

# 强直性脊柱炎一家系全外显子组测序分析

任伟凡<sup>1</sup>, 胡劲涛<sup>2</sup>, 高炆<sup>2</sup>, 杜伟斌<sup>1</sup>, 章何陋<sup>2</sup>, 吴奕江<sup>2</sup>, 吴风晴<sup>2</sup>, 柴乐<sup>2</sup>, 全仁夫<sup>1</sup>

(1. 杭州市萧山区中医院, 浙江 杭州 311201; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

**【摘要】** 目的: 对一强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)家系进行全外显子测序, 筛选该家系的易感基因, 为其发病机制提供理论依据。方法: 收集 1 组 AS 家系成员的临床资料, 其中男性患者 2 例, 年龄分别为 48 岁和 18 岁, 病程分别为 23 年和 4 年。提取相关家系成员外周血 DNA 进行全外显子测序, 测序结果与人类数据库比对, 过滤掉同义突变及高频突变, 整合家系成员单核苷酸非同义突变, 寻找致病基因。结果: 家系成员共得原始数据 80 G, 数据具有较高质量值, 通过对家系患者与正常人测序结果比对分析, 同时经过多个生物数据库数据过滤, 发现 JAK2 基因 12 号外显子上存在的杂合突变 c.1709A>G (p.Tyr570Cys) 为该家系的可能致病基因突变。另外, 该家系 MUC3A 基因 c.1151T>C 突变可能是该家系患病成员肠道症状的原因之一。结论: 运用全基因组外显子测序寻找 AS 易感基因是可行的, JAK2 基因 c.1709A>G 突变可能是导致该家系 AS 的致病突变及位点。

**【关键词】** 脊柱炎, 强制性; 全外显子组测序; 病史采集

中图分类号: R681.5

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2020.07.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Whole-exome sequencing in a pedigree with ankylosing spondylitis** REN Wei-fan, HU Jing-tao, GAO Yang, DU Wei-bin, ZHANG He-lou, WU Yi-jiang, WU Feng-qing, CHAI Le, and QUAN Ren-fu\*. \*Xiaoshan District Hospital of Traditional Chinese Medicine in Hangzhou City, Hangzhou 311201, Zhejiang, China

**ABSTRACT Objective:** To choose the disease-causing gene in a Chinese pedigree with ankylosing spondylitis (AS) by whole-exome sequencing (WES), and provide theory basis for mechanism of disease. **Methods:** Clinical data of AS pedigree were collected, including 2 males, the age were 48 and 18 years old, the course of disease were 23 and 4 years. Whole blood genomic DNA of AS was extracted to perform whole-exome sequencing, the results were compared with human databases, common variations which had been reported were wiped out, then non-synonymous single nucleotide variants (SNVs) from the family members were combined, and candidate genes was selected initially. **Results:** Totally 80 G data was obtained from AS family with high quality. By comparing results between patient and normal subject, and filtering with number of biological database, the result showed heterozygous mutation of JAK2 gene 12 exon c.1709 A>G (p.Tyr570Cys) may be the potential disease-causing gene. The variant c.1151T>C of MUC3A gene may be one of the causes of intestinal symptoms in the family members. **Conclusion:** It is feasible to find candidate gene mutations of AS by Exon sequencing. The mutation c.1709 A>G in gene JAK2 identified by whole-exome sequencing might be the pathogenic mutation in this AS pedigree.

**KEYWORDS** Spondylitis, ankylosing; Whole exome sequencing; Medical history taking

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是临床上常见的一种以脊柱及骶髂关节慢性炎症为主的全身性、进行性疾病, 它主要涉及脊柱、骶髂关节, 引起软组织骨化和关节融合, 最终可能导致残疾<sup>[1]</sup>, 部分患者还可能伴随眼部、肺部、肾脏、心血管、肠道等多器官病变。AS 患病率及致残率较高, 给患者身心健康带来极大影响, 是严重的公共卫生问题。AS 病因目前尚未明确, 学术界认为 AS 是遗传因素和环

境因素共同作用的一种复杂疾病, 研究<sup>[2]</sup>表明遗传因素是引起该病的最主要因素。本研究采用全外显子测序技术(whole-exome sequencing, WES)对 1 例 AS 家系进行分析, 以探索造成该病的相关基因及分子机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

本研究对象是 1 例绍兴籍 AS 家系(图 1)。其中先证者, 48 岁, 因腰背部和臀部疼痛、僵硬难忍, 夜间往往痛醒前来就诊。患者初始发病年龄 25 岁, 病程 23 年。自诉初始发病时有腰骶部僵硬感, 早晨起床困难, 活动后僵硬感缓解。目前腰背部及臀部疼痛难忍, 服用非甾体抗炎药止痛效果不明显, 夜间往往

基金项目: 浙江省科技计划项目(编号: 2014C03031)

Fund program: Planned Project of Zhejiang Provincial Department of Science and Technology (No. 2014C03031)

通讯作者: 全仁夫 E-mail: quanrenfu@126.com

Corresponding author: QUAN Ren-fu E-mail: quanrenfu@126.com

痛醒。体格检查直腿抬高试验阴性,“4”字试验阳性,脊柱各方向活动度减弱,腰椎棘突压痛。影像学显示脊柱侧弯,胸腰椎轻度后凸畸形,椎体呈方椎改变,所见各椎体呈竹节样改变,所见各小关节面模糊,两侧骶髂关节面呈骨性融合(图 2)。实验室检查 HLA-B27 阳性,类风湿因子阴性 11.5 IU/ml, C-反应蛋白 18.10 mg/L。先证者儿子, 18 岁, 发病年龄 14 岁, 当时感觉腰骶部晨僵、疼痛, 活动后减轻, 疼痛时服用布洛芬可迅速缓解, 实验室检查 HLA-B27 阳性。本研究获医院伦理委员会批准, 所有研究对象都知情同意并签署知情同意后, 家系成员抽取 5 ml 外周血, EDTA 抗凝, 采用 DNA 提取试剂盒按照说明书提取基因组 DNA, -80 °C 冰箱保存。

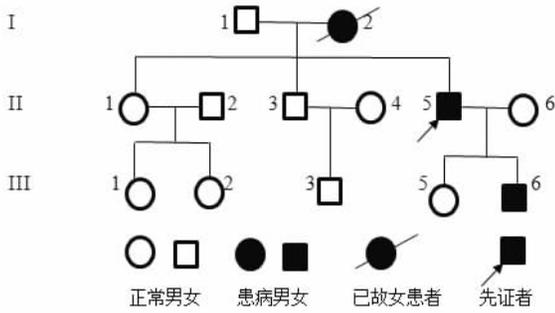


图 1 AS 患者家系图  
Fig.1 Family pedigree of AS

1.2 外显子测序

本研究对该家系中先证者, 先证者妻子, 先证者患病的儿子及先证者未患病的女儿 4 人采取全外显子测序。取适量 DNA 原液进行纯度检测是否满足测序要求。测序服务由武汉华大医学检验所有限公司提供。测序过程包括: DNA 经超声打断, 末端补平修复, 3' 末端腺苷化, 两端加上文库接头, 文库线性扩

增后与外显子芯片进行捕获富集, 洗脱掉未富集的片段后进行扩增, 质控合格后上机测序。测序平台使用 BGISEQ-500, 测序得到的原始图像数据, 经 BGISEQ-500 碱基识别软件转化为原始序列数据。

1.3 测序数据分析

对原始下机数据进行过滤得到有效数据。接着, 使用比对软件(burrows-wheeler aligner, BWA)将每个样品的有效数据, 比对到人的参考基因组, 得到 BAM 格式最初的比对结果文件。对比结果, 使用 GATK(v3.6)的 Haplotype Caller 工具同时检测单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和插入或缺失(insertion-deletion, InDel), 并对原始数据过滤得到高质量的变异结果。接下来, 使用 SnpEff 软件对变异结果进行注释及影响预测。

1.4 基因变异的选择

去除同义突变, 关注非同义突变、剪接突变、移码突变。去除千人基因组数据库、NHLBI-ESP6500 数据库、ExAC 数据库中 MAF (MAF 次等位基因频率) ≥ 5% 高频变异, 因为高频变异一般都不是致病突变。关注 SIFT/PolyPhen2/Mutation assessor/Condel/FATHMM 等工具预测有害的变异。保留家系患者共有而正常人不具有的变异。候选基因在 NCBI、GeneCards、OMIM 等数据库查找其相关功能, 分析其与炎症信号通路或者成骨、破骨信号通路相关。

2 结果

2.1 DNA 检测结果

基因组 DNA 检测合格, 符合建库要求, 检测结果如表 1。

2.2 测序数据产出

本次测序 4 个样本, 平均每个样本测序得到 20 251.68 Mb 的原始数据。在去除低质量的数据后, 平均每个样本得到 20 225.06 Mb 有效数据。每个样

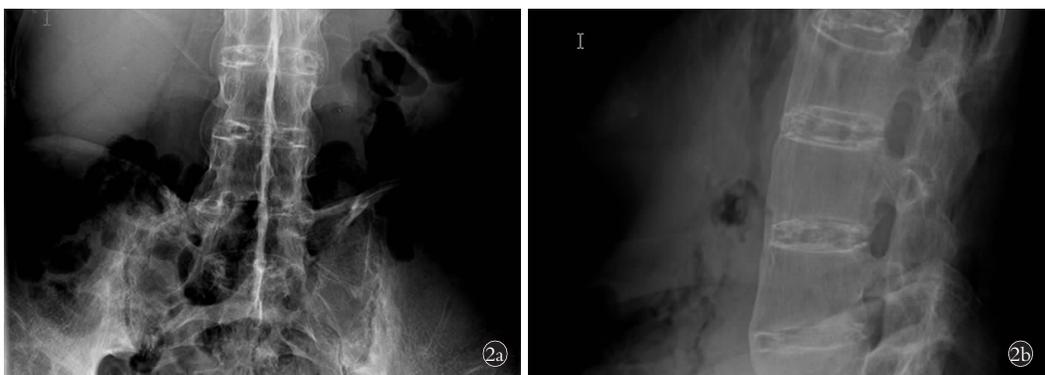


图 2 先证者, 男, 48 岁, 强直性脊柱炎 2a. 骨盆正位 X 线片示两侧骶髂关节呈骨性融合 2b. 腰椎侧位 X 线片示椎体呈方椎改变, 各椎体呈竹节样改变, 各小关节面模糊

Fig.2 Propositus, male, 48 years old, ankylosis spondylitis 2a. AP X-ray of pelvic showed bone fusion of bilateral sacroiliac joints 2b. Lateral X-ray of lumbar showed lumbar vertebrae were square vertebral changes, each vertebral body showed bamboo-like changes, and facet joints were lurred

表 1 样品检测结果  
Tab.1 Test result of sample

| 序号 | 样品名称  | 浓度(ng/μl) | 体积(μl) | 总量(μg) | 建库类型            | 结果说明 |
|----|-------|-----------|--------|--------|-----------------|------|
| 1  | II 5  | 31.1      | 50     | 1.555  | BGISEQ- 500 WES | 合格   |
| 2  | II 6  | 44.9      | 50     | 2.245  | BGISEQ- 500 WES | 合格   |
| 3  | III 5 | 68.2      | 50     | 3.410  | BGISEQ- 500 WES | 合格   |
| 4  | III 6 | 59        | 50     | 2.950  | BGISEQ- 500 WES | 合格   |

表 2 外显子测序数据统计表  
Tab.2 Summary of whole-exome sequencing data

| 样本    | 原始数据(Mb)  | 有效数据(Mb)  | 有效数据比 (%) | 有效数据 Q20 (%) | 有效数据 Q30 (%) | GC 含量 (%) |
|-------|-----------|-----------|-----------|--------------|--------------|-----------|
| II 5  | 19 940.03 | 19 917.12 | 99.89     | 98.08        | 91.89        | 48.52     |
| II 6  | 19 686.30 | 19 649.56 | 99.81     | 98.24        | 92.51        | 48.45     |
| III 5 | 21 392.47 | 21 367.86 | 99.88     | 98.12        | 92.07        | 47.48     |
| III 6 | 19 987.93 | 19 965.70 | 99.89     | 98.12        | 92.01        | 47.03     |
| 平均    | 20 251.68 | 20 225.06 | 99.87     | 98.14        | 92.12        | 47.87     |

本的有效数据具有较高的 Q20 (碱基识别正确率 99%)和 Q30(碱基识别正确率 99.9%),这表明测序数据具有较好的测序质量。平均 GC 含量是 47.68%。见表 2。SNPs 单核苷酸多态性:与参考基因组比对,有差异的单个核苷酸位点。

2.3 SNP 结果

在总体的 SNP 中,编码区域内平均有 10 756 个同义突变,10 259 个错义突变,有 31 个突变使得终止密码子变为非终止密码子;87 个突变使得密码子变为非起始密码子;18 个突变使得起始密码子变为非密码子;88 个剪切突变。各样本及总体分布见表 3。

2.4 InDel 结果

在总体的 InDel 中,编码区域内有 315 个移码突变,93 个非移码插入突变,154 个非移码缺失突变,有 0 个突变使得终止密码子变为非终止密码子;3 个突变使得起始密码子变为非起始密码子;83 个剪切突变。各样本及总体分布见表 4。

2.5 候选基因

通过家系成员外显子测序,并进行过滤分析,最终发现 JAK2 基因 12 号外显子上存在一个杂合错义突变 c.1709A>G(p.Tyr570Cys)。既往曾在汉族人群中研究发现 JAK2 基因多态性与 AS 相关<sup>[3]</sup>。JAK2 基因突变,会影响表达的两面神激酶 2(janus kinase 2, JAK2)的活性。后者是白细胞介素(interleukin, IL)-23/IL-17 炎症轴的组成成分,IL-23/IL-17 轴失调是造成 AS 患者炎症症状的重要因素。在家系中进行 sanger 验证,发现表型正常的人中不携带此突变。因此,笔者认为 JAK2 基因 c.1709A>G(p.Tyr570Cys)为该家系的可能致病基因突变。此外,还发现先证者

表 3 编码区的 SNP 的功能分类统计  
Tab.3 Functional categories for coding SNPs

| 样本    | 同义突变   | 错义突变   | 无义突变 | 终止密码子丢失 | 起始密码子丢失 | 剪切突变 |
|-------|--------|--------|------|---------|---------|------|
| II 5  | 10 520 | 9843   | 87   | 29      | 15      | 86   |
| II 6  | 10 806 | 10 106 | 76   | 30      | 15      | 84   |
| III 5 | 10 833 | 10 192 | 93   | 33      | 21      | 95   |
| III 6 | 10 864 | 10 896 | 93   | 33      | 21      | 88   |
| 平均    | 10 756 | 10 259 | 87   | 31      | 18      | 88   |

和其儿子携带有 MUC3A 基因 c.1151T>C 突变,查阅文献,MUC3A 基因突变与炎性肠病相关。询问患者,先证者和其儿子平时易腹泻、腹痛,大便有里急后重之感,此基因突变可能是该家系患病成员肠道症状的原因之一。

3 讨论

3.1 AS 临床特点及本次试验研究结果

AS 是临床上常见的一种疾病,其主要特点是中轴肌腱炎和滑膜炎,最终导致骶髂关节和脊柱的纤维化和晚期骨性强直。其病理表现为炎性骨破坏及病理性骨化<sup>[4]</sup>。目前 AS 的病因和发病机制尚未完全明了,现在学术界认为其发病与环境、遗传、免疫等因素有关,已鉴定出的 AS 易感基因多与免疫相关。既往研究发现 HLA-B27 与本病强相关,但是人群中只有不到 8% 的 HLA-B27 阳性人群最终会发展为 AS<sup>[5]</sup>,同时临床也存在许多 HLA-B27 阴性的患者,表明还存在其他重要的基因影响 AS 的发病。本研究的家系中先证者为患病的女儿检测 HLA-B27 也为阳性,基因比对结果显示与家系 2 例患者携带相

表 4 编码区的 InDel 的功能分类统计  
Tab.4 Functional categories for coding InDels

| 样本    | 移码突变 | 非移码插入 | 非移码删除 | 终止密码子丢失 | 起始密码子丢失 | 剪切突变 |
|-------|------|-------|-------|---------|---------|------|
| II 5  | 310  | 91    | 158   | 0       | 4       | 82   |
| II 6  | 317  | 96    | 153   | 0       | 3       | 86   |
| III 5 | 306  | 89    | 150   | 0       | 3       | 80   |
| III 6 | 327  | 94    | 155   | 0       | 2       | 83   |
| 平均    | 315  | 93    | 154   | 0       | 3       | 83   |

同的 HLA-B27 基因型,但其并未患病,说明还存在其他重要的基因影响此家系的发病。

本研究发现 JAK2 基因可能是该家系的致病基因, JAK2 基因位于 9 号染色体, 其表达产物属于蛋白酪氨酸激酶中的一种。JAK2 广泛参与炎症反应、氧化应激、细胞损伤、凋亡、介导机体免疫功能等过程<sup>[6]</sup>, 其中 JAK2 可能通过 IL-23/IL-17 炎症轴参与 AS 的发病。此炎症轴主要过程为 IL-23 与 IL-23R 的结合导致 JAK2 的活化, 活化后的 JAK2 可以在离散位置磷酸化 IL-23R, 从而形成 STAT3 的停靠位点。然后 STAT3 被 JAK2 磷酸化并且二聚化, 转移至细胞核并激活关键促炎基因 IL-17 的转录<sup>[7]</sup>。IL-17 能激活巨噬细胞、树突状细胞、成纤维细胞、软骨细胞以及成骨细胞等多种细胞, 生成数量众多的致炎破坏性因子。同时在骨组织中, IL-17 诱导成骨细胞表达细胞核因子 Kb 受体活化因子配体 (receptor or activator of NF-Kb ligand, RANKL), 激活破骨细胞, 使骨吸收增多, 造成骨丢失, 直接或间接地导致骨质破坏, 这也是 AS 患者存在骨密度下降的原因之一<sup>[8]</sup>。笔者推测 JAK2 基因 c.1709A>G 基因突变会造成表达 JAK2 蛋白活性增加, 随后磷酸化 STAT3 的能力加强, 进而使机体表达更多的 IL-17, 加重炎症反应。既往研究显示, AS 患者外周血和关节液中 Th17 细胞数量及 IL-17 浓度均较健康者显著升高<sup>[9]</sup>, 表明 AS 患者体内 IL-17 属于过表达的状态。

黏蛋白 3A (mucoprotein 3A, MUC3A) 是蛋白质编码基因, 其编码上皮糖蛋白。上皮糖蛋白是各种黏液凝胶的主要糖蛋白成分, 为黏膜表面提供防止颗粒和感染因子的保护性润滑屏障作用<sup>[10]</sup>。本研究家系中, 2 例 AS 患者具有的 MUC3A 基因突变, 会造成表达的蛋白质结构相应改变。蛋白质的构象改变可能造成其糖基化不足, 对蛋白酶的敏感性增加, 糖蛋白的降解可以破坏其肠道上皮屏障功能, 更易造成肠道的感染, 造成肠道菌群的失调, 所以患者有腹痛、腹泻等肠道症状。文献<sup>[11]</sup>报道, 50%~60% 的 AS 患者存在显微镜下肠道炎症, 而 HLA-B27 转基因大

鼠模型的脊柱炎症状会在无菌环境下消失<sup>[12]</sup>, 表明肠道菌群与 AS 发病密切相关。但 MUC3A 基因突变在 AS 患者中是否具有普遍性, 还需要进一步的研究。

### 3.2 全外显子测序技术简介及其应用

既往研究复杂疾病多以全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 为主, 已确定 50 多种基因与 AS 相关。但是 GWAS 这种方法存在很多缺陷, 如鉴定出与疾病相关的基因位点多是位于内含子区或基因间, 很少位于功能区或编码区, 并且多数是发现影响较小的常见变异 (minor allele frequency, MAF) > 5%, 而越来越多的研究结果发现复杂疾病是由稀有变异 (MAF < 5%) 造成的<sup>[13-14]</sup>。并且全基因组所需样本量巨大、花费时间长也限制其应用。随着高通量测序技术的发展, 全外显子测序越来越多的运用于孟德尔疾病与复杂疾病的研究。外显子测序是指利用序列捕获技术将全基因组外显子区域 DNA 捕捉并富集后进行高通量测序的基因组分析方法。虽然人类外显子组区域仅占整个基因组序列的 1%, 但约 85% 的致病突变都位于此区域<sup>[15]</sup>。外显子测序具有以下优点: (1) 全外显子测序费用相对低廉。(2) 由于测序的序列少, 所以测序时间较短, 进而提高了研究效率。(3) 外显子测序无论样本量大小, 是否来自同一家族, 都可进行测序整合分析。(4) 外显子测序能够较为准确地确定候选基因, 为后续的筛选及鉴定基因功能提供方便。

外显子测序在疾病的基因诊断和致病基因的研究方面有广阔的前景, 已广泛运用于孟德尔疾病、癌症以及复杂疾病。Choi 等<sup>[16]</sup>对疑似 Bartter 综合征的 5 例患者进行测序发现其中 1 例是先天性氯腹泻, 而不是 Bartter 综合征, 后来发现其临床也支持这个诊断。胡娟等<sup>[17]</sup>运用外显子测序诊断 1 例患儿为 2A 型肢带型肌营养不良, 以便于对患儿进行早期治疗。运用外显子测序的方式寻找疾病相关致病基因及突变位点, 探索其致病机制, 对于疾病的早期诊断及尽早进行治疗干预, 具有深远的意义。

### 3.3 本次研究意义及展望

本次研究对 1 例 AS 家系进行外显子测序并进行生物信息学分析, 证实了 JAK2 基因突变与 AS 相关并发现了潜在的致病突变位点, 为其发病的机制提供了理论依据。随着技术的发展, 研究的深入, 在以后的研究中, 运用全外显子测序等方法, 更多与 AS 相关的突变基因可能被发现, 这些特定的突变基因, 为以后疾病的早期诊断及靶向药物的运用奠定了基础。

下一步, 课题组准备检测家系中患病成员及非患病成员细胞中 JAK2 基因表达量, 并进行蛋白质

功能结构分析, 进而在大样本及更多家系中做验证分析。

#### 参考文献

- [1] 徐步国, 严世贵, 王祥华, 等. 全髋关节置换术治疗强直性脊柱炎髋关节强直的中期疗效随访[J]. 中国骨伤, 2013, 26(12): 1052-1056.  
XU BG, YAN SG, WANG XH, et al. Medium term follow up outcomes of total hip arthroplasty for patients with ankylosing spondylitis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(12): 1052-1056. Chinese with abstract in English.
- [2] Akkoc N, Yarkan H, Kenar G, et al. Ankylosing spondylitis: HLA-B\*27-positive versus HLA-B\*27-negative disease[J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(5): 26.
- [3] Chen C, Zhang XS, Wang Y. Analysis of JAK2 and STAT3 polymorphisms in patients with ankylosing spondylitis in Chinese Han population[J]. Clin Immunol, 2010, 136(3): 442-446.
- [4] Ranganathan V, Gracey E, Brown MA. Pathogenesis of ankylosing spondylitis-recent advances and future directions[J]. Nat Rev Rheumatol, 2017, 13(6): 359-367.
- [5] Lin H, Gong YZ. Association of HLA-B27 with ankylosing spondylitis and clinical features of the HLA-B27-associated ankylosing spondylitis: a meta-analysis[J]. Rheumatol Int, 2017, 37(8): 1267-1280.
- [6] 李旭升, 陈慧, 甄平, 等. JAK2/STAT3 信号通路介导姜黄素在骨性关节炎软骨细胞代谢中的影响[J]. 中国骨伤, 2016, 29(12): 1104-1109.  
LI XS, CHEN H, ZHEN P, et al. JAK2/STAT3 signal pathway mediating curcumin in cartilage cell metabolism of osteoarthritis[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2016, 29(12): 1104-1109. Chinese with abstract in English.
- [7] 陈超. ERAP1、ANTXR2、IL1R2、IL23R、JAK2 和 STAT3 多态性与强直性脊柱炎的关联性研究[D]. 军医进修学院, 2010.  
Chen C. Association of ERAP1, ANTXR2, IL1R2, IL23R, JAK2 and STAT3 polymorphisms with ankylosing spondylitis[D]. Jun Yi Jin Xue Xue Yuan, 2010. Chinese.
- [8] Babaie F, Hasankhani M, Mohammadi H, et al. The role of gut microbiota and IL-23/IL-17 pathway in ankylosing spondylitis immunopathogenesis: New insights and updates[J]. Immunol Lett, 2018, 196: 52-62.
- [9] Jethwa H, Bowness P. The IL23/IL17 axis in Ankylosing spondylitis: New advances and potentials for treatment[J]. Clin Exp Immunol, 2016, 183(1): 30-36.
- [10] Pan Q, Tian Y, Li X, et al. Enhanced membrane-tethered mucin 3 (MUC3) expression by a tetrameric branched peptide with a conserved TFLK motif inhibits bacteria adherence[J]. J Biol Chem, 2013, 288(8): 5407-5416.
- [11] Costello ME, Ciccio F, Willner D, et al. Brief report: intestinal dysbiosis in ankylosing spondylitis[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(3): 686-691.
- [12] Kim D, Yoo SA, Kim WU. Gut microbiota in autoimmunity: potential for clinical applications[J]. Arch Pharm Res, 2016, 39(11): 1565-1576.
- [13] McClellan JM, Susser E, King MC. Schizophrenia: a common disease caused by multiple rare alleles[J]. Br J Psychiatry, 2007, 190: 194-199.
- [14] McClellan J, King MC. Genetic heterogeneity in human disease[J]. Cell, 2010, 141(2): 210-217.
- [15] Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases[J]. Nature, 2009, 461(7265): 747-753.
- [16] Choi M, Scholl UI, Ji W, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing[J]. Proc Natl Acad Sci, 2009, 106(45): 19096-19101.
- [17] 胡娟, 申春梅, 王剑, 等. 高通量全外显子测序诊断 2A 型肢带型肌营养不良 1 例[J]. 检验医学, 2016, 31(12): 1093-1096.  
HU J, SHEN CM, WANG J, et al. Diagnosis of a case with type 2A of limb-girdle muscular dystrophy by high-throughput sequencing[J]. Jian Yan Yi Xue, 2016, 31(12): 1093-1096. Chinese.

(收稿日期: 2019-08-21 本文编辑: 李宜)