的汇集,与国家对高级卫生专业技术资格人员的专业素质要求相一致。《指导用书》的编者主要由从事临床工作多年,在本学科领域内具有较高知名度的副主任医师以上的专家及教授担任,以确保其内容的权威性、实用性和先进性。本书以纸质载体配合 CD-ROM 光盘的形式出版,其中纸质载体以专业知识为主,多媒体光盘容纳练习题库、模拟试题等内容,实现人机互动的功能。本书根据高级卫生专业技术资格考试大纲对专业知识“了解”“熟悉”和“掌握”的不同层次要求安排简繁,重点突出,便于考生复习、记忆。

考试不是目的,而是为了加强临床医务人员对学科知识的系统了解和掌握,是提高医疗质量的一种手段。因此,本套出版物的受益者不仅仅是中、高级专业技术职业资格应考人员,其权威、专业、前沿的学科信息将会对我国医学科学的发展、医学科技人才的培养以及医疗卫生工作的进步起到推动和促进作用。《指导用书》各学科分册已于 2009 年陆续出版。

# 高级卫生专业技术资格考试指导用书

## 风湿免疫学高级教程

### 编委会

主 编 栗占国 张奉春 曾小峰

副主编 (以姓氏拼音为序)

鲍春德 黄 烽 孙凌云 邹和建

编 委 (以姓氏拼音为序)

鲍春德 上海交通大学医学院附属仁济医院

毕黎琦 吉林大学中日联谊医院

陈国强 中山大学附属佛山医院

陈进伟 中南大学湘雅第二医院

樊春红 北京大学人民医院

古洁若 广州中山大学附属第三医院

郭建萍 北京大学人民医院

何 岚 西安交通大学医学院第一附属医院

黄慈波 卫生部北京医院

黄 烽 中国人民解放军总医院

贾 园 北京大学人民医院

姜林娣 上海复旦大学附属中山医院

李彩凤 首都医科大学附属北京儿童医院

李鸿斌 内蒙古医学院附属医院

李 芹 云南省第一人民医院

李兴福 山东大学齐鲁医院

李 洋 哈尔滨医科大学附属第二医院

李振彬 白求恩国际和平医院

栗占国 北京大学人民医院

林 进 浙江大学医学院附属第一医院

刘湘源 北京大学第三医院

刘 毅 四川大学华西医院

穆 荣 北京大学人民医院

齐文成 天津市第一中心医院

苏厚恒 山东省青岛市立医院

苏 茵 北京大学人民医院



孙尔维 南方医科大学第三医院  
孙凌云 南京大学医学院附属鼓楼医院  
陶 怡 广州医学院附属第二医院  
王国春 中日友好医院  
王 轶 兰州大学第二医院  
吴凤岐 首都儿科研究所  
武丽君 新疆维吾尔自治区人民医院  
肖卫国 中国医科大学附属第一医院  
徐沪济 上海第二军医大学附属长征医院  
杨铁生 北京大学人民医院  
曾小峰 中国医学科学院北京协和医院  
詹 锋 海南省人民医院  
张奉春 中国医学科学院北京协和医院  
张缪佳 南京医科大学附属第一医院  
张志毅 哈尔滨医科大学附属第一医院  
赵 铖 广西医科大学第一附属医院  
赵东宝 上海第二军医大学附属长海医院  
郑 毅 首都医科大学附属北京朝阳医院  
周 彬 四川省人民医院  
周 炜 北京大学第一医院  
邹和建 复旦大学附属华山医院  
编辑助理 贾 园 北京大学人民医院  
统筹策划 李春风 裴 燕

# 序


《卫生部关于加强“十一五”期间卫生人才队伍建设的意见》提出,要加强高层次卫生人才队伍建设,进一步完善卫生人才评价体系,加快推进卫生人才工作体制机制创新,为卫生人才队伍发展提供良好的政策环境。中华医学会作为国内医学界有一定影响的学术团体,有责任也有义务为提高卫生技术人才队伍的整体素质,进一步完善高级卫生专业技术资格的评价手段,逐步推行考评结合的评价方法,做出应有的努力。

为推进科学、客观、公正的社会化卫生人才评价体系尽快实施,《中国卫生人才》杂志社、中华医学会共同组织,编辑、出版了这套《高级卫生专业技术资格考试指导用书》(以下简称《指导用书》)。

我国每年有20万以上需要晋升副高级和正高级专业技术职务的卫生专业人员,这些高级技术人员是我国医学发展的中坚力量,身肩承上启下的重任。考试政策的出台有助于促进不同地区同专业、同专业技术职务的医务人员专业技术职务与实践能力的均衡化。因此,本套书的内容不仅包括高年资医务人员应该掌握的知识,更力求与时俱进,能反映目前本学科发展的国际规范指南和前沿动态,巩固和提高主治医师以上专业技术职务晋升医务人员临床诊治、临床会诊、综合分析疑难病例以及开展医疗先进技术的能力,也将作为晋升专业技术职务考试的参考依据之一。相信此书的出版不仅能帮助广大考生做好考前复习工作,还将凭借其不断更新的权威知识,成为高年资医务人员的案头工具书。

本套《指导用书》所有参编人员均为国内各学科的学术带头人、知名专家。在编写过程中曾多次召开组稿会和定稿会,各位参编的专家、教授群策群力,在繁忙的临床和教学工作之余高效率、高质量地完成了本套书的编写工作,在此,我表示崇高的敬意和衷心的感谢!

中华医学会副会长





# 前 言

风湿病是临床常见病,其特征是致残率高和多系统受累,同时由于风湿病学在临床上与其他各学科都有许多交叉之处,因此,越来越受到重视。但风湿病临床表现复杂,误诊误治现象仍较为普遍。

为进一步提高风湿病学的诊治水平,适应我国风湿病学迅猛发展及继续教育的需要,进一步完善卫生专业技术高级职称资格考试制度,卫生部人才交流中心和中华医学会风湿病学分会共同组织编写了高级卫生专业技术资格考试指导系列用书《风湿免疫学高级教程》分册。本书分为“基础”和“临床”两篇,分别介绍了风湿病基础研究进展、临床检查方法、各种风湿病的病因及诊治进展。

《风湿免疫学高级教程》分册的编委阵容强大,来自全国众多重点医学院校及知名医院,为了保证编写质量,各章节的作者多为从事临床风湿免疫学的高年资医师及基础研究人员,内容结合了国内外最新研究进展,力图为风湿病学的专科医师在准备高级卫生专业技术资格考试时提供帮助。并希望为风湿病学同道在日常的基础研究和临床工作中提供参考。

《风湿免疫学高级教程》的出版是所有编委、编务、编辑部及参编人员努力的结果,对他们的无私奉献表示诚挚的感谢!

由于编写考试指导书籍的经验不足,加之编写内容较多,时间紧促,有不足之处,请同道批评指正。

栗占国 张奉春 曾小峰

2013年4月

# 目 录

## 上篇 风湿免疫病基础

第 1 章 风湿免疫性疾病的遗传学研究进展 .....	(1)
第一节 概论 .....	(1)
一、风湿病的遗传特征 .....	(1)
二、风湿病的遗传流行病学 .....	(2)
三、遗传性疾病的研究策略与方法 .....	(2)
第二节 类风湿关节炎遗传学研究进展 .....	(6)
一、类风湿关节炎遗传流行病学 .....	(6)
二、类风湿关节炎遗传动物模型研究进展 .....	(7)
三、人类 HLA 基因与类风湿关节炎易患相关性 .....	(7)
四、非 HLA 基因与类风湿关节炎易患相关性 .....	(8)
第三节 系统性红斑狼疮遗传学研究进展 .....	(8)
一、系统性红斑狼疮遗传流行病学研究 .....	(9)
二、狼疮鼠模型的遗传学研究 .....	(9)
三、人类 HLA 基因与系统性红斑狼疮易患相关性 .....	(9)
四、非 HLA 基因与系统性红斑狼疮易患相关性 .....	(9)
第四节 强直性脊柱炎遗传学研究进展 .....	(10)
一、AS 遗传流行病学研究 .....	(10)
二、AS 易患基因的研究现状 .....	(11)
第五节 其他风湿病遗传学研究进展 .....	(12)
一、系统性硬化 .....	(12)
二、骨关节炎 .....	(12)
三、原发性高尿酸血症与痛风 .....	(13)
第 2 章 免疫细胞和细胞因子在风湿性疾病中的意义 .....	(15)
一、固有免疫系统的细胞及其在风湿性疾病中的意义 .....	(15)
二、适应性免疫系统的细胞及其在风湿性疾病中的意义 .....	(18)
三、细胞因子及其在风湿性疾病中的意义 .....	(22)
第 3 章 风湿免疫病的实验室检测 .....	(27)
第一节 概述 .....	(27)
第二节 自身抗体的特点及实验室检测 .....	(27)
一、自身抗体的一般特点及临床意义 .....	(27)

二、自身抗体检测的一般原则 .....	(27)
三、实验室方法的选择 .....	(28)
四、自身抗体检测结果的解释 .....	(28)
第三节 风湿免疫病常见自身抗体的检测及临床应用 .....	(29)
一、抗核抗体 .....	(29)
二、抗双链 DNA .....	(30)
三、抗 ENA 抗体谱 .....	(31)
四、血管炎相关自身抗体 .....	(33)
五、抗心磷脂抗体 .....	(34)
六、类风湿关节炎相关的自身抗体 .....	(35)
七、自身免疫性肝炎相关自身抗体 .....	(36)
八、其他系统性风湿病相关自身抗体 .....	(37)
第四节 风湿免疫病的其他实验室检测及临床应用 .....	(38)
一、免疫球蛋白和补体检测及临床意义 .....	(38)
二、淋巴细胞检测及临床意义 .....	(38)
三、细胞因子检测及临床意义 .....	(38)
四、循环免疫复合物检测及临床意义 .....	(39)
五、其他实验室检查 .....	(39)
第 4 章 关节检查法 .....	(41)
第一节 手部关节检查 .....	(42)
一、一般检查 .....	(42)
二、特殊检查 .....	(42)
第二节 腕和腕关节检查 .....	(43)
一、一般检查 .....	(43)
二、特殊检查 .....	(43)
第三节 肘关节检查 .....	(44)
一、一般检查 .....	(44)
二、特殊检查 .....	(44)
第四节 肩关节检查 .....	(44)
一、一般检查 .....	(44)
二、特殊检查 .....	(44)
第五节 髋关节检查 .....	(45)
一、一般检查 .....	(45)
二、特殊检查 .....	(46)
第六节 膝关节检查 .....	(47)
一、一般检查 .....	(47)
二、特殊检查 .....	(48)
第七节 距小腿关节及足的检查 .....	(49)
一、一般检查 .....	(49)
二、特殊检查 .....	(49)

第八节 髋髂关节检查	(49)
一、一般检查	(49)
二、特殊检查	(49)
第九节 颈部检查	(49)
一、一般检查	(49)
二、特殊检查	(49)
第十节 脊柱检查	(50)
一、一般检查	(50)
二、特殊检查	(50)
第5章 关节腔穿刺术	(53)
第6章 关节镜检查及滑膜活检	(61)
第一节 关节镜检查	(61)
一、概述	(61)
二、关节镜的基本设备	(61)
三、关节镜检查的适应证及手术时机	(61)
四、关节镜检查的禁忌证	(61)
五、关节镜检查的并发症	(61)
六、膝关节解剖	(62)
七、膝关节镜的检查和手术方法	(62)
八、关节镜检查的术前准备和术后处理	(63)
九、关节镜检查在肘关节和距小腿关节的应用	(63)
十、关节镜技术在风湿病中的应用	(64)
第二节 滑膜活检	(66)
一、滑膜标本组织处理方法	(66)
二、滑膜病理学	(66)
三、滑膜免疫组织学	(69)
四、小结	(72)
第7章 风湿病的影像学检查	(75)
第一节 风湿性疾病的X线片检查	(75)
一、类风湿关节炎	(75)
二、强直性脊柱炎	(76)
三、银屑病关节炎	(77)
四、骨关节病	(77)
五、痛风	(77)
六、弥漫性结缔组织病及系统性硬化	(77)
第二节 风湿性疾病的磁共振检查	(78)
一、骨关节磁共振检查方法	(78)
二、类风湿关节炎	(78)
三、脊柱关节病	(78)
四、多发肌炎和皮肌炎	(79)

第三节 风湿性疾病的超声检查	(79)
一、骨关节超声检查方法	(79)
二、类风湿关节炎	(80)
三、脊柱关节病	(80)
四、痛风	(80)
五、骨关节炎	(80)

## 下篇 风湿免疫病

第 8 章 类风湿关节炎	(81)
第 9 章 系统性红斑狼疮	(91)
第 10 章 干燥综合征	(108)
第 11 章 硬皮病	(118)
第 12 章 特发性炎性肌病	(130)
第 13 章 混合性结缔组织病	(140)
第 14 章 未分化结缔组织病	(146)
第 15 章 强直性脊柱炎	(151)
第 16 章 银屑病关节炎	(162)
第 17 章 肠病性关节炎	(168)
一、肠道生物学	(168)
二、脊柱关节病	(168)
三、炎症性肠病	(169)
第一节 肠病性关节炎	(169)
第二节 各种不同类型的肠病性关节炎	(172)
一、肠源性反应性关节炎	(172)
二、关节炎和腹腔疾病	(173)
三、Whipple 病	(173)
四、胶原性结肠炎和淋巴细胞性结肠炎	(174)
五、结核过敏性疾病和卡尔默蒂-盖兰杆菌诱导的反应性关节炎	(174)
第 18 章 反应性关节炎	(175)
第 19 章 未分化脊柱关节炎	(178)
第 20 章 大动脉炎	(186)
第 21 章 肉芽肿性多血管炎	(193)
第 22 章 显微镜下多血管炎	(198)
第 23 章 Churg-Strauss 综合征	(202)
第 24 章 结节性多动脉炎	(210)
第 25 章 贝赫切特综合征	(214)
第 26 章 抗磷脂综合征	(219)
第 27 章 结节性脂膜炎	(228)

第 28 章	巨细胞动脉炎和风湿性多肌痛	(232)
第 29 章	原发性胆汁性肝硬化	(239)
第 30 章	结节性红斑	(247)
第 31 章	自身免疫性肝炎	(249)
第 32 章	成年人斯蒂尔病	(257)
第 33 章	风湿热	(266)
第 34 章	复发性多软骨炎	(270)
第 35 章	骨关节炎	(277)
第 36 章	痛风与痛风性关节炎	(296)
第 37 章	感染性关节炎	(304)
第 38 章	纤维肌痛综合征	(312)
第 39 章	幼年特发性关节炎	(324)
	一、全身型幼年特发性关节炎	(326)
	二、少关节型幼年特发性关节炎	(328)
	三、多关节型幼年特发性关节炎(RF 阴性)	(328)
	四、多关节型幼年特发性关节炎(RF 阳性)	(329)
	五、银屑病性关节炎	(329)
	六、与附着点炎症相关的关节炎	(330)
	七、未分化的幼年特发性关节炎	(332)
	八、巨噬细胞活化综合征	(332)
第 40 章	儿童弥漫性结缔组织病	(335)
	第一节 儿童系统性红斑狼疮	(335)
	第二节 新生儿红斑狼疮综合征	(340)
	第三节 幼年皮炎	(342)
	第四节 硬皮病	(347)
	一、系统性硬化症	(347)
	二、局灶性硬皮病	(350)
	第五节 未分化结缔组织病	(353)
	第六节 混合性结缔组织病	(354)
	第七节 干燥综合征	(356)
第 41 章	风湿病与妊娠	(359)
	一、妊娠与系统性红斑狼疮	(359)
	二、妊娠与类风湿关节炎	(361)
	三、妊娠与干燥综合征	(361)
	四、妊娠与系统性硬化症	(362)
	五、妊娠与抗磷脂综合征	(362)
	六、风湿病的妊娠期管理	(363)
	七、风湿病常用治疗药物在妊娠期的使用	(363)
第 42 章	风湿病与肿瘤	(368)
	第一节 风湿性疾病中肿瘤的易患性	(368)

一、类风湿关节炎	(368)
二、系统性红斑狼疮	(368)
三、炎性肌病	(369)
四、干燥综合征	(369)
五、系统性硬化症	(370)
六、结节病	(370)
七、风湿性疾病的治疗与肿瘤	(370)
第二节 肿瘤的风湿病样表现	(371)
一、血管炎	(371)
二、冷球蛋白血症	(371)
三、风湿性多肌痛	(371)
四、指端坏死	(372)
五、脂膜炎	(372)
六、掌筋膜炎	(372)
七、反射性交感神经营养不良综合征	(372)
八、狼疮样综合征	(372)
九、抗磷脂抗体	(372)
十、癌性多关节炎	(372)
十一、骨软化症	(373)
十二、化疗后风湿病	(373)
附录	(374)
附录 A 高级卫生专业技术资格考试大纲(风湿病专业——副高级)	(374)
附录 B 高级卫生专业技术资格考试大纲(风湿病专业——正高级)	(376)



下单卵双生子中仅有一人患病,说明其他因素也参与了疾病的发生,如环境因素的影响。例如研究发现,吸烟为增加 RA 发病率和加重 RA 病情的最常见环境风险因素之一。吸烟主要是通过基因与环境(吸烟)之间的相互作用而增加 RA 易感性。进一步研究显示,吸烟可显著增加携 HLA-DRB1 SE 等位基因人群的 RA 发病风险。因此,携带 SE 等位基因同时又吸烟者,为 RA 的高危人群,与无 SE 等位基因且不吸烟者比较,有吸烟史和双拷贝 SE 携带者的 RA 发病风险增加了 21 倍。

## 二、风湿病的遗传流行病学

早在 1889 年就有人发现,风湿病在家族中发病率较高。早期遗传因素的判断主要依赖于流行病学资料,这些资料包括对不同遗传背景的群体进行疾病发生率的比较。其中,遗传背景相同的单卵双生子群、约 50% 遗传背景相同的二卵双生子及同胞群、遗传背景完全无关的一般人群是常用的几个群体,并常以上述不同群体中发病风险的比值来估算遗传因素的影响程度。该方法中最常用的是将疾病同胞发病率与一般人群发病率比较,称为同胞患病相对风险,即  $\lambda_s$ , 计算公式为  $\lambda_s = \text{疾病同胞发病率} / \text{一般人群发病率}$ 。一个可信的  $\lambda_s$  值取决于对两个群体发病率的正确估算,如在 RA 中,大规模调查时常会出现确诊困难的例子,家庭成员处于不同的病期,且起病年龄不同,当疾病不再活动时易漏诊,而与其他多关节炎的鉴别不当也会引起误诊。系统性红斑狼疮中也会出现类似的问题,早期轻症患者易被漏诊。因而在不同的研究中  $\lambda_s$  常常并不一致。尽管如此,目前一些常见风湿病的  $\lambda_s$  范围已经明确。除了强直性脊柱炎,大多数风湿病  $\lambda_s$  在 10~20。单卵双生子发病率与一般人群发病率比值称为  $\lambda_{mz}$ , 它可被看作是对疾病最大遗传风险的估计。对单卵双生子来说,致病风险的增高主要源于受累个体间存在共同的遗传风险因素,常见风湿病  $\lambda_s$  及  $\lambda_{mz}$  如表 1-1 所示。

表 1-1 常见风湿病的家族聚集性分析( $\lambda_s$  值和  $\lambda_{mz}$  值)

疾病	$\lambda_s$	$\lambda_{mz}$
类风湿关节炎	2~17	12~62
系统性红斑狼疮	20	240
强直性脊柱炎	82	630
系统性硬化	20	250
幼年特发性关节炎	15~20	—

由于不同的研究中  $\lambda_s$  常常不一致,所以有些疾病中也以遗传度这一指标进行遗传风险的评估。遗传度是衡量遗传因素在疾病发生过程中所起作用大小的指标,一般用百分比表示。如前所述,一个性状的表现受遗传和环境两方面因素决定,遗传度将遗传作用与环境作用的相对重要性给予量化,说明两者作用的相对大小。比如已有研究表明,类风湿关节炎的遗传度为 60%,这表示 RA 发病 60% 由遗传决定,其他 40% 由环境决定。

## 三、遗传性疾病的研究策略与方法

早期的遗传学研究主要是进行遗传流行病学调查,在患病家系中和双胞胎中进行发病率,亲属患病风险评估和家系分离分析等。随着遗传标志的发现和发展,遗传学研究进入了连锁分析和关联分析时代。

### (一) 遗传标记

遗传标记的发现为遗传学研究提供了有力的工具,这些遗传标志或可直接改变氨基酸组成而影响功能,或本身无生物学功能但与某个易患基因相连锁而成为遗传标志。20 世纪 70 年代以后,随着分子生物学的发展,相继建立了以限制性片段长度多态性(RFLP)、微卫星(microsatellites)、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)和拷贝数变异(copy number variation, CNV)等多种分子为遗传标志的检测技术,不断开创着遗传标志研究的新阶段。目前人类遗传学研究常用的遗传标志主要有微卫星、SNP 和 CNV。

微卫星是基因组 DNA 上串联的短核苷酸片段重复序列。可由 2,3,4,5 或 6 个核苷酸进行数目可变的重复串联构成,覆盖 2%~3% 人类基因组范围。由于短核苷酸片段重复的次数不同表现出高度的长度多态性,因而它们可作为基因组特定区域或特定基因的标志而不必知道该基因的性质,起着类似路标的作用。在每个微卫星标志的两侧有独特的保守的核苷酸序列,利用针对该序列的引物,应用 PCR 技术可将基因组内特定位置的微卫星标志扩增出来。如果某一微卫星标志在受累群体中以异常高的频率出现,那么在该微卫星所在的基因组区域很可能包含与疾病相关的易患基因。目前被筛选鉴定出的微卫星有数千个,早期被广泛用于遗传定位研究中。

SNP 为新一代的遗传学标志,指基因组中频率 >1% 的单个碱基变异(不包括缺失、插入与重

复)。根据国际千人基因组计划的最新研究结果,人类基因组中大约每 500~1 000 个碱基就有 1 个 SNP, SNP 总数估计约  $1.5 \times 10^7$  个。与微卫星相比, SNP 具有多方面优势:①人类 DNA 序列变异约 90% 表现为单个核苷酸的多态性,故 SNP 是最常见的遗传变异类型,其密度比微卫星标志更高,可以在任何一个待研究基因的内部或附近提供一系列遗传标志。②与串联重复的微卫星位点相比, SNP 不再以 DNA 片段的长度变化作为检测手段,而直接以序列变异作为标志。因此, SNP 具有高度稳定性,尤其是处于编码区的 SNP(cSNP)。③虽然 SNP 在编码区的分布要低于其他位置,但某些位于基因编码区或启动子区域的 SNP 可能会直接影响产物蛋白质的结构或基因表达水平。因此,它们本身可能就是致病位点。④目前高通量的 SNP 分型技术,如 DNA 芯片技术等应用,使 SNP 检测更易于自动化、规模化分析,缩短了研究时间。

此外,近年来拷贝数变异(CNV)在人类基因组的广泛存在及其在疾病中的作用也越来越被人们所重视。基于 HapMap 计划的研究结果,人类基因组内存在大约 1 500 个 CNV 区域,覆盖大约 12% (约 360Mb) 人类基因组范围。CNV 是指与参考序列相比,基因组中从 1 000 碱基对(bp)到数百万 bp 范围内的缺失、插入和(或)扩增,及其互相组合衍生出的复杂染色体结构变异。研究表明,不少人类复杂性状疾病都和拷贝数变异有密切关系,它也将作为新的分子遗传标志在表型多态性和进化过程中扮演重要角色。

## (二) 连锁分析

连锁分析(linkage analysis)的基本原理是以有关遗传标志为“路标”,以被定位基因与该遗传标志的重组率为“遗传学距离”,分析该遗传标志和被定位基因的连锁关系,从而将该基因在染色体上予以定位的遗传统计学方法。并通过进一步分析该遗传标志与某种疾病表型或性状是否倾向于共分离,进而发现与该遗传标志相连锁的致病基因。

连锁分析中的遗传距离以厘摩(cM, centi-Morgan 厘摩尔根)为单位,是遗传标志之间的相对距离。1cM 代表两位点发生重组的概率为 1%,物理距离相当于 100 万碱基对。根据孟德尔第三定律,同一染色体上的遗传位点从亲代传给子代时,重组的概率随遗传标记与致病基因之间物理距离的远近而变化。如果遗传标志与疾病基因间距离很近,重组的概率极小,接近于 0;当两者距离很远

时,重组概率很大,很可能不存在连锁。经典连锁分析是完全基于家系的研究方法,是单基因遗传病定位克隆方法的核心。利用遗传标志在家系中进行基因分型(genotyping),再利用统计学方法计算遗传标记在家系中是否与疾病产生共分离。

尽管连锁分析在实际研究中已经证实可靠有效,但在复杂疾病的研究中,却存在很大的局限性。首先,连锁分析主要适用于高外显性孟德尔遗传性疾病(单基因疾病)的研究。而在目前已知的遗传疾病中,对于由多个中效甚至弱效的基因突变而导致的、在遗传疾病中占绝大多数的多基因复杂性疾病而言,该方法并不适用;其次,通过连锁分析在染色体上的基因定位通常在 cM 级别,也就是百万个碱基对,这其中包含成百上千的基因,不能精细定位出致病基因位点。因此,对于复杂性疾病,需采用其他研究方法,如具有代表性的、统计效力更高的关联分析法来寻找致病基因。

## (三) 关联分析

关联分析法是基于病例组及正常对照组在某一遗传标志的等位基因出现频率的不同而设计的,由此推测与该遗传标志相连锁的疾病易患位点。例如,在研究某疾病时,如果发现某一个或两个 DNA 标志在患病组出现的频率明显高于正常对照组,那么我们可以初步推测该标志附近可能存在疾病的易患位点。在人类遗传疾病研究中,一般有两种关联分析方法。

1. 病例对照研究(case-control study) 此研究方法基于群体中无亲缘关系的病例组及表型正常的对照组的某个遗传标志的频率差异。其优点为易于获得大量群体样本,能有效地进行基因分型,能直接比较两组中遗传标志的等位基因频率和基因型频率,若通过统计分析得到了显著的差异,则认为此位点同疾病相关联。在病例对照研究中出现阳性结果时,有以下 3 种可能性:①这个位点就是致病位点;②这个位点与疾病位点存在连锁不平衡(LD);③这种关联性是由于混杂因素(confounder)造成的假阳性结果。关联研究最主要的混杂因素来自于人群分层(population stratification),是造成关联研究较高假阳性率的主要原因。因此,掌握人群的亚结构特征对关联性研究课题的设计,统计分析,以及对研究结果的解释等至关重要。

群体分层往往是由于遗传背景不一的人群混合所致。病例对照研究可以从两个方面来排除群