

# 非综合征性唇腭裂患儿 CRISPLD2 基因多态性与 腭裂整复术后语音功能恢复效果相关性研究

冯国维, 宋佳凝, 李觉慧, 李亚奇 (西安市儿童医院口腔科, 西安 710003)

**摘要:** 目的 研究非综合征性唇腭裂 (non-syndromic cleft lip and palate, NSCLP) 患儿 CRISPLD2 基因多态性与腭裂整复术后语音功能恢复效果相关性。方法 纳入 2018 年 3 月~2020 年 3 月在西安市儿童医院口腔科就诊的 132 例 NSCLP 患儿作为观察组, 按 1:1 比例纳入同期 132 例健康儿童作为对照组。采用聚合酶链式反应-变性高效液相色谱分析法 (polymerase chain reaction-denaturing high performance liquid chromatography, PCR-DHPLC) 检测 CRISPLD2 基因各单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点基因多态性, 比较两组儿童 CRISPLD2 基因多态性分布。NSCLP 患儿均接受腭裂整复术干预治疗, 记录患儿术后语音恢复效果。分析影响患儿术后语音功能恢复的相关因素。结果 观察组 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点 AA 基因型频率为 42.42%, 高于对照组的 19.70%, 差异具有统计学意义 ( $\chi^2=15.971$ ,  $P < 0.05$ )。rs2934468 位点等位基因 A 频率增加, 将显著增加 NSCLP 发病风险 (OR=1.864, 95%CI=1.215~2.860)。rs2934468 位点 AA 基因型儿童发生 NSCLP 的风险较 GG 基因型和 AG 基因型儿童显著增加 (OR=2.252, 95%CI=1.597~3.176)。132 例 NSCLP 术后 1 年语音功能恢复优良者 108 例, 优良率为 81.82%, 语音功能恢复差者 24 例。不同语音功能恢复效果 NSCLP 患儿的年龄、语音训练情况、听力障碍、心理障碍、CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型及等位基因分布比较, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=3.915\sim15.873$ , 均  $P < 0.05$ )。Logistic 多因素分析结果显示年龄、语音训练及听力障碍是影响患儿术后语音功能恢复优良率的独立因素 (均  $P < 0.05$ ), 而心理障碍和 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型及等位基因分布并非是影响患儿术后语音功能恢复的独立因素 ( $P > 0.05$ )。结论 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点突变是 NSCLP 致病的重要因素, 而其并非是影响患儿术后语音功能恢复的独立因素。早期的手术干预并在术后加强语音功能的训练有利于 NSCLP 患儿语音功能的恢复。

**关键词:** CRISPLD2; 基因多态性; 非综合征性唇腭裂; 语音功能

中图分类号: R782.2; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 02-042-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.009

## Correlation between CRISPLD2 Gene Polymorphism and Speech Function Recovery after Cleft Palate Surgery in Children with Non-syndromic Cleft Lip and Palate

FENG Guo-wei, SONG Jia-ning, LI Jue-hui, LI Ya-qi

(Department of Stomatology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, China)

**Abstract: Objective** To study the correlation between CRISPLD2 gene polymorphism and speech function recovery after non-syndromic cleft lip and palate (NSCLP). **Methods** A total of 132 children with NSCLP treated in the Department of Stomatology of Xi'an Children's Hospital from March 2018 to March 2020 were included as the observation group, and 132 healthy children in the same period were included as the control group in a 1:1 ratio. The polymerase chain reaction-denaturing high performance liquid chromatography (PCR-DHPLC) was used to detect single nucleotide polymorphism (SNP) of CRISPLD2 gene, and the distribution of CRISPLD2 gene polymorphism was compared between the two groups of children. All the children with NSCLP received cleft palate reconstruction intervention treatment, and the postoperative speech recovery effect was recorded. To analyze the related factors affecting the recovery of postoperative speech function in children. **Results** The AA genotype frequency of CRISPLD2 gene rs2934468 in the observation group was 42.42%, which was higher than that of the control group of 19.70%, the difference was statistically significant ( $\chi^2=15.971$ ,  $P < 0.05$ ). The increased frequency of allele A at rs2934468 locus would significantly increase the risk of NSCLP (OR=1.864, 95%CI=1.215~2.860). The children with AA genotype at rs2934468 had a significantly higher risk of NSCLP than children with GG and AG genotypes (OR=2.252, 95%CI=1.597~3.176). There were 108 cases who had excellent speech function recovery one year after operation in the 132 cases of NSCLP, the excellent and good rate of 81.82%, and 24 cases had poor speech function recovery. There were

作者简介: 冯国维 (1990-), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 儿童口腔医学、口腔颌面外科, E-mail: 122624026@qq.com.

通讯作者: 宋佳凝 (1988-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 儿童口腔医学, E-mail: 602688908@qq.com.

statistically significant differences in the age, speech training, hearing impairment, psychological disorder, genotype and allele distribution of CRISPLD2 rs2934468 locus in children with NSCLP of different voice function recovery effects ( $\chi^2=3.915\sim15.873$ , all  $P < 0.05$ ). Logistic multivariate analysis showed that age, speech training and hearing impairment were independent factors, which affected the excellent rate of postoperative speech function recovery of children (all  $P < 0.05$ ). Psychological disorders and genotype and allele distribution of rs2934468 of CRISPLD2 gene were not independent factors affecting postoperative speech function recovery in children ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The mutation of rs2934468 of CRISPLD2 gene is an important factor in the pathogenesis of NSCLP, but it is not an independent factor affecting the recovery of postoperative speech function in children. Early surgical intervention and enhanced speech function training after surgery are beneficial to the recovery of speech function in children with NSCLP.

**Keywords:** CRISPLD2; gene polymorphism; non-syndromic cleft lip and palate; voice function

非综合征性唇腭裂 (non-syndromic cleft lip and palate, NSCLP) 是口腔颌面部常见先天发育异常疾病, 不仅影响患儿语言功能, 造成交流障碍, 还给患儿带来沉重的心理压力, 增加家庭经济负担<sup>[1]</sup>。目前认为, 遗传是 NSCLP 重要的致病因素, 但对其具体机制尚不明确。CRISPLD2 基因是位于 16q24.1 染色体区内的 NSCLP 易感基因, 既往已有报道显示 CRISPLD2 基因突变可能是婴幼儿颌面发育异常的诱因<sup>[2]</sup>。彭莉等<sup>[3]</sup>研究显示 rs1546124 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 分布在 NSCLP 与健康儿童中存在显著差异, 而袁园等<sup>[4]</sup>的报道则未显示出显著性差异, 这一结果提示 CRISPLD2 与 NSCLP 的关系可能受地域因素影响, 存在遗传异质性特点。因而, 本研究拟分析 CRISPLD2 与 NSCLP 致病的关系, 并探讨 CRISPLD2 基因多态性评估术后语音功能恢复效果的价值。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 收集 2018 年 3 月~2020 年 3 月西安市儿童医院口腔科收治的 132 例 NSCLP 患儿作为观察组, 按 1:1 比例纳入同期 132 例健康儿童作为对照组。对照组中男性 74 例, 女性 58 例; 年龄 7.03(1~12) 岁; 体重指数  $15.46 \pm 1.29 \text{ kg/m}^2$ 。观察组中男性 81 例, 女性 51 例; 年龄 6.85(1~11) 岁; 体重指数  $15.75 \pm 1.33 \text{ kg/m}^2$ 。两组儿童性别、年龄和体重指数比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有良好的可比性。

**纳入标准:** ① NSCLP 诊断均参照《中国出生缺陷工作手册》第 23 类出生缺陷定义<sup>[5]</sup>, 健康儿童均为本院体检健康志愿者; ② 儿童年龄 1~12 岁; ③ NSCLP 均在本院接受腭裂整复术。

**排除标准:** ① 并发有其他先天性心脏病、其他颌面部畸形疾病者; ② 肝肾功能不全者; ③ 综合征性唇腭裂者。

**1.2 仪器与试剂** 美国 Transgenomic 公司 WAVE 型变性高效液相色谱分析法 (denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC) 分析仪; ABI3730XL 全

自动 DNA 测序仪; DNASep 分离柱; 紫外可见分光光度计购自上海仪电分析仪器有限公司。

**1.3 方法** DNA 样本提取: 在儿童入院 2 天内清晨空腹采血 3~4 ml, 抗凝处理后备用, 以酚-氯仿法提取 DNA。SNP 位点选择: 在 dbSNP 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) 中选择 SNP 位点, 选择标准<sup>[6]</sup>: ① 位于 CRISPLD2 编码区非同义 SNPs(nsSNPs); ② 最小基因频率 >20%, 杂合度  $\geq 0.3$ ; ③ 既往已有关于各位点在其他人群中的关联分析。

**PCR 反应体系:** 基因组 DNA 1  $\mu\text{l}$ , 10  $\times$  Taq E buffer 2.5  $\mu\text{l}$ , dNTP 0.5  $\mu\text{l}$ , 上下游引物各 0.5  $\mu\text{l}$ , Taq 酶 0.2  $\mu\text{l}$ , 灭菌离子水 19.8  $\mu\text{l}$ 。反应条件: 预变性 94  $^{\circ}\text{C}$  60s, 变性 94  $^{\circ}\text{C}$  30s, 58  $^{\circ}\text{C}$  退火 30s, 延伸 72  $^{\circ}\text{C}$  60s, 30 个循环, 引物设计见表 1。

**DHPLC 分析:** 采用 DHPLC 分析仪对 PCR 扩增片段进行分析。将 PCR 产物于 95  $^{\circ}\text{C}$  下变性 5min, 再逐渐降温至 56  $^{\circ}\text{C}$  进行复性, 采用 Wavemaker4.0 软件对各位点 PCR 选择解链温度, 进样 5  $\mu\text{l}$  PCR 产物, 采用分离柱进行梯度脱洗, 用紫外可见分光光度计检测  $A_{260\text{nm}}$  波长处吸收峰。

**术后语音功能恢复效果评价:** 术后 1 年时采用“百字语音测评表”对患儿语音功能恢复效果进行评估<sup>[7]</sup>。检测由本院 2 名语音师进行, 根据患儿读音结果进行评估。优: 读音正确率  $\geq 85\%$ ; 良:  $60\% \leq$  读音正确率  $<85\%$ ; 差: 读音正确率  $<60\%$ 。连续检测 3 次, 取平均值进行记录。

表 1 PCR 引物设计

SNPs	引物序列	引物长度 (bp)
rs1546124	5'-CTGTGGGACCTTCTTGTCTT-3'	351
	5'-TCGTTGTGCTGCTATTTGCT-3'	
rs16974880	5'-AGGCTGGTCTCGAAGCTCTT-3'	356
	5'-CTCTTTGGAATACCGGTAGG-3'	
rs2934468	5'-ACGTTGGATGCTGGATTGTC-3'	347
	5'-ACGTTGGATGCATACCGTATC-3'	
rs4783099	5'-CTTTCTTTGCAAGCGAACC-3'	328
	5'-ACGTTTGGCAAGAGTCGTTT-3'	

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件包对数据进行分析, 计数资料以频数 (频率) 表示, 组间比较行  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率检验, 等级资料采用秩和检验, 符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 结果采用  $t$  检验, 不符合正态分布时, 以中位数四分位数 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示, 组间进行非参数检验, 采用 Hardy-Weinberg 平衡检验法对群体基因型频率进行检验,  $P > 0.01$  为符合 Hardy-

Weinberg 遗传平衡, 关联强度以比值比 (odds ratio, OR) 表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组 CRISPLD2 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果 见表 2。经卡方检验显示, CRISPLD2 基因 rs1546124, rs16974880, rs2934468 及 rs4773099 位点基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡 (均  $P > 0.01$ )。

表 2 两组 CRISPLD2 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果

SNPs	基因型	观察组				对照组			
		实际频数	理论频数	$\chi^2$	$P$	实际频数	理论频数	$\chi^2$	$P$
rs1546124	GG	38	27.33	0.794	0.672	50	37.54	1.579	0.454
	CG	62	45.12			60	46.92		
	CC	32	30.08			22	10.16		
rs16974880	TT	72	51.16	0.852	0.653	64	40.38	0.120	0.942
	TG	45	24.58			56	34.36		
	GG	15	9.37			12	7.07		
rs2934468	GG	26	17.78	0.222	0.895	38	19.78	1.181	0.554
	AG	50	39.68			68	45.89		
	AA	56	42.59			26	12.12		
rs4773099	CC	42	21.75	1.055	0.590	40	19.67	0.249	0.883
	CT	53	36.60			58	23.54		
	TT	37	26.43			34	14.08		

2.2 两组 CRISPLD2 基因型和等位基因比较 见表 3。两组 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型和等位基因分布比较差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。rs2934468 位点等位基因 A 频率增

加, 将显著增加 NSCLP 发病风险 (OR=1.864, 95%CI=1.215~2.860), rs2934468 位点 AA 基因型儿童发生 NSCLP 的风险较 GG 基因型和 AG 基因型儿童显著增加 (OR=2.252, 95%CI=1.597~3.176)。

表 3 两组 CRISPLD2 基因型和等位基因比较 [ $n=132, n(\%)$ ]

SNPs			观察组	对照组	$\chi^2$ 值	$P$ 值
rs1546124	等位基因	G	138(52.27)	160(60.61)	1.510	0.219
		C	126(47.73)	104(39.39)		
	基因型	GG	38(28.79)	50(37.88)	3.521	0.172
		CG	62(46.97)	60(45.45)		
rs16974880	等位基因	CC	32(24.24)	22(16.67)	1.179	0.278
		T	189(71.59)	184(69.70)		
	基因型	G	75(28.41)	80(30.30)	2.002	0.368
		TT	72(54.55)	64(48.48)		
rs2934468	等位基因	TG	45(34.09)	56(42.42)	8.782	0.003
		GG	15(11.36)	12(9.09)		
	基因型	G	102(38.64)	144(54.55)	15.971	<0.001
		A	162(61.36)	120(45.45)		
rs4773099	等位基因	GG	26(19.70)	38(28.79)	0.274	0.601
		AG	50(37.88)	68(51.52)		
	基因型	AA	56(42.42)	26(19.70)	0.401	0.818
		C	137(51.89)	138(52.27)		
		T	127(48.11)	126(47.73)		
		CC	42(31.82)	40(30.30)		
		CT	53(40.15)	58(43.94)		
		TT	37(28.03)	34(25.76)		

2.3 不同语音功能恢复效果 NSCLP 患儿相关因素的比较 见表4。132例 NSCLP 患儿术后1年时语音恢复效果优58例,良50例,差24例,优良率为81.82%。不同 NSCLP 患儿的性别和术式比较差异无

统计学意义 ( $P > 0.05$ )。不同语音功能恢复效果 NSCLP 患儿的年龄、语音训练情况、听力障碍、心理障碍、CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型及等位基因分布比较差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。

表4 不同语音功能恢复效果 NSCLP 患儿相关因素的比较 [n(%)]

类别		n	优良 (n=108)	差 (n=24)	$\chi^2$ 值	P 值
性别	男	81	68(62.96)	13(54.17)	0.641	0.423
	女	51	40(37.04)	11(45.83)		
年龄 (岁)	<3	60	54(50.00)	6(25.00)	15.873*	<0.001
	3~6	40	36(33.33)	4(16.67)		
	>6	32	18(16.67)	14(58.33)		
术式	Furlow 术式	31	24(22.22)	7(29.17)	2.215*	0.542
	改良兰式法	33	28(25.93)	5(20.83)		
	Sommerlad 术	34	30(27.78)	4(16.67)		
	咽成形术	34	26(24.07)	8(33.33)		
语音训练	经常	53	48(44.44)	5(20.83)	11.822	0.003
	偶尔	40	35(32.41)	5(20.83)		
	无	39	25(23.15)	14(58.33)		
听力障碍	是	54	39(36.11)	15(62.50)	5.657	0.017
	否	78	69(63.89)	9(37.50)		
心理障碍	有	50	36(33.33)	14(58.33)	5.216	0.022
	无	82	72(66.67)	10(41.67)		
rs2934468 等位基因	G	122	106(49.07)	16(33.33)	3.915	0.048
	A	142	110(50.93)	32(66.67)		
rs2934468 基因型	GG	26	22(20.37)	4(16.67)	14.748*	<0.001
	AG	50	48(44.44)	2(8.33)		
	AA	56	38(35.19)	18(75.00)		

注: \* 采用 Fisher 精确概率检验。

2.4 NSCLP 患儿术后语音恢复效果的相关性分析 对影响 NSCLP 患儿术后语音功能恢复效果的相关因素赋值结果见表5。采用 Logistic 多因素分析影响术后语音功能恢复效果的相关因素见表6。结果显示年龄、语音训练、听力障碍是影响患儿术后语音功能恢复的独立因素 ( $P < 0.05$ ), 而心理障碍和 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型及等位基因分布并非是影响患儿术后语音功能恢复的独立因素 ( $P > 0.05$ )。

表5 NSCLP 患儿语音恢复效果相关因素分析

因素	赋值
性别	男=0, 女=1
年龄	<3岁=0, 3~6岁=1, >6岁=2
术式	Furlow 术式=0, 改良兰式法=1, Sommerlad 术=2, 咽成形术=3
语音训练	经常=0, 偶尔=1, 无=2
听力障碍	否=0, 是=1
心理障碍	无=0, 有=1
CRISPLD2 基因 rs2934468	等位基因: G=0, A=1 基因型: GG=0, AG=1, AA=2

表6 术后语音功能恢复效果的 Logistic 分析结果

因素	Wald $\chi^2$	$\beta$	SE	OR (95%CI)	P
年龄	10.818	0.795	0.242	2.215(1.379~3.558)	0.001
语音训练	7.662	-0.323	0.117	0.724(0.576~0.910)	0.006
听力障碍	8.763	0.547	0.185	1.728(1.203~2.482)	0.003
心理障碍	0.665	0.510	0.625	1.665(0.489~5.669)	0.415
rs2934468 位点基因型	1.825	0.462	0.342	1.587(0.812~3.102)	0.177
rs2934468 位点等位基因	1.991	0.733	0.519	2.081(0.752~5.759)	0.158



### 3 讨论

目前,临床普遍认为 NSCLP 是由环境和遗传因素共同作用的儿科口腔疾病,既往已有关于 IRF6, TBX22 及 MSX-1 等作为易感基因在 NSCLP 发病中作用研究的报道,但仍不能完全阐述 NSCLP 的发病机制<sup>[8]</sup>。CRISPLD2 基因是近年来新发现的与 NSCLP 相关的基因,已有研究显示 CRISPLD2 基因广泛分布于颅面部、骨缝及腭基质中<sup>[9]</sup>,提示其可能参与 NSCLP 病理进程。CRISPLD2 基因含有 LCCL 结构域,能编码 rich 半胱氨酸分泌蛋白的密码子,在介导 DNA 合成和蛋白质报道方面发挥作用。若 CRISPLD2 基因发生突变,则可能引起 rich 半胱氨酸分泌蛋白的异常表达,从而引起颅面部软骨和肌肉组织的异常生长,并导致额面部的畸形发育<sup>[10]</sup>,并最终导致 NSCLP 的发生。基础动物实验也显示 CRISPLD2 基因在胚胎期小鼠下颌、上腭及牙胚处均有表达<sup>[11]</sup>,提示 CRISPLD2 基因突变可能成为颌面部发育不全和 NSCLP 的诱因。另外,多项报道结果也说明 CRISPLD2 基因 SNPs 表达在不同地区患儿间存在差异,其遗传异质性特点得到证实<sup>[12-13]</sup>。因而,了解不同基因位点基因多态性对于指导临床,降低 NSCLP 风险具有重要的实用价值。

本研究根据筛选原则,选取 4 个 SNP 作为研究对象,结果显示仅 rs2934468 多态性在 NSCLP 与健康儿童间存在显著差异,这与既往报道不一致<sup>[14]</sup>,其原因可能与病例来源有关。本研究患儿集中于陕西地区,相近的生存环境使患儿 CRISPLD2 基因 SNP 差异存在明显的聚集性。刘颜彬等<sup>[15]</sup>研究也显示 rs2934468 位点基因型分布在 NSCLP 与健康人群中分布存在差异,这与本研究结果一致,但该研究显示 rs2934468 位点基因型分布在单纯腭裂与健康人群中不存在差异,本研究未对 NSCLP 患儿分型进一步做亚组分析,但基因-环境的交互作用也是造成基因多态性差异的重要原因,甘肃与陕西地理环境和民族杂居情况存在显著差异<sup>[16]</sup>,推测陕西地区单纯腭裂患儿 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点基因型分布与甘肃可能存在差异,但这有待今后研究验证。

rs2934468 为 CRISPLD2 基因内含子位点,其选择性剪切直接影响基因表达和转录,干扰正常的 RNA 运输,诱导疾病的发生。本研究也显示 rs2934468 位点 AA 型突变将使 NSCLP 风险增加 2.252 倍,这与 CHIQUET 等<sup>[17]</sup>结果一致,提示当 rs2934468 位点发生 G→A 突变时,NSCLP 致病风险将显著增加,而 G 等位基因携带者则对疾病具有保护作用。因而,CRISPLD 基因 rs2934468 位点与 NSCLP 致病密切相关。但有关该位点在颌面部胚

胎发育及软骨组织生长中的具体作用还有待深入研究。另外,有关该位点与其他基因位点的联系尚不清楚,这有待今后进一步深入研究探讨。

手术治疗是 NSCLP 主要治疗方案,但术后语音障碍成为影响手术效果和患儿健康成长的关键问题。本研究采用 Logistic 多因素分析方法对影响患儿术后语音恢复效果的相关因素进行分析,结果显示患儿年龄、语音训练情况及听力障碍是其独立影响因素。患儿手术年龄越小,为术后软腭发育和功能恢复创造条件越好,郭春丽等<sup>[18]</sup>研究也发现手术年龄与术后语音功能恢复效果呈正相关。杨金龙等<sup>[19]</sup>还认为年龄小于 2 岁是手术最佳年龄,本研究根据指南对患儿年龄进行分组,提示当年龄低于 3 岁时,术后语音功能恢复更好。但本文未对 3 岁以下患儿语音功能进行亚组分析,这有待今后深入研究。另外,术后良好的语音功能训练有助于改善术后语音功能恢复效果。王希等<sup>[20]</sup>还认为术后早期开展个体化语音训练,建立完善语音评价体系,是患儿术后语音功能恢复的中心环节。听力障碍与患儿术后语音功能恢复的关系已被临床认可,尽早发现并积极治疗听力障碍将有助于术后语音功能训练的开展,尤其是应注意筛查分泌性中耳炎患儿<sup>[21]</sup>,防止听力下降对语音功能恢复的不利因素。另外,本研究显示 CRISPLD2 基因 rs2934468 位点多态性并非术后语音功能的独立影响因素,提示虽然 rs2934468 位点突变可能增加 NSCLP 致病风险,但经手术干预和术后有效的语音训练,患儿唇腭裂畸形将得到纠正,且并不显著影响患儿语音功能。因而,对于 rs2934468 位点突变患儿,不必过于紧张,早期开展手术治疗,并在术后加强语音功能康复训练,亦可获得良好的矫正和语音功能恢复效果。此外,既往有报道认为心理障碍是影响患儿术后语音功能的独立影响因素<sup>[22]</sup>,但本研究并未发现,这可能与近年来人们对心理因素的重视程度逐渐增强有关。

综上,CRISPLD2 基因 rs2934468 位点突变是 NSCLP 致病的重要因素,但并非是影响术后语音功能恢复效果的独立因素。

### 参考文献:

- [1] 李佼旬,邱林,王选琴,等. 基因芯片筛选非综合征型唇腭裂差异表达基因的初步研究[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 43(8):1102-1108.  
LI Jiaoxun, QIU Lin, WANG Xuanqin, et al. A pilot study of differential genes in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL/P) by expression microarray[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2018, 43(8):1102-1108.
- [2] LOU Yunpeng, WANG Shiyang, QU Jinlong, et al. miR-424 promotes cardiac ischemia/reperfusion injury by direct targeting of CRISPLD2 and regulating

- cardiomyocyte pyroptosis [J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2018, 11(7): 3222-3235.
- [3] 彭莉, 牛振民, 黄薇, 等. 染色体 10q25 位点多态性与中国非综合征性唇腭裂的关联研究 [J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2016, 14(4):324-327.  
PENG Li, NIU Zhenmin, HUANG Wei, et al. Association of chromosome 10q25 polymorphisms with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in Chinese population[J]. China Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2016, 14(4):324-327.
- [4] 袁园, 王苹, 吴雅慧, 等. 中国人群细胞黏附相关基因多态性与非综合征型唇腭裂的关联研究 [J]. 北京大学学报 (医学版), 2016, 48(3):403-408.  
YUAN Yuan, WANG Ping, WU Yahui, et al. Association study between candidate genes involved in cell-cell adhesion and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in Chinese population[J]. Journal of Peking University(Health Sciences), 2016, 48(3):403-408.
- [5] 中华医学会胸心血管外科学分会, 中华医学会儿外科学分会心胸外科学组, 国家心血管病中心先天性心脏病专业委员会, 等. 中国心脏出生缺陷围产期诊断和临床评估处置专家共识 [J]. 中华小儿外科杂志, 2018, 39 (3): 163-170, 195.  
Thoracic and Cardiovascular Surgery Branch of Chinese Medical Association, The Thoracic and Cardiovascular Surgery Group of Pediatric Surgery Branch of Chinese Medical Association, National Society of Congenital Heart Diseases, et al. National consensus in China on perinatal diagnosis, evaluation and clinical disposal of cardiac birth defects [J]. Chinese Journal of Pediatric Surgery, 2018, 39(3):163-170, 195.
- [6] 欧阳鲁平, 刘文慧, 覃秀云, 等. SNP-array 分析在超声波检测颈项透明层增厚胎儿的遗传学诊断中的应用 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5):4-8.  
OUYANG Luping, LIU Wenhui, QIN Xiuyun, et al. Application of single nucleotide polymorphism microarray technology in genetic examination of nuchal translucency thickened fetuses[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(5):4-8.
- [7] 马思维. 汉语普通话唇裂婴幼儿语音语言发展早期干预探讨 [J]. 中国听力语言康复科学杂志, 2019, 17(3):179-182.  
MA Siwei. Early language and speech intervention program for Chinese mandarin toddlers with cleft palate[J]. Chinese Scientific Journal of Hearing and Speech Rehabilitation, 2019, 17(3):179-182.
- [8] 蒋亨, 袁心刚, 魏光辉, 等. 2,3,7,8- 四氯二苯二噁英诱导的胎鼠腭裂组织细胞周期相关分子的表达变化 [J]. 中华整形外科杂志, 2019, 35(7):686-694.  
JIANG Heng, YUAN Xingang, WEI Guanghui, et al. Expression changes of cell cycle related molecules in palatal tissue of fetal mice with cleft palate induced by TCDD [J]. Chinese Journal of Plastic Surgery, 2019, 35(7):686-694.
- [9] 李昂, 吴维青, 吕辛, 等. 高通量测序技术对常染色体隐性 Alport 综合征两个家系遗传特征实验诊断研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(3):1-4, 7.  
LI Ang, WU Weiqing, LÜ Xin, et al. Experimental diagnostic study on the genetic characteristics of two families with autosomal recessive Alport syndrome using next generation sequencing technology[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(3):1-4, 7.
- [10] CHIQUET B T, YUAN Qiuping, SWINDELL E C, et al. Knockdown of CRISPLD2 in zebrafish identifies a novel network for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate candidate genes[J]. European Journal of Human Genetics, 2018, 26(10): 1441-1450.
- [11] CURCI L, BRUKMAN N G, WEIGEL M M, et al. Functional redundancy and compensation: Deletion of multiple murine Crisp genes reveals their essential role for male fertility[J]. FASEB Journal, 2020, 34(12): 15718-15733.
- [12] 李冬梅, 刘廷廷, 孟祥彪, 等. THADA 基因多态性与非综合征性唇腭裂的相关性研究 [J]. 口腔医学研究, 2017, 33(2):187-190.  
LI Dongmei, LIU Tingting, MENG Xiangbiao, et al. Association between THADA gene polymorphism and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. Journal of Oral Science Research, 2017, 33(2):187-190.
- [13] MESSETTI A C, MACHADO R A, DE OLIVEIRA C E, et al. Brazilian multicenter study of association between polymorphisms in CRISPLD2 and JARID2 and non-syndromic oral clefts[J]. Journal of Oral Pathology & Medicine, 2017, 46(3): 232-239.
- [14] 雷杰, 沈喜, 毕博识, 等. 西北地区人群 JAG2 基因多态性与非综合征性唇腭裂的相关性研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(1):75-79.  
LEI Jie, SHEN Xi, BI Boshi, et al. Association between the JAG2 gene polymorphism and the occurrence of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in northwest Chinese population[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2020, 37(1):75-79.
- [15] 刘颜彬. 甘肃地区人群 CRISPLD2 基因 rs2934468 多态性与非综合征性唇腭裂相关性及其腭裂修复相关因素的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2011.  
LIU Yanbin. A study on the relationship between genetic polymorphism of CRISPLD2/ rs2934468 and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and a clinical research of related factors on cleft palate repair in Gansu population [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2011.
- [16] 孙思超, 刘建国, 王莉佳, 等. 中国人群非综合征型唇腭裂遗传背景研究进展 [J]. 山东医药, 2018, 58(31):111-114.  
SUN Sichao, LIU Jianguo, WANG Lijia, et al. Research progress on genetic background of nonsyndromic cleft lip and palate in Chinese population[J]. Shandong Medical Journal, 2018, 58(31):111-114.
- [17] CHIQUET B T, LIDRAL A C, STAL S, et al. CRISPLD2: a novel NSCLP candidate gene[J]. Human Molecular Genetics, 2007, 16(18): 2241-2248.
- [18] 郭春丽, 尹恒, 李精韬, 等. 腭裂术后腭咽闭合完全患者的语音治疗效果及影响因素分析 [J]. 华西口腔医学杂志, 2018, 36(2):146-149.