

EDARV370A 对新疆维吾尔族人群面部及耳朵形态的效应

李伟^{1,2}, 赵雯婷³, 李丹⁴, 陶现明^{1,2}, 熊子义^{1,2}, 刘京³, 张微³, 刘海渤⁵, 季安全³, 唐鲲⁴, 刘凡^{1,2,6}, 李彩霞³

1. 中国科学院北京基因组研究所, 中国科学院精准基因组医学重点实验室, 北京 100101
2. 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049
3. 公安部物证鉴定中心, 现场物证溯源技术国家工程实验室, 法医遗传学公安部重点实验室, 北京市现场物证检验工程技术研究中心, 北京 100038
4. 中国科学院上海生命科学研究院, 中科院-马普学会计算生物学伙伴研究所, 上海 200031
5. 新疆生产建设兵团公安局, 乌鲁木齐 833000
6. 荷兰鹿特丹伊拉兹马斯大学医学中心遗传鉴定系, 鹿特丹 3000 CA, 荷兰

摘要: 外异蛋白受体基因(ectodysplasin A receptor, *EDAR*)是调控外胚层发育的重要基因。其关键错义突变 *EDARV370A* 的衍生等位基因 *370A* 在东亚和美洲原住民中具有很高的频率, 但在非洲和欧洲罕见, 该突变造成这些人群许多外胚层发育衍生表型的差异, 包括东亚人特有的较直且厚的头发、较多的外泌汗腺、女性较小的乳房及铲形门齿等。目前, *EDARV370A* 与同为外胚层衍生表型的人类头面部及耳部形态特征的关联尚不十分明确。本研究在 715 例新疆维吾尔族亚欧混合人群中, 进行了 *EDARV370A* 与一系列系统的面部形态特征及耳朵形态表型的关联分析, 以期更全面系统地理解 *EDARV370A* 对面部和耳朵形态的影响。研究表型包括利用本课题组近期发表的对三维面部照片自动化面部地标点标记方法获得的 136 个面部定量表型、1 个下巴类型的定序分类表型以及 6 个耳朵形态的定序分类表型。研究发现 *EDARV370A* 与 8 个面部形态的定量表型、下巴类型以及 3 个耳朵形态定序分类表型显著相关(多重检验校正后 $P < 0.05$)。本研究结果进一步明确了 *EDARV370A* 的遗传多效性及其在亚欧混合人群对面部和耳朵形态的影响。

关键词: *EDARV370A*; 面部形态; 耳朵形态; 关联性; 亚欧混合人群; 新疆维吾尔族

收稿日期: 2018-09-19; 修回日期: 2018-11-01

基金项目: 国家重点研发项目(编号: 2017YFC0803501), 中央级公益类科研院所基本科研业务费专项资金(编号: 2018JB046), 现场物证溯源技术国家工程实验室开放课题(编号: 2017NELKFKT05), 中国科学院精准基因组医学重点实验室开放基金, 青年千人计划项目和首都科技领军人才培养工程项目(编号: Z18110006318006)资助。生物样本由国家科技资源共享服务平台计划项目提供(编号: YCZYPT[2017]01-3, 2017JB025) [Supported by the National Key R&D Program of China (No. 2017YFC0803501), Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund (No. 2018JB046), Open Projects of National Engineering Laboratory for Forensic Evidence Traceability Technology (No. 2017NELKFKT05), "the Open Project of Key Laboratory of Genomic and Precision Medicine, Chinese Academy of Sciences", "The Thousand Talents Plan for Young Professionals" and "The Beijing Leading Talent Program (No. Z18110006318006)". Biological Samples were Provided by National Science and Technological Resources Platform (No. YCZYPT[2017]01-3, 2017JB025)]

作者简介: 李伟, 硕士研究生, 专业方向: 生物信息学。E-mail: liyi@big.ac.cn

赵雯婷, 博士, 副主任法医师, 研究方向: 法医遗传学。E-mail: wtzhao@sibs.ac.cn

李伟和赵雯婷并列第一作者。

通讯作者: 刘凡, 博士, 研究员, 研究方向: 人类表型组学、法医 DNA 表型刻画、分子流行病学和生物信息学。E-mail: liufan@big.ac.cn 李彩霞, 博士, 主任法医师, 研究方向: 法医遗传学。E-mail: licaixia@tsinghua.org.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.18-268

网络出版时间: 2018/11/9 16:56:27

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20181109.1656.001.html>

The effect of *EDARV370A* on facial and ear morphologies in Uyghur population

Yi Li^{1,2}, Wenting Zhao³, Dan Li⁴, Xianming Tao^{1,2}, Ziyi Xiong^{1,2}, Jing Liu³, Wei Zhang³, Haibo Liu⁵, Anquan Ji³, Kun Tang⁴, Fan Liu^{1,2,6}, Caixia Li³

1. CAS Key Laboratory of Genomic and Precision Medicine, Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China
2. Life Sciences College, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
3. National Engineering Laboratory for Forensic Science, Key Laboratory of Forensic Genetics of Ministry of Public Security, Beijing Engineering Research Center of Crime Scene Evidence Examination, Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China
4. CAS-MPG Partner Institute and Key Laboratory for Computational Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China
5. Institution of Forensic Science of Bingtuan Public Security Bureau, Urumqi 833000, China
6. Department of Genetic Identification, Erasmus MC University Medical Center Rotterdam, Rotterdam 3000 CA, The Netherlands

Abstract: The ectodysplasin A receptor gene (*EDAR*) plays an important role in the development of ectoderm. The derived G allele of its key missense variant *EDARV370A* is prevalent in East Asians and Americans, but rare in Africans and Europeans. This leads to distinct ectodermal-derived phenotypes between different continental groups, such as the straighter and thicker hair, more eccrine sweat glands, feminine smaller breasts, shovel incisors characteristic of East Asians. At present, we know little about the association between *EDARV370A* and facial and ear morphology characteristics. To better understand the effect of *EDARV370A* on craniofacial phenotypes, we systematically examined the association between *EDARV370A* and 136 facial quantitative phenotypes, one chin ordinal phenotype and six ear ordinal phenotypes in 715 Uyghurs. The quantitative phenotypes were derived by applying our automated landmark annotation method to facial 3D photos and the ordinal phenotypes were manually graded from facial 2D photos. The analysis identified significant association ($P < 0.05$ after multiple testing correction) between *EDARV370A* and eight facial phenotypes, one chin phenotype and three ear morphology phenotypes. Our study thus elucidated the pleiotropic effect of *EDARV370A* on craniofacial phenotypes in a European-Asian admixed Uyghur population.

Keywords: *EDARV370A*; facial morphology; ear morphology; association; European-Asian admixed population; Uyghur

EDARV370A (rs3827760) 是外异蛋白 A 受体基因 (ectodysplasin A receptor, *EDAR*) 上的一个错义突变, 其衍生等位基因 370A (G) 的获得使 *EDAR* 的一个高度保守的缬氨酸改变为丙氨酸, 影响了外异蛋白 A (EDA) 与其受体的结合效率, 进而影响 EDA 通路下游的功能^[1]。该突变发生在约 3 万年前并且在东亚地区经历了较强的正向自然选择^[2~4], 其衍生等位基因 370A 在东亚有极高的频率(0.873), 而在欧洲和非洲人群中频率极低(0.011; 0.003)^[3~6], 因而造成了这些人群许多外胚层发育衍生表型的差异, 如东亚人

中常见的较直^[7]且厚^[8,9]的头发^[10]、较多的外泌汗腺^[2]、女性较小的乳房^[2]、铲形门齿^[11~13]、下巴后缩^[14]及耳垂附着^[15,16]等。

研究 *EDARV370A* 对外胚层衍生表型的作用有助于对外胚层发育相关疾病的理解, 如少汗性外胚层发育不良症等, 有助于理解外胚层衍生表型在东亚人群中的进化。同时, *EDARV370A* 作为影响多个人类外貌表型的分子标记, 在法医学上具有潜在的应用价值, 例如, 利用该基因作为分子标记可实现对 DNA 检材进行所属外貌等重要个人信息的推断,

增加刑侦工作的主动性和智能性。

人类面部和耳朵是由外胚层发育衍生而来,其形态差异代表多组不同程度相关且具有高遗传度的人类复杂表型。近期,彭倩倩等^[17]在以维吾尔族为代表的亚欧混合人群中进行了面部和耳朵形态的 *EDAR* 候选基因研究。其研究依据人类学测量标准从二维头面部照片中对面部形态和耳朵形态进行了人工分类,发现 370A 等位基因对下巴后缩和三角形耳垂的形成有显著作用,同时发现 *EDARV370A* 与一些其他面部形态表型存在建议性弱相关。这些结果证实 *EDARV370A* 对人类外胚层衍生表型的作用具有多效性。

由于 *EDARV370A* 在亚欧混合人群中的多态性最高,维吾尔族群体作为一个典型的东亚和欧洲混合的群体,是研究 *EDARV370A* 及其关联特征的理想对象,因此本研究进一步对 715 例新疆维吾尔族样本进行了面部和耳朵形态的 *EDARV370A* 候选基因研究。为揭示 *EDARV370A* 对人类面部形态的影响,本研究利用三维头面部高清照片和本课题组近期研发的面部特征点自动标点技术更系统地多维面部形态表型进行了精准量化,期待提升统计效能并对 *EDARV370A* 的效应进行详细的直观描述。同时,还对耳朵形态表型进行了详细的人工分类,并进一步分析了 *EDARV370A* 与耳朵形态相关表型的关联性。

1 材料和方法

1.1 人群样本

样本采集自新疆维吾尔自治区图木舒克市,共计 715 例维吾尔族无关个体,其中男性 688 例,女性 27 例。年龄为 16~59 岁,平均年龄 35.5 岁。纳入研究的个体均符合以下要求:(1) 父母及祖父母均为维吾尔族;(2) 没有接受激素治疗;(3) 未患有甲状腺疾病,脑垂体疾病或肿瘤;(4) 没有因药物作用引起的生长发育问题,例如侏儒症,巨人症或肢端肥大症。研究人员通过手持 Artec Spider 扫描仪(Artec, 卢森堡)结合相应软件对被要求保持中性表情的志愿者进行扫描获取三维面部数据,通过佳能 EOS 5D Mark II 照相机(Canon, 日本)对固定位置的

保持中性表情的志愿者拍摄获得正面和左右两侧的二维照片。本研究已通过公安部物证鉴定中心伦理委员会审查,所有受测者都签署了知情同意书。

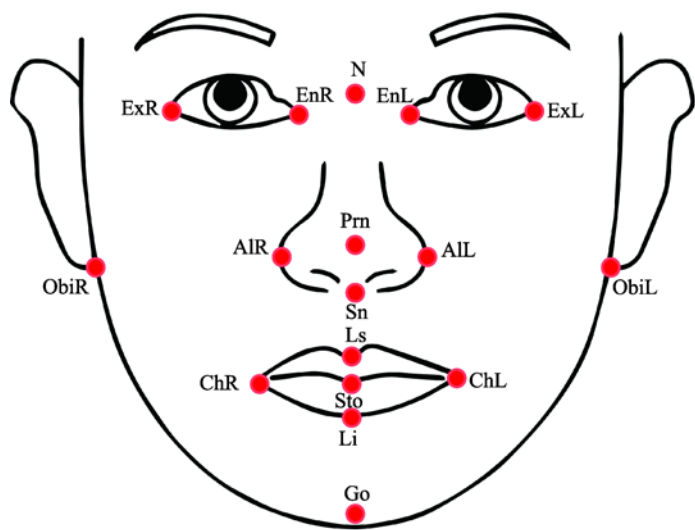
1.2 面部特征和耳朵特征的获取

首先对三维照片进行质控,去除合成错误和不完整的样本照片。利用本课题组近期发表的三维高清头面部照片自动化提取地标点坐标的方法对照片进行了分析^[18]。该方法首先定位鼻尖特征地标点并进行姿势的标准化,随后对于较易获得的 6 个特征地标点定位,再通过主成分分析以及启发式定位的方法对其余的 10 个地标点定位。1 位研究人员检查了全部经地标点标注的照片并对定位不准确的地标点进行了人工纠正,最终获得了 17 个面部特征地标点的三维坐标(图 1)。对获取的地标点坐标数据进行广义普鲁克分析(generalized procrustes analysis)以校正由于移位、转置、大小导致的偏差,进而得到 17 个地标点两两之间共 136 组的欧几里德距离(Euclidean distance)。用 Z-score 转化进一步对欧几里德距离数据进行标准化处理,并以正负 3 倍标准差为阈值进行异常值处理,最终得到用于后续分析的表型数据。

7 个面部和耳朵形态定序分类表型包括 1 个下巴表型和 6 个耳朵表型,依据文献报道方法^[14, 17],制订表型的分类标准。分类等级均为 3 类(表 1),图 2 展示了耳垂附着表型的分类标准。对于有遮挡的无法判断表型的样本记为缺失,不参与后续分析。为了保证分类结果的客观性和准确性,共有 3 个评级者同时对于同一张二维照片进行独立观察并记录分类等级。在观察之前会对所有评级者依据随机挑选的 100 张照片进行表型分类训练,以保证评级者对表型定义理解的一致。除耳垂类型使用 3 个评级者评分等级的众数作为表型之外,其他表型均使用 3 个评级者评分等级的均值作为表型参与后续的分析。

1.3 基因分型

DNA 样本来源于外周静脉血,用 EDTA-Vacutainer 试管收集放置于-20℃下保存。根据标准程序,使用 Illumina Infinium Global Screening Array 650K 型号(GSA) (Illumina, 美国)对样品进行基因分型。SNP 质量控制包括分型成功率>0.9,符合哈



缩写	英文名	中文名
ExR	Right Ectocanthion	右眼外角点
EnR	Right Entocanthion	右眼内角点
N	Nasion	鼻根点
EnL	Left Entocanthion	左眼内角点
ExL	Left Ectocanthion	左眼外角点
ObiR	Right Otobasion Inferius	右耳根下点
AiR	Right Alare	右鼻翼点
Prn	Pronasale	鼻尖点
AIL	Left Alare	左鼻翼点
ObiL	Left Otobasion Inferius	左耳根下点
Sn	Subnasale	鼻下点
ChR	Right Cheilion	右口角点
Ls	Labrale Superius	上唇点
Sto	Stomion	口裂点
Li	Labrale inferius	下唇点
ChL	Left Cheilion	左口角点
Go	Gonion	下颌角点

图 1 17 个面部地标点的位置和定义
Fig. 1 Position and definition of the 17 facial landmarks

表 1 7 个面部和耳朵形态定序分类表型的分类标准和数据特性
Table 1 The definition and grade of seven facial and ear ordinal categorical phenotypes and the characteristics of these phenotypic data

表型	有效样本(例)	分类 1 (频率)	分类 2 (频率)	分类 3 (频率)
耳垂附着	705	无(0.10)	中等(0.54)	显著(0.36)
耳廓外展程度	707	外展(0.16)	中等(0.68)	紧贴(0.16)
下巴类型	686	后缩(0.05)	正常(0.46)	凸出(0.49)
耳垂类型	705	圆形(0.37)	方形(0.23)	三角形(0.40)
耳垂大小	709	小(0.06)	中等(0.83)	大(0.11)
对耳屏大小	697	微弱(0.13)	中等(0.46)	显著(0.23)
耳轮脚延伸程度	707	微弱(0.08)	中等(0.81)	显著(0.11)



图 2 耳垂附着表型的分类标准
Fig. 2 The classification criterion of earlobe attachment

德温伯格平衡($P>0.001$), 和低频等位基因频率(MAF) $>1\%$ 。本研究共有 700 078 个常染色体 SNPs 的基因分型通过质检, 其中包括 2 号染色体 EDARV370A (rs3827760)。

1.4 统计分析

(1) 利用一般线性回归模型(general linear model, GLM)进行 EDARV370A 与各表型的关联分析。基因型的赋值按照加性模型, 该模型假设个体携带的突变型等位基因 370A 的数量与某特征的出现有累积效应。校正体重指数(body mass index, BMI)、性别和年龄等因素决定的表型差异, 本研究使用基于加性模型假设的一般线性回归模型, 如公式(1)所示:

$$y_i = (\alpha + \beta_{ADD}G_i + \beta_{BMI}BMI + \beta_{AGE}AGE + \beta_{SEX}SEX + \beta_{PC1}PC1 + \beta_{PC2}PC2 + \beta_{PC3}PC3 + \varepsilon_i)$$

(1)

其中, y_i 表示个体的某项头面部特征, α 表示固定效应, β_{ADD} 表示个体携带的基因型对相关表型的效应,

β_{BMI} 表示个体体重指数(BMI)对相关表型的效应, β_{AGE} 表示个体年龄对相关表型的效应, β_{SEX} 表示个体性别对相关表型的效应, β_{PC1} 、 β_{PC2} 和 β_{PC3} 表示来自基因型数据的前 3 个主成分对头面部特征的效应, ε_i 表示残差, G_i 表示个体的基因型, BMI 表示个体体重指数, AGE 表示个体年龄, SEX 表示个体性别, $PC1$ 、 $PC2$ 和 $PC3$ 表示来自基因型数据的前 3 个主成分。基因型和性别赋值方法分别如公式(2)和(3)所示:

$$\begin{cases} G_i = 0, \text{如果个体携带 } aa \text{ 等位基因 } 370A \\ G_i = 1, \text{如果个体携带 } Aa \text{ 等位基因 } 370A \\ G_i = 2, \text{如果个体携带 } AA \text{ 等位基因 } 370A \end{cases} \quad (2)$$

$$\begin{cases} SEX = 1, \text{如果个体性别为男性} \\ SEX = 2, \text{如果个体性别为女性} \end{cases} \quad (3)$$

(2) 为进行多重检验校正, 对面定量表型和耳朵相关表型分别使用有效的独立变量数构建了 Bonferroni 校正, 其中的独立变量数通过矩阵谱分解(matSpD)的方法进行评估^[19]。

(3) 使用多元线性回归的方法评估了 *EDARV370A* 可以解释的经过性别, 年龄, BMI 以及前 3 个主成分校正的表型方差比例。使用模型如公式(5)所示:

$$\text{Model1: Trait} \sim \text{AGE} + \text{SEX} + \text{BMI} + \text{PC1} + \text{PC2} + \text{PC3} \quad (4)$$

$$\text{Model2: Model1\$residuals} \sim G_i \quad (5)$$

其中, Trait 代表某表型, Model1\$residuals 代表模型 1 的残差, G_i 代表个体的基因型。

(4) 通过对 370A 纯合等位基因以及 370V 纯合等位基因个体的三维照片数据取平均值获得平均脸

并使用 R 语言代码绘制三维脸图。

(5) 用 R 语言代码对来自千人基因组计划的 2054 例个体的 *EDARV370A* 基因型信息根据个体来源的 26 个采样地的坐标绘制了该突变的全球频率分布图。

2 结果与分析

2.1 *EDARV370A* 在不同群体中的频率分布

全部 715 例亚欧混合维吾尔族样本获得了 *EDARV370A* 基因分型, 其 3 个基因型的频率分别为 0.40 (370V/370V)、0.48 (370V/370A) 和 0.12 (370A/370A), 满足哈德温伯格平衡($P > 0.05$)。本研究使用千人基因组计划数据库中 26 个人群 2054 个个体的 *EDARV370A* 基因型信息, 绘制了 *EDARV370A* 全球频率分布(图 3), 显示等位基因 370A 在东亚人群中具有较高的频率(0.873), 在欧洲人群中频率较低(0.011), 在非洲人群中频率极低(0.003)。该等位基因在本研究亚欧混合维吾尔族样本中的频率为 0.36, 介于欧洲和东亚群体的频率之间, 符合预期。

2.2 *EDARV370A* 与面部定量表型的关联分析

本研究共有 612 例维吾尔族样本的三维面部照片通过质控, 包括 590 例男性, 22 例女性, 平均年龄为 34.9 岁(标准差: 9.72; 附图 1A), 平均体重指数(BMI)为 24.11 (标准差: 3.93; 附图 1A)。性别、

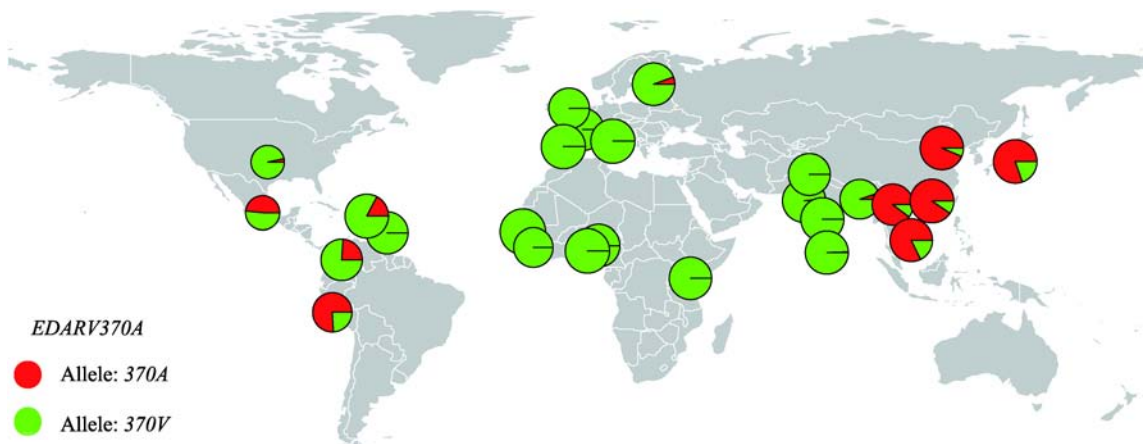


图 3 *EDARV370A* 的全球频率分布

Fig.3 The global distribution of *EDARV370A*

年龄和体重指数(BMI)均显示对多组面部形态定量表型显著相关。其中最显著的关联包括:女性鼻翼到鼻下点的距离比男性显著短($P<1.23\times 10^{-12}$),鼻子到上唇点的距离随年龄显著增加($7.84\times 10^{-14}<P<2.03\times 10^{-17}$),左右两耳根下点距离随体重指数(BMI)的增加显著增加($P=4.34\times 10^{-114}$)。

对于 136 组面部定量表型,由 matSpD 方法评估其共有 39 个有效的独立变量,Bonferroni 校正后阈值为($0.05/39=1.28\times 10^{-3}$)。线性回归分析显示,等位基因 370A 和 8 个面部定量表型的距离增加显著相关(图 4)。其中,等位基因 370A 对眼外角点到耳根下点的两个距离有最显著的增加效应,包括左眼

外角点到左耳根下点和右眼外角点到右耳根下点(ExL-ObiL 和 ExR-ObiR, $P=2.39\times 10^{-5}$; $P=2.49\times 10^{-5}$)。其中 *EDARV370A* 最高可以解释经性别、年龄、体重指数和基因组前 3 个主成分校正后的左外眼角点到左耳根下点距离表型方差的 2.86% (表 2)。通过比较纯合等位基因 370V 个体和纯合等位基因 370A 个体的平均脸中右眼外角到右耳根下点距离,发现纯合等位基因 370A 个体平均脸中该距离长于纯合等位基因 370V 个体的平均脸,同时,370A 也对 2 组左右对称的共 4 个面部定量表型有显著增加的效应:左眼内角点到左耳根下点(EnL-ObiL)、右眼内角点到右耳根下点(EnR-ObiR)、右鼻翼点到口

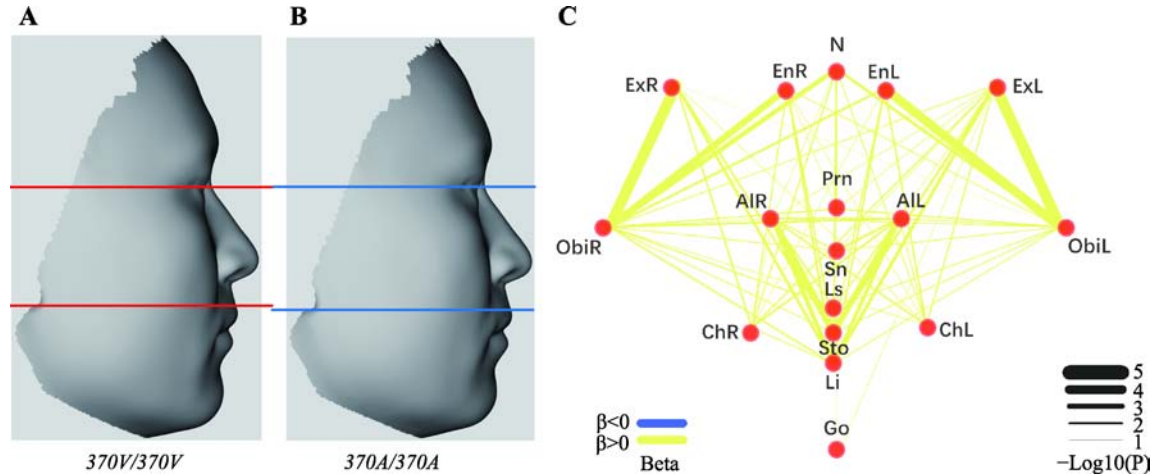


图 4 *EDARV370A* 对维族人群面部形态定量表型的影响效应

Fig. 4 The effect of *EDARV370A* on facial quantitative phenotypes in Uyghurs

A: 纯合等位基因 370V 个体的平均脸; B: 纯合等位基因 370A 个体的平均脸; C: *EDARV370A* 对面部定量表型的影响效应。红线为纯合 370V 个体的右眼外角点和右耳根下点分别所处的水平线,蓝线为纯合 370A 个体的平均脸右眼外角点和右耳根下点分别所处的水平线。

表 2 *EDARV370A* 对维吾尔族人群面部定量表型的相关性

Table 2 The association between *EDARV370A* and facial quantitative phenotypes

表型	简写	均值±标准差	Beta 值	标准误	P 值	R ² (%)	平均距离差(mm)
左眼外角点到左耳根下点	ExL-ObiL	92.34±5.18	0.21	0.05	2.39E-05	2.86	3.25
右眼外角点到右耳根下点	ExR-ObiR	92.99±5.45	0.20	0.05	2.49E-05	2.85	3.26
左眼内角点到左耳根下点	EnL-ObiL	106.57±5.25	0.18	0.05	6.30E-05	2.58	3.21
右鼻翼点到口裂点	AIR-Sto	38.93±2.46	0.20	0.05	2.05E-04	2.22	1.60
右眼内角点到右耳根下点	EnR-ObiR	106.74±5.53	0.17	0.04	2.20E-04	2.20	2.93
左鼻翼点到口裂点	AIL-Sto	38.95±2.44	0.19	0.05	3.85E-04	2.03	1.39
鼻根点到右耳根下点	N-ObiR	128.5±5.83	0.15	0.05	9.45E-04	1.76	2.73
右鼻翼点到下唇点	AIR-Li	46.43±3.41	0.19	0.06	1.24E-03	1.68	1.74

平均距离差: 纯合 370A 等位基因的样本平均脸该表型与纯合 370V 等位基因的样本平均脸该表型的差值(mm)。Beta 值: Z-score 转化后的表型效应值。表格中显示的为多重校正后 $P<0.05$ 的面部定量表型。

裂点(AIR-Sto)和左鼻翼点到口裂点(AIL-Sto)。另外，370A 对另 2 个面部定量表型也有显著增加的效应：鼻根点到右耳根下点的距离和右鼻翼点到下唇点的距离(N-ObiR 和 AIR-Li)。

男性和女性样本的分组分析发现 EDARV370A 的效应在男女组中基本一致，并由于男性样本量较大，EDARV370A 的效应在男性组中较为显著(附表 1)。滑动窗口分析未发现 EDARV370A 在不同年龄区段对表型的效应有明显变化趋势(附图 2)。

2.3 EDARV370A 与 1 个下巴定序分类表型和 6 个耳朵定序分类表型的关联分析

7 个定序分类表型包括 1 个下巴形态表型和 6 个耳朵定序分类表型。共有 709 例维吾尔族样本的二维照片通过质控。包括 683 例男性 26 例女性，平均年龄为 35.6 岁(标准差：10.17；附图 1B)，平均体重指数(BMI)为 24.09 (标准差：3.91；附图 1B)。性别、年龄和体重指数(BMI)显示与 7 个面部和耳朵形态定序分类表型有不同程度的相关性(附表 2)。对于 7 个定序分类表型，由 matSpD 方法评估有 7 个有效的独立变量，Bonferroni 校正后阈值为(0.05/7 = 0.007)。线性回归分析显示，EDARV370A 和下巴类型以及 3 个耳朵分类表型显著相关。其中，等位基因 370A 对耳垂附着有最显著的效应($P = 3.72 \times 10^{-7}$)，可以解释经性别、年龄、体重指数(BMI)以及基因组前 3 个主成分校正后的耳垂附着表型差异的 3.59% (表 3)。另外，等位基因 370A 也会导致下巴后缩($P =$

1.29×10^{-6}) 增加耳廓紧贴的程度($P = 7.43 \times 10^{-5}$)以及三角形的耳垂($P = 2.26 \times 10^{-3}$)。

3 讨 论

本研究在 715 例欧亚混合代表人群—新疆维吾尔族群体中，系统性地研究了 EDARV370A 对面部形态和耳朵形态的影响。结合近期彭倩倩等^[17]发表的相关研究，本研究同样使用维吾尔族群体来进行分析。维吾尔族群体作为一个典型的东亚和欧洲混合的群体，混合的时间约为 800~2000 多年前^[20, 21]。有报道估测了维吾尔族个体的东亚和欧洲祖先成分约为 50% 50% 混合^[20, 21]，该特性减少了维吾尔族群体内的亚分层，并导致 EDARV370A 在群体中的多态性使其可以作为一个理想的进行关联分析研究的群体。另外，彭倩倩等^[17]研究发现的 370A 等位基因对下巴后缩和三角形的显著影响在本研究中得到了验证，且效应值大小也是一致的。在彭倩倩等^[17]研究分析的耳垂类型表型之外，本研究对于耳朵形态进行了更详细的表型分类，增加了额外的 5 个耳朵形态定序表型，其中 EDARV370A 对耳垂附着^[16]、耳廓外展程度^[15]和耳垂大小^[15]等 3 个耳朵形态相关表型的显著作用^[15]得到证实，且 EDARV370A 与对耳屏大小表型也存在建议性弱相关。过去的关于 EDAR 对面部形态影响的小鼠功能性实验，发现 EDAR 的功能保存的越完整，小鼠下颌骨的长度也越短^[14, 22]，EDAR 突变小鼠相较于野生小鼠有更紧贴的耳朵^[15]，这与在本研究人群样本中观测到的 EDAR 对下巴形态以及耳廓外展程度的效应一致。此外，370A 在世界范围内的频率分布和不同人群中的下巴形态分布也大体一致，例如，欧洲人高比例的下巴突出与 370A 的极低频率分布是一致的。

与彭倩倩等^[17]基于人类学测量标准的获得的 12 个面部形态分类表型不同，本研究通过面部特征点自动标点的技术系统地获得了一系列共 136 组直观具体的多维面部形态表型，这显著的提高了检测 EDARV370A 与面部形态关联的功效。彭倩倩等^[17]发现的 EDARV370A 与 3 个面部形态表型存在建议性弱相关，其中上嘴唇厚度表型并未在本研究中得到验证，另外两个左眼皮褶皱以及额头形状表型在本

表 3 EDARV370A 对维吾尔族人群下巴及耳朵定序分类表型的相关性

Table 3 The association between EDARV370A and chin and ear ordinal categorical phenotypes

表型	Beta 值	标准误	P 值	R ² (%)
耳垂附着 ^a	0.17	0.03	3.72E-07	3.59
下巴类型 ^a	-0.16	0.03	1.29E-06	3.34
耳廓外展程度 ^a	0.11	0.03	7.43E-05	2.19
耳垂类型 ^a	0.15	0.05	2.26E-03	1.31
耳垂大小	0.05	0.02	1.18E-02	0.89
对耳屏大小	0.05	0.03	6.60E-02	0.48
耳轮脚延伸程度	0.01	0.02	6.55E-01	0.03

^a代表与 EDARV370A 显著相关。

研究没有相对应的定量表型。本研究在验证其部分结果的基础上,首次在小样本的维吾尔族群体中发现了 EDARV370A 对 8 个面部定量表型的影响,并确定了 370A 对于这 8 个面部距离增加的效应。其中, EDARV370A 显著影响表型右眼外角到右耳根下点的距离,通过绘制 370V 纯合等位基因个体以及 370A 纯合等位基因个体的平均脸,比较可发现纯合 370A 的个体平均脸的耳根下点低于纯合 370V 个体平均脸,右眼外角和纯合 370V 个体位置基本一致,所以纯合 370A 个体平均脸的右外眼角点到右耳根下点距离要大于纯合 370V 个体平均脸的距离,证实了 EDARV370A 对于该表型的显著作用。这揭示了 EDARV370A 除了对过去发现的其他人类外胚层发育而来的表型有影响外,对人类面部形态也有重要的作用,加深了关于 EDARV370A 对人类外胚层衍生表型作用多效性的理解。

本研究在验证了 EDARV370A 对 1 个下巴定序表型和 3 个耳朵定序表型影响的基础上,首次系统性检测了 EDARV370A 对于具体面部形态的影响以及如何改变面部形态,发现 EDARV370A 和 8 个面部定量表型增加显著相关,同时确定了 EDARV370A 对 8 个面部定量表型的具体效应大小。这使 EDARV370A 对其作用表型产生的改变可以更加具体直观地展示出来成为了可能,而其作为一个对多组面部表型影响的遗传因子,对于构建从 DNA 标记推断具体完整的人类面部形态的模型具有重要的意义,为人类外貌的法医分子表型刻画提供了基础,从而推动刑侦工作向更加主动、更加智能的方向发展。

附录:

附图和附表请见文章电子版 www.chinagene.cn。

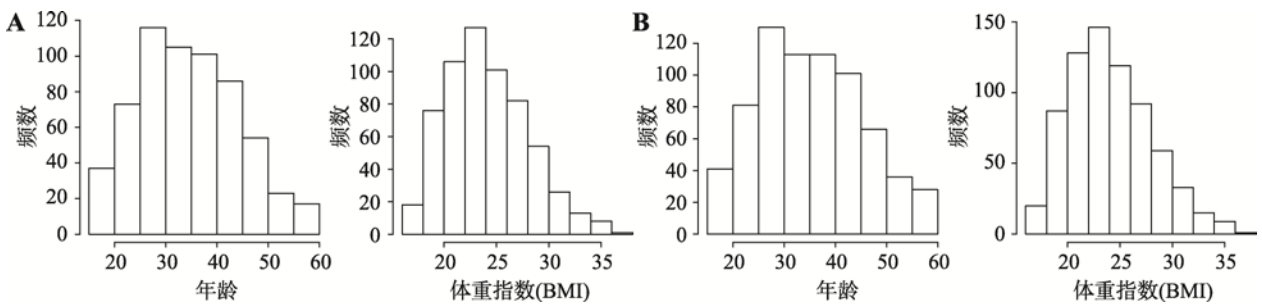
参考文献(References):

- [1] Cluzeau C, Hadj-Rabia S, Bal E, Clauss F, Munnich A, Bodemer C, Heaton D, Smahi A. The EDAR370A allele attenuates the severity of hypohidrotic ectodermal dysplasia caused by EDA gene mutation. *Br J Dermatol*, 2012, 166(3): 678–681. [DOI]
- [2] Kamberov YG, Wang S, Tan J, Gerbault P, Wark A, Tan L, Yang Y, Li S, Tang K, Chen H, Powell A, Itan Y, Fuller D, Lohmueller J, Mao J, Schachar A, Paymer M, Hostetter E, Byrne E, Burnett M, McMahon AP, Thomas MG, Lieberman DE, Jin L, Tabin CJ, Morgan BA, Sabeti PC. Modeling recent human evolution in mice by expression of a selected EDAR variant. *Cell*, 2013, 152(4): 691–702. [DOI]
- [3] Grossman SR, Shlyakhter I, Karlsson EK, Byrne EH, Morales S, Frieden G, Hostetter E, Angelino E, Garber M, Zuk O, Lander ES, Schaffner SF, Sabeti PC. A composite of multiple signals distinguishes causal variants in regions of positive selection. *Science*, 2010, 327(5967): 883–886. [DOI]
- [4] Grossman SR, Andersen KG, Shlyakhter I, Tabrizi S, Winnicki S, Yen A, Park DJ, Griesemer D, Karlsson EK, Wong SH, Cabili M, Adegbola RA, Bamezai RN, Hill AV, Vannberg FO, Rinn JL, 1000 Genomes Project, Lander ES, Schaffner SF, Sabeti PC. Identifying recent adaptations in large-scale genomic data. *Cell*, 2013, 152(4): 703–713. [DOI]
- [5] Bryk J, Hardouin E, Pugach I, Hughes D, Strotmann R, Stoneking M, Myles S. Positive selection in East Asians for an EDAR allele that enhances NF-kappaB activation. *PLoS One*, 2008, 3(5): e2209. [DOI]
- [6] 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*, 2010, 467(7319): 1061–1073. [DOI]
- [7] Tan J, Yang Y, Tang K, Sabeti PC, Jin L, Wang S. The adaptive variant EDARV370A is associated with straight hair in East Asians. *Hum Genet*, 2013, 132(10): 1187–1191. [DOI]
- [8] Fujimoto A, Kimura R, Ohashi J, Omi K, Yuliwulandari R, Batubara L, Mustofa MS, Samakkarn U, Settheetham-Ishida W, Ishida T, Morishita Y, Furusawa T, Nakazawa M, Ohtsuka R, Tokunaga K. A scan for genetic determinants of human hair morphology: EDAR is associated with Asian hair thickness. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(6): 835–843. [DOI]
- [9] Fujimoto A, Ohashi J, Nishida N, Miyagawa T, Morishita Y, Tsunoda T, Kimura R, Tokunaga K. A replication study confirmed the EDAR gene to be a major contributor to population differentiation regarding head hair thickness in Asia. *Hum Genet*, 2008, 124(2): 179–185. [DOI]
- [10] Li XE, Zheng XT, Mou CY. Research advances of Edar signaling pathway in hair follicle development. *Chin Bull Life Sci*, 2017, 29(01): 62–69.

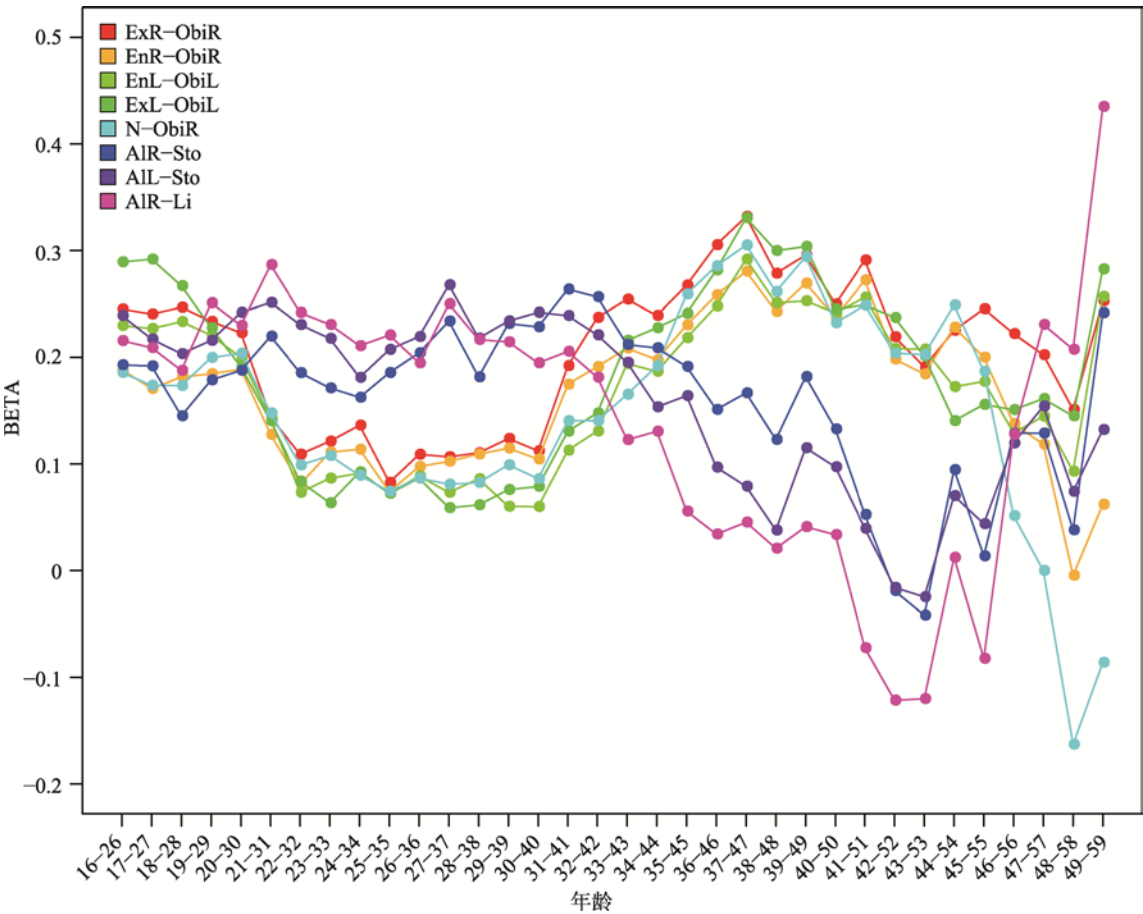
- 李雪儿, 郑昕婷, 牟春燕. Edar 信号通路调控毛囊发育的研究进展. 生命科学, 2017, 29(01): 62–69. [DOI]
- [11] Kimura R, Yamaguchi T, Takeda M, Kondo O, Toma T, Haneji K, Hanihara T, Matsukusa H, Kawamura S, Maki K, Osawa M, Ishida H, Oota H. A common variation in EDAR is a genetic determinant of shovel-shaped incisors. *Am J Hum Genet*, 2009, 85(4): 528–535. [DOI]
- [12] Park JH, Yamaguchi T, Watanabe C, Kawaguchi A, Haneji K, Takeda M, Kim YI, Tomoyasu Y, Watanabe M, Oota H, Hanihara T, Ishida H, Maki K, Park SB, Kimura R. Effects of an Asian-specific nonsynonymous EDAR variant on multiple dental traits. *J Hum Genet*, 2012, 57(8): 508–514. [DOI]
- [13] Tan JZ, Peng QQ, Li JX, Guan YQ, Zhang LP, Jiao Y, Yang YJ, Wang SJ, Jin L. Characteristics of dental morphology in the Xinjiang Uyghurs and correlation with the EDARV370A variant. *Sci China Life Sci*, 2014, 44(1): 85–93.
谭婧泽, 彭倩倩, 李金喜, 关亚群, 张丽萍, 焦谊, 杨亚军, 汪思佳, 金力. 新疆维吾尔族牙齿形态特征及其与 EDARV370A 相关性的研究. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(1): 85–93. [DOI]
- [14] Adhikari K, Fuentes-Guajardo M, Quinto-Sanchez M, Mendoza-Revilla J, Camilo Chacon-Duque J, Acuna-Alonso V, Jaramillo C, Arias W, Lozano RB, Perez GM, Gomez-Valdes J, Villamil-Ramirez H, Hunemeier T, Ramallo V, Silva De Cerqueira CC, Hurtado M, Villegas V, Granja V, Gallo C, Poletti G, Schuler-Faccini L, Salzano FM, Bortolini MC, Canizales-Quinteros S, Cheeseman M, Rosique J, Bedoya G, Rothhammer F, Headon D, Gonzalez-Jose R, Balding D, Ruiz-Linares A. A genome-wide association scan implicates *DCHS2*, *RUNX2*, *GLI3*, *PAX1* and *EDAR* in human facial variation. *Nat Commun*, 2016, 7: 11616. [DOI]
- [15] Adhikari K, Reales G, Smith AJ, Konka E, Palmen J, Quinto-Sanchez M, Acuña-Alonso V, Jaramillo C, Arias W, Fuentes M, Pizarro M, Barquera Lozano R, Macín Pérez G, Gómez-Valdés J, Villamil-Ramírez H, Hunemeier T, Ramallo V, Silva de Cerqueira CC, Hurtado M, Villegas V, Granja V, Gallo C, Poletti G, Schuler-Faccini L, Salzano FM, Bortolini MC, Canizales-Quinteros S, Rothhammer F, Bedoya G, Calderón R, Rosique J, Cheeseman M, Bhutta MF, Humphries SE, Gonzalez-José R, Headon D, Balding D, Ruiz-Linares A. A genome-wide association study identifies multiple loci for variation in human ear morphology. *Nat Commun*, 2015, 6: 7500. [DOI]
- [16] Shaffer JR, Li J, Lee MK, Roosenboom J, Orlova E, Adhikari K, 23andMe Research Team, Gallo C, Poletti G, Schuler-Faccini L, Bortolini MC, Canizales-Quinteros S, Rothhammer F, Bedoya G, Gonzalez-Jose R, Pfeffer PE, Wollenschlaeger CA, Hecht JT, Wehby GL, Moreno LM, Ding A, Jin L, Yang Y, Carlson JC, Leslie EJ, Feingold E, Marazita ML, Hinds DA, Cox TC, Wang S, Ruiz-Linares A, Weinberg SM. Multiethnic GWAS reveals polygenic architecture of earlobe attachment. *Am J Hum Genet*, 2017, 101(6): 913–924. [DOI]
- [17] Peng Q, Li J, Tan J, Yang Y, Zhang M, Wu S, Liu Y, Zhang J, Qin P, Guan Y, Jiao Y, Zhang Z, Sabeti PC, Tang K, Xu S, Jin L, Wang S. EDARV370A associated facial characteristics in Uyghur population revealing further pleiotropic effects. *Hum Genet*, 2016, 135(1): 99–108. [DOI]
- [18] Guo J, Mei X, Tang K. Automatic landmark annotation and dense correspondence registration for 3D human facial images. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 232. [DOI]
- [19] Li J, Ji L. Adjusting multiple testing in multilocus analyses using the eigenvalues of a correlation matrix. *Heredity (Edinb)*, 2005, 95(3): 221–227. [DOI]
- [20] Xu S, Jin L. A genome-wide analysis of admixture in Uyghurs and a high-density admixture map for disease-gene discovery. *Am J Hum Genet*, 2008, 83(3): 322–336. [DOI]
- [21] Xu S, Huang W, Qian J, Jin L. Analysis of genomic admixture in Uyghur and its implication in mapping strategy. *Am J Hum Genet*, 2008, 82(4): 883–894. [DOI]
- [22] Bornert F, Choquet P, Gros CI, Aubertin G, Perrin-Schmitt F, Clauss F, Lesot H, Constantinesco A, Schmittbuhl M. Subtle morphological changes in the mandible of tabby mice revealed by micro-CT imaging and elliptical fourier quantification. *Front Physiol*, 2011, 2: 15. [DOI]

(责任编辑: 谢小冬)

补充材料：



附图 1 新疆维吾尔族样本(612 例和 709 例)的年龄和体重指数的分布图
A :面部定量表型分析使用 612 例样本的年龄和体重指数分布 ;B :面部和耳朵定性表型分析使用 709 例样本的年龄和体重指数分布。



附图 2 滑动窗口分析 *EDARV370A* 在不同年龄区段对表型的效应值趋势图(窗口大小：10 岁；步宽：1 岁)

附表 1 EDARV370A 对新疆维吾尔族男性和女性面部形态及耳朵形态表型的相关性

表型	男性样本						女性样本			
	特征点 1	特征点 2	有效样本数	BETA 值	标准误	P 值	有效样本数	BETA 值	标准误	P 值
定量表型										
左眼外角点到左耳根下点	ExL	ObiL	589	0.21	0.05	2.27E-05	22	0.14	0.25	5.87E-01
右眼外角点到右耳根下点	ExR	ObiR	589	0.21	0.05	1.60E-05	21	-0.14	0.18	4.48E-01
左眼内角点到左耳根下点	EnL	ObiL	588	0.19	0.05	6.92E-05	22	0.21	0.22	3.51E-01
右鼻翼点到口裂点	AIR	Sto	588	0.19	0.05	4.62E-04	21	0.60	0.24	2.38E-02
右眼内角点到右耳根下点	EnR	ObiR	589	0.17	0.05	2.42E-04	21	0.06	0.17	7.11E-01
左鼻翼点到口裂点	AIL	Sto	586	0.18	0.06	1.19E-03	22	0.61	0.22	1.45E-02
鼻根点到右耳根下点	N	ObiR	590	0.16	0.05	6.63E-04	21	-0.06	0.17	7.28E-01
右鼻翼点到下唇点	AIR	Li	590	0.18	0.06	3.56E-03	22	0.76	0.31	2.62E-02
定序表型										
耳垂附着	/	/	680	0.16	0.03	1.40E-06	25	0.06	0.17	7.40E-01
耳廓外展程度	/	/	681	0.11	0.03	1.01E-04	26	0.01	0.11	9.10E-01
下巴类型	/	/	660	-0.15	0.03	2.86E-06	26	-0.17	0.17	3.38E-01
耳垂类型	/	/	679	0.14	0.05	5.69E-03	26	0.37	0.24	1.38E-01
耳垂大小	/	/	683	0.05	0.02	1.10E-02	26	0.02	0.09	8.36E-01
对耳屏大小	/	/	671	0.06	0.03	6.33E-02	26	-0.03	0.12	8.14E-01
耳轮脚延伸程度	/	/	682	0.00	0.02	9.79E-01	25	0.30	0.11	1.05E-02

表格中显示的定量表型是在全部样本中与 EDARV370A 显著相关的面部定量表型。

附表 2 年龄、性别及 BMI 在新疆维吾尔族人群中(n=709)对耳朵形态定序分类表型的影响

	耳垂附着			下巴类型			耳廓外展程度			耳垂类型			耳垂大小			对耳屏大小			耳轮脚延伸程度		
	BETA	SE	P	BETA	SE	P	BETA	SE	P	BETA	SE	P	BETA	SE	P	BETA	SE	P	BETA	SE	P
性别	-0.02	0.12	8.84E-01	-0.08	0.11	4.92E-01	0.33	0.10	6.25E-04	-0.39	0.17	2.54E-02	0.16	0.07	2.66E-02	-0.11	0.10	3.07E-01	0.07	0.08	3.72E-01
年龄	-0.01	0.00	2.54E-02	0.00	0.00	4.81E-02	-0.01	0.00	8.23E-10	-0.01	0.00	4.47E-02	0.01	0.00	1.08E-06	-0.01	0.00	9.83E-03	0.00	0.00	2.15E-02
体重指数 (BMI)	0.03	0.01	4.51E-06	0.02	0.01	1.35E-03	0.05	0.00	3.39E-24	0.01	0.01	2.78E-01	0.01	0.00	1.50E-02	0.01	0.01	9.21E-03	-0.01	0.00	1.48E-02

性别男为 1, 女为 2。

年龄以 1 岁为单位。

BETA, SE, P 是基于多重线性回归的统计量。