

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.23.036

HoxD-13 在先天性肛门直肠畸形患儿末端直肠组织中的表达意义 及与切口感染的关系 *

姚 远¹ 侯崇智¹ 程 涛¹ 刘燕飞² 潘伟康^{3Δ}

(1 西安市儿童医院普外一科 陕西 西安 710003;

2 西安市儿童医院病理科 陕西 西安 710003; 3 西安交通大学第二附属医院小儿外科 陕西 西安 710004)

摘要 目的:探讨 HoxD-13 在先天性肛门直肠畸形(CAM)患儿末端直肠组织中的基因表达意义及与术后切口感染的关系。**方法:**选择 2015 年 6 月-2019 年 06 月 CAM 患儿 71 例作为观察组,选择非 CAM 患儿 12 例作为对照组。采用实时荧光 PCR(RT-PCR)检测两组直肠末端组织 Hoxd-13 基因表达情况;记录观察组性别、年龄、体重、CAM 临床分型、其它系统合并畸形情况、手术方式、成形次数、是否发生术后切口感染等,分析上述不同情况下 HoxD-13 基因表达水平的差异;采用线性回归分析 CAM 临床分型与合并其它畸形情况、HoxD-13 基因表达水平的关系;观察术后切口感染相关因素,采用单因素分析、二元 Logistic 分析探索切口感染的危险因素。**结果:**观察组 CAM 患儿末端直肠组织中 HoxD-13 相对表达量低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。合并其它畸形患儿的 HoxD-13 相对表达量低于未合并患儿,差异具有统计学意义($P<0.05$)。中高位 CAM 患儿合并其它畸形患病率 72.09%, 高于低位 CAM 患儿 (21.43%), 差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 中高位 CAM 患儿的 HoxD-13 相对表达量低于低位 CAM, 差异具有统计学意义($P<0.05$);线性回归提示 HoxD-13 相对表达量是影响临床分型的主要因素($t=4.714, P=0.000$)。切口感染单因素分析提示,发生术后切口感染的 CAM 患儿的临床分型、合并其他畸形情况及直肠末端组织 HoxD-13 相对表达量与未发生切口感染患儿相比,存在统计学差异($P<0.05$);二元 Logistic 分析结果表明,HoxD-13 是术后切口感染的危险因素(Wald χ^2 值=7.440, $P=0.006$)。**结论:**HoxD-13 基因在 CAM 患儿末端直肠组织中呈低表达,可能是 CAM 临床分型及合并其它畸形的主要因素,且可能是术后切口感染的危险因素,因此对胎儿或患儿 Hoxd-13 基因表达情况进行检测有一定的临床价值。

关键词:HoxD-13 基因;先天性肛门直肠畸形;末端直肠组织;切口感染

中图分类号:R657.1;R726.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)23-4565-06

Expression and Significance of HoxD-13 in Terminal Rectum Tissue of Children with Congenital Anorectal Malformation and Its Relationship with Incision Infection*

YAO Yuan¹, HOU Chong-zhi¹, CHENG Tao¹, LIU Yan-fei², PAN Wei-kang^{3Δ}

(1 Section 1 of General Surgery Department, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710003, China;

2 Department of Pathology, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710003, China;

3 Department of Pediatric Surgery, 2nd Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the gene expression and significance of HoxD-13 in the terminal rectal tissue of children with congenital anorectal malformation (CAM) and its relationship with incision infection after operation. **Methods:** 71 children with CAM from June 2015 to June 2019 were selected as the observation group, and 12 children without CAM were selected as the control group. Real-time fluorescent PCR (RT-PCR) was used to detect the HoxD-13 gene expression of terminal rectum tissue. The case data of the observation group as gender, age, weight, clinical type of CAM, other system combined malformations, operation mode, shaping times and postoperative incision infection were recorded, and the differences of Hoxd-13 gene expression levels in the above cases were analyzed. Analysis of the relationship between clinical type of CAM with other combined malformations or Hoxd-13 gene expression levels were done according to linear regression. The related factors of postoperative incision infection were observed, and then the risk factors of incision infection were investigated by single factor analysis and binary logistic analysis. **Results:** The relative expression level of HoxD-13 in the terminal rectal tissue of children with CAM was significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). The relative expression of Hoxd-13 in children with other combined malformations was significantly lower than that in children without other malformations ($P<0.05$). In children with middle and high cam, the prevalence of other combined malformations was significantly higher than that in children with low cam (72.09% vs. 21.43%) ($P<0.05$), and the relative expression of Hoxd-13 was significantly lower than

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81701501)

作者简介:姚远(1985-),男,本科,主治医师,主要研究方向:小儿普外科,肝胆肿瘤

Δ 通讯作者:潘伟康(1982-),男,博士,副主任医师,主要研究方向:肠神经系统疾病的干细胞移植;肠神经嵴干细胞;肠神经系统发育

(收稿日期:2020-03-28 接受日期:2020-04-23)

that in children with low cam ($P<0.05$), and according to the linear regression, the relative expression of Hoxd-13 was the main factor affecting clinical type ($t=4.714$, $P=0.000$). The single factor analysis of incisional infection indicated that there were statistical differences in clinical type, other combined malformations and the relative expression of Hoxd-13 in terminal rectal tissue between the children with postoperative incisional infection and those without incisional infection ($P<0.05$), and the binary logistic analysis showed that the relative expression of Hoxd-13 was a risk factor for postoperative incision infection (Wald $\chi^2=7.440$, $P=0.006$). **Conclusions:** The low expression of Hoxd-13 in the terminal rectum tissue of children with CAM may be the main factor of clinical type of CAM and other combined malformations, and may be the risk factor of incision infection after operation, so it has certain clinical value to detect the expression of Hoxd-13 gene in fetus of children.

Key words: HoxD-13 gene; Congenital anorectal malformation; Ierminal rectal tissue; Incision infection

Chinese Library Classification(CLC): R657.1; R726.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2020)23-4565-06

前言

先天性肛门直肠畸形 (congenital anorectal malformation, CAM)属于发病率最高的消化道畸形之一,具有种类繁多、病理复杂等特点,不仅会引起直肠、肛门发育缺陷,引起肛门周围肌肉、耻骨及/或内括约肌改变,亦可引起神经调节功能变化^[1,3]。目前,临床上对于 CAM 发病机制尚未明确,普遍认为与遗传因素和环境因素有关,如妊娠期(尤其是妊娠早期)病毒感染、环境及营养因素均可能是其致病因素^[3-5]。另外,由于 CAM 还可合并其他器官畸形,严重者可危及生命,因此,加强 CAM 早期诊断对预防、治疗及改善预后均具有重要意义^[6,7]。

有研究表明,Hox 基因家族在动物消化道的发育及分化,如在肛门直肠的胚胎发育阶段发挥调控作用^[8,9],而其中 HoxD-13 基因作为高度保守的转录因子,不仅一方面在胚胎基本体轴、次级体轴发育中发挥作用,另一方面在中枢神经系统、中轴骨、泌尿输尿管与肢体发育中均发挥了重要作用,而且可能与动物泄殖腔发育有关,且可能是 CAM 的易感基因^[10-13]。然而,尽管如此,HoxD-13 在 CAM 患儿末端直肠组织中表达的研究较少,因此,针对 HoxD-13 在 CAM 患儿末端直肠组织中的基因表达及意义进行研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2015 年 06 月-2019 年 06 月 CAM 患儿 71 例作为观察对象,设为观察组,其中男 45 例、女 26 例;年龄(4-101)d,平均(56.59±20.15)d;体重(2.4-4.7)kg,平均(3.52±0.49)kg;疾

病分型为直肠会阴瘘 24 例、直肠尿道瘘 16 例、直肠膀胱瘘 14 例、前庭瘘 15 例、肛门狭窄 2 例;Wingspread 分类^[14]为低位肛门直肠畸形 43 例、中高位畸形 28 例;合并其它系统畸形男 22 例,女 12 例。选择同期无先天性缺陷、非消化道畸形行肠道手术治疗或其它疾病死亡行尸检患儿,共 12 例,设为对照组,其中男 7 例、女 5 例;年龄(8-93)d,平均(55.17±27.82)d;体重(2.6-4.8)kg,平均(3.68±0.71)kg。两组临床资料比较均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经患儿法定监护人知情同意并签署知情同意书;本研究经我院伦理委员会审核通过。

1.2 纳入、排除标准

观察组纳入标准:(1)均符合先天性肛门直肠畸形诊断标准^[2,15],均经手术最终确诊;(2)所有患者均符合肛门成形术标准,均行手术治疗,且患者均能耐受治疗;(3)均能遵医嘱完成有关检查、治疗;(4)监护人同意本研究。排除标准:(1)合并恶性肿瘤或入院资料不全者;(2)近 1 个月使用其他治疗方法或对本研究结果产生影响者;(3)合并凝血异常或伴有自身免疫系统疾病者。

1.3 方法

1.3.1 Hoxd-13 相对表达量测定 所获患儿直肠末端后壁组织,立即进行检验或 -80℃冰箱保存,随后按如下步骤采用实时荧光 PCR 技术(RT-PCR)检测 Hoxd-13 相对表达量:(1)采用 trizol 法分离、提纯总 RNA;(2)根据 5×All-In-One RT Master-Mix 说明书进行逆转录;(3)按照 RT-PCR 试剂盒说明书进行 PCR,引物设计见表 1^[9];(4)荧光定量 PCR 检测 Hoxd-13 基因相对表达量,重复三次进行统计学分析。

表 1 HoxD-13 基因引物^[13]
Table 1 Gene primer of HoxD-13

Primer type	Sequence
HoxD-13	Forward primer
	5'-TGCTCCTCTTCTGCCGTTGT-3'
β-actin	Reverse primer
	5'-CCTGTGGCTGGTCTTGGT-3'
β-actin	Forward primer
	5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3'
β-actin	Reverse primer
	5'-CTCCTTATTGTACGCACGATTTC-3'

1.3.2 Hoxd-13 基因表达情况 观察并比较观察组与对照组 HoxD-13 基因相对表达情况。查阅观察组病例资料,统计患者基本资料(性别、年龄、体重)、临床特征(临床分型、其它系统合并畸形情况、手术方式、成形次数、术后合并感染情况),分析并

对比不同基本资料及临床特征下 Hoxd-13 基因相对表达水平。**1.3.3 临床分型与其它合并畸形及 Hoxd-13 基因表达情况的关系** 分析、对比不同临床分型合并其它系统畸形情况以及 HoxD-13 相对表达量情况,随后对临床分型与合并其它系统畸

形情况及 HoxD-13 基因表达情况进行回归分析。

1.3.4 术后切口感染原因分析 以是否发生切口感染进行分组,对患者基本资料、临床特征和 HoxD-13 相对表达量情况单因素分析,随后对可导致切口感染的原因进行多因素分析。

1.4 统计分析

采用 SPSS 21.0 软件处理,计数资料行 χ^2 检验,采用 $n(\%)$ 表示;计量资料行 t 检验,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示;切口感染原因分析,将单因素分析存在统计学差异的指标进行 Logistic 分析,并

计算比值比(odds ratio, OR)及其 95%置信区间(confidence interval, CI)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组 HoxD-13 基因水平对比

观察组 CAM 患儿末端直肠组织中 HoxD-13 基因水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 观察组与对照组 HoxD-13 相对表达量对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression of HoxD-13 between the observation group and the control group($\bar{x} \pm s$)

Groups	Amount(n)	Relative expression of HoxD-13
Observation group	71	0.35±0.08
Control group	12	0.78±0.13
t	/	5.643
P	/	0.000

2.2 观察组不同基本资料及临床特征下 HoxD-13 基因表达情况

患儿性别、年龄、手术方式、成形次数不同时,其末端直肠组织中 HoxD-13 基因相对表达量无统计学差异($P > 0.05$);临

床分型、合并其它畸形、切口感染情况不同时,其末端直肠组织中 HoxD-13 基因水平具有统计学差异($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同基本资料及临床特征下观察组 Hoxd-13 表达情况

Table 3 The expression of HoxD-13 in the observation group with different basic data and clinical characteristics

		Amount(n)(%)	Relative expression of HoxD-13	t	P
Gender	Male	45(63.38)	0.35±0.08	0.186	0.853
	Female	26(36.62)	0.34±0.07		
Age	≥ 90d	6(8.45)	0.36±0.04	0.297	0.767
	<90d	65(91.55)	0.35±0.08		
Clinical type	low	28(39.44)	0.41±0.06	6.829	0.000
	middle and high	43(60.56)	0.31±0.06		
Other combined malformations	Yes	37(52.11)	0.30±0.07	-5.646	0.000
	No	34(47.89)	0.39±0.07		
Operation mode	Transperineal anoplasty	26(36.62)	0.33±0.08	-0.317	0.192
	PSARP/LAARP	45(63.38)	0.36±0.07		
Shaping times	1	22(30.99)	0.34±0.09	-0.508	0.613
	> 1	49(69.01)	0.35±0.07		
Incision infection	Yes	16(22.54)	0.44±0.06	6.987	0.000
	No	55(77.46)	0.32±0.06		

2.3 不同临床分型与合并畸形及 HoxD-13 表达情况的关系

中高位 CAM 患儿中,合并其它畸形 31 例,患病率 72.09%,高于低位 CAM 患儿(患病率 21.43%)($P < 0.05$),差异有统计学意义;中高位 CAM 患儿,无论是否合并其它畸形,其 HoxD-13 相对表达量均分别低于低位 CAM 患儿($P < 0.05$),中高位 CAM 且合并其它畸形患儿 HoxD-13 相对表达量低于低位 CAM 患儿($P < 0.05$),差异均有统计学意义。见表 4。

以临床分型为因变量并赋值(中高位 =1,低位 =2),合并其

它畸形情况(无畸形 =0,有畸形 =1)与 HoxD-13 相对表达量为自变量,进行线性回归分析,得到回归方程 $(y)=3.274 \times (\text{HoxD-13})$, $F=25.800$, $P=0.000$,说明 HoxD-13 是影响临床分型的主要因素。见表 5。

2.4 术后切口感染原因分析

以是否发生切口感染进行分组,对患者基本资料(性别、年龄、体重)、临床特征(临床分型、合并其它畸形、手术方式、成形次数)和 HoxD-13 相对表达量进行单因素分析,可见临床分

型、合并其他畸形情况不同时,合并切口感染情况不同,差异有统计学意义 ($P<0.05$); 合并切口感染患儿直肠末端组织 HoxD-13 相对表达量高于未合并感染患儿,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

表 4 不同临床分型合并其它畸形情况及 HoxD-13 表达情况对比
Table 4 Comparison of other combined malformations and expression of Hoxd-13 in different clinical types

	Clinical type	Other combined malformations		χ^2/t	P
		Yes	No		
Clinical type	Low	6 (21.43)	22 (78.57)	17.443	0.000
	Middle and high	31 (72.09)	12 (27.91)		
Relative expression of HoxD-13	Low	0.38±0.07	0.42±0.06	-1.250	0.223
	Middle and high	0.29±0.05	0.35±0.06	-3.195	0.003
t		3.544	3.181		
P		0.001	0.003		

表 5 临床分型线性回归分析
Table 5 Linear regression analysis of clinical typing

	Unstandardized coefficients		t	P	95%C.I.	
	B	S.E.			Lower	Upper
Constant	0.375	0.278	1.351	0.181	-0.179	0.929
Relative expression of HoxD-13	3.247	0.689	4.714	0.000	1.873	4.622
Other combined malformations	-0.198	0.108	-1.834	0.071	-0.414	0.018

表 6 不同切口感染情况患者基本资料、临床特征、HoxD-13 比较
Table 6 Comparison of basic data, clinical characteristics and HoxD-13 of patients with different incision infection

		Incision infection		χ^2/t	P
		Yes	No		
Gender	Male	8 (17.78)	37 (82.22)	1.593	0.207
	Female	8 (30.77)	18 (69.23)		
Age		51.00±23.17	58.22±19.11	-1.267	0.210
Weight		3.41±0.53	3.55±0.48	-0.998	0.322
Clinical type	Low	12 (42.86)	16 (57.14)	10.937	0.001
	Middle and high	4 (9.30)	39 (90.70)		
Other combined malformations	Yes	4 (10.81)	33 (89.19)	6.084	0.014
	No	12 (35.29)	22 (64.71)		
Operation mode	Transperineal anoplasty	11 (24.44)	34 (75.56)	0.257	0.612
	PSARP/LAARP	5 (19.23)	21 (80.77)		
Shaping times	1	5 (22.73)	17 (77.27)	0.001	0.979
	>1	11 (22.45)	38 (77.55)		
Relative expression of HoxD-13		0.44±0.06	0.32±0.06	6.987	0.000

以是否发生切口感染为因变量并进行赋值(感染=0,未感染=1),上述有统计学差异的指标作为自变量(临床分型:中高位=1,低位=2;合并其它畸形:无畸形=0,有畸形=1),采用强迫回归的形式,进行切口感染的二元 Logistic 回归分析,可见 HoxD-13 是切口感染的危险因素 (Wald χ^2 值=7.440, $P=0.006$)。见表 7。

表 7 切口感染因素二元 logistic 回归分析

Table 7 Binary logistic regression analysis of incision infection factors

	B	B.E.	Wald χ^2	P	OR	95%C.I.	
						Lower	Upper
Relative expression of HoxD-13	-185.961	68.179	7.440	0.006	0.000	0.000	0.000
Clinical type	-4.319	2.530	2.914	0.088	0.013	0.000	1.897
Other combined malformations	3.183	2.759	1.331	0.249	24.116	0.108	5382.689
Constant	72.028	26.063	7.638	0.006	1.911×10 ³¹		

Note: Model test results, Likelihood ratio $\chi^2=59.893$, $v=3$, $P=0.000$; Goodness of fit test, $\chi^2=13.152$, $v=7$, $P=0.068$.

3 讨论

CAM 发病率高,病因复杂,产前检查难以诊断,可严重影响患儿身心健康及生活质量。因此,加强 CAM 患儿早期诊断、治疗对改善预后具有重要的意义。

Hox 基因家族最早于 1978 年在果蝇中被发现,后经多年研究,发现存在于整个动物界,其在结构上、功能上均高度保守。人类在 A、B、C、D 四个基因簇中共存在 Hox 基因 39 个,且在每一簇里的物理位置、发育阶段的时空表达均相互对应,在肢体发育过程中发挥了重要的作用^[17,18]。根据基因同源性,Hox 家族又被分为 13 个组,Hox-9、10、11、12 及 13 被认为均能调节肢体肢带骨、柱骨、结合骨与端骨等,能直接参与机体的生长、发育,其中有研究发现,HoxA-13 除被报道为手足生殖器综合征的相关基因外,还可能是 CAM 的易感基因^[19-21],但是,针对 HoxD-13 的研究较少。

人类 HoxD-13 基因主要定位于 2q31.1,含有 2 个外显子,是高度保守的转录因子,最早被发现与肢体畸形有重要关系^[22]。临床研究表明,HoxD-13 基因突变类型相对较多,包括移码突变、缺失、错义突变、剪接部位突变等,并且确诊突变患者中多数是由于 HoxD-13 中多聚丙氨酸链延展错义突变引起,但此类研究多局限于对肢体畸形的研究,针对 CAM 的研究较少^[23-25]。本研究中,观察组 CAM 患儿末端直肠组织中 HoxD-13 基因水平低于对照组($P<0.05$),说明 HoxD-13 基因在 CAM 患儿末端直肠组织中呈低表达,可能直接参与疾病的发生、发展,分析其原因,可能为 HoxD-13 基因突变或转录水平下调有关,但具体原因及作用机制,还需进一步研究。

通过对观察组 HoxD-13 基因水平的观察,发现不同性别、年龄、手术方式、成形次数患儿 HoxD-13 相对表达量无统计学差异($P>0.05$),说明 CAM 患儿的 HoxD-13 基因为非伴性异常,且与患儿年龄无关。另外,研究发现,52.11%的 CAM 患儿合并其它系统畸形,与 Endo M 的研究结果(约 50%)一致;中高位 CAM 合并其它系统畸形的患儿达 72.09%,显著高于低位 CAM 患儿(27.91%),提示患儿直肠畸形位置越高,越可能合并其它系统畸形,也与 Endo M 的观察结果一致^[26]。进一步研究发现,中高位 CAM 患儿 HoxD-13 相对表达量显著低于低位,合并其它系统畸形患儿中,中高位 CAM 患儿的 HoxD-13 相对表达量显著低于低位,且线性回归提示,伴随 HoxD-13 相对表达量减少,患儿畸形位置升高,说明:CAM 患儿的 HoxD-13 基因

水平可能与 CAM 畸形及其它系统合并畸形的发生、发展相关。

对于 CAM,需手术治疗,通过重建排泄功能以改善患者症状和生存质量。本研究发现,不同手术方式和成形次数间 HoxD-13 基因表达水平无统计学差异,说明 HoxD-13 基因虽然可能与患儿 CAM 临床分型、是否合并其它系统畸形有关,但是却并不间接影响手术方式的选择和手术分期的抉择。针对手术方式及分期的抉择,仍需临床大夫根据患儿年龄、直肠末端即畸形位置等综合判断。目前多认为,CAM 畸形位置较低的患儿,可实施经会阴肛门成形术,术后肛门功能多恢复良好^[9];针对中高位畸形的患儿,尤其高位肛门闭锁,可采用 PSARP(后矢状入路肛门成形术),该术式暴露充分、术后恢复快,但需分期进行,治疗周期长且费用较高^[8];针对新生儿、中位无肛、中高位畸形也可采用 LAARP(腹腔镜下肛门成形术),也可获得良好的效果^[9,27,28]。针对手术分期的抉择,仍取决于畸形的位置:在中高位畸形的患儿一般分三期完成,对于低位畸形则可一期完成^[29];近年国内有专家推荐,为了使肛门功能更好地恢复,对于低位畸形的新生儿可一期完成手术^[30]。

术后切口感染是常见并发症,假如合并切口感染将对手术的效果产生严重影响,甚至影响患者远期预后并增加患者术后复发率^[6]。因此,为了研究可致切口感染的因素,我们以是否发生切口感染分组,对患儿的基本资料、临床分型、是否合并其它系统畸形、手术情况及 HoxD-13 基因表达情况等进行观察并进行单因素分析,发现"临床分型"、"合并其它畸形"与"HoxD-13 相对表达量"存在统计学差异,随后通过二元 Logistic 分析发现,HoxD-13 表达水平是发生切口感染的危险因素,提示我们可能通过检测 HoxD-13 基因表达水平用以评估切口感染的可能。

综上所述,HoxD-13 基因在先天性肛门直肠畸形患儿末端直肠组织中呈低表达,对胎儿或患儿 HoxD-13 基因突变或表达情况进行检测,可能有助于发现先天性肛门直肠畸形及其它系统合并畸形,并且可能用以评估术后切口感染风险。

参考文献(References)

- [1] 周莹,杨一凡,董瑞,等. DNA 甲基化修饰 Shh/Bmp4 信号通路先天性肛门直肠畸形患儿肠管神经系统发育异常的临床研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2018, 39(12): 914-917
- [2] 施诚仁,金先庆,李仲智. 小儿外科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010, 324
- [3] 张艳莉,任红霞. 先天性肛门直肠畸形基因异常及其致病因素研究

- 进展[J]. 中华胃肠外科杂志, 2016, 19(1): 113-117
- [4] Minneci PC, Kabre RS, Mak GZ, et al. Screening practices and associated anomalies in infants with anorectal malformations: Results from the Midwest Pediatric Surgery Consortium [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2018; S0022346818301647
- [5] Walton K, Wang S, Gumucio DL. Signals and forces shaping organogenesis of the small intestine [J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2019, 132: 31-65
- [6] 孙静, 王至立, 侯金凤, 等. 横结肠祥式造口术在先天性肛门直肠畸形分期手术中应用的临床研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(18): 1848-1853
- [7] 杨敏, 安果仙, 孙小兵, 等. 肛管内超声对肛门直肠畸形术后肛门功能异常患儿的评估价值 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2017, 20(11): 1306-1308
- [8] Kondo T, Dollé P, Zákány J, et al. Function of posterior HOXD genes in the morphogenesis of the anal sphincter [J]. *Development*, 1996, 122(9): 2651-2659
- [9] 刘佳林, 吴璇昭. 先天性肛门直肠畸形的病因及手术方式研究进展 [J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(11): 1014-1016
- [10] Warot X, Fromentalramain C, Fraulob V, et al. Gene dosage-dependent effects of the Hoxa-13 and Hoxd-13 mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts[J]. *Development*, 1997, 124(23): 4781-4791
- [11] 王大佳, 白玉作, 贾慧敏, 等. 基因芯片筛选先天性肛门直肠畸形相关基因[J]. *中华小儿外科杂志*, 2009, 30(7): 455-459
- [12] Zhang D, Zhang ZB, Zhang T, et al. Hoxd-13 expression in the development of hindgut in ethylenethiourea-exposed fetal rats [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2010, 45(4): 755-761
- [13] Wang FL, Du MZ, Wang RL, et al. Molecular mechanism of Hoxd13-mediated congenital malformations in rat embryos [J]. *International journal of clinical and experimental pathology*, 2015, 8(12): 15591-15598
- [14] Holschneider A, Hutson J, Peña A, et al. Preliminary report on the International Conference for the Development of Standards for the Treatment of Anorectal Malformations [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2005, 40(10): 1521-1526
- [15] 蔡威. 小儿外科学[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社, 2014: 348
- [16] 白玉作, 高红, 王维林. 先天性肛门直肠畸形 Hoxd 13 基因表达的研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2003, 5(3): 201-204
- [17] Spitz F, Gonzalez F, Peichel C, et al. Large scale transgenic and cluster deletion analysis of the HoxD complex separate an ancestral regulatory module from evolutionary innovations [J]. *Genes & Development*, 2001, 15(17): 2209-2214
- [18] Darbellay F, Bochaton C, Delisle L, et al. The constrained architecture of mammalian Hox gene clusters [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(27): 201904602
- [19] 张志波, 王练英, 李正, 等. 应用 TDT 检验确定先天性肛门直肠畸形与 HoxA 基因的关系[J]. *中华小儿外科杂志*, 2001, (04): 48-49
- [20] Imagawa E, Kayserili H, Nishimura G, et al. Severe Manifestations of Hand-Foot-Genital Syndrome Associated With a Novel HOXA13 Mutation [J]. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2014, 164A(9)
- [21] Quinonez SC, Innis JW. Human HOX gene disorders [J]. *Molecular Genetics & Metabolism*, 2014, 111(1): 4-15
- [22] Brison N, Debeer P, Tylzanowski P. Joining the fingers: A HOXD13 story[J]. *Developmental Dynamics*, 2014, 243(1): 37-48
- [23] 陈晓源, 张晋雯, 师秀艳. HOXD13 基因突变及所致疾病 [J]. *沈阳医学院学报*, 2017, 19(04): 371-374
- [24] Scherer SW. Altered growth and branching patterns in synpolydactyly caused by mutations in HOXD13[J]. *Science (Washington D C)*, 1996, 2(7): 1
- [25] Guo XY, Shi TF, Lin MR, et al. A Nonsense Mutation in HOXD13 Gene from A Chinese Family with Non-Syndromic Synpolydactyly [J]. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2019, 249(2): 93-100
- [26] Endo M, Hayashi A, Ishihara M, et al. Analysis of 1,992 patients with anorectal malformations over the past two decades in Japan [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 1999, 34(3): 435-441
- [27] Diao M, Li L, Ye M, et al. Single-incision laparoscopic-assisted anorectoplasty using conventional instruments for children with anorectal malformations and rectourethral or rectovesical fistula [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2014, 49(11): 1689-1694
- [28] 侯文英, 李龙, 刘树立, 等. 腹腔镜辅助中位肛门闭锁成形术 11 例报告[J]. *中国微创外科杂志*, 2007, (05): 439-441
- [29] 白玉作. 肛门直肠畸形治疗的热点问题探讨 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(23): 2122-2125
- [30] Liu G, Yuan J, Geng J, et al. The treatment of high and intermediate anorectal malformations: One stage or three procedures?[J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2004, 39(10): 1466-1471

(上接第 4584 页)

- [26] Al-Anazi MR, Matou-Nasri S, Al-Qahtani AA, et al. Association between IL-37 gene polymorphisms and risk of HBV-related liver disease in a Saudi Arabian population[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7123
- [27] Lei Q, Li T, Kong L, et al. HBV-Pol is crucial for HBV-mediated inhibition of inflammasome activation and IL-1 β production[J]. *Liver Int*, 2019, 39(12): 2273-2284
- [28] 吴利英, 双婷, 谢婷婷, 等. 细胞因子诱导杀伤细胞对卵巢癌细胞耐药的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(23): 4405-4408
- [29] 王翠晓, 高静. 血清高尔基蛋白 73、甲胎蛋白异质体 3、甲胎蛋白和 α -L-岩藻糖苷酶水平诊断原发性肝癌的效能分析[J]. *实用肝脏病杂志*, 2019, 22(1): 113-116
- [30] Liu Y, Zhou S, Shi J, et al. c-Myc transactivates GP73 and promotes metastasis of hepatocellular carcinoma cells through GP73-mediated MMP-7 trafficking in a mildly hypoxic microenvironment [J]. *Oncogenesis*, 2019, 8(10): 58