

## · 专题 · 先天性巨结肠 ·

## 多组学在先天性巨结肠中的应用及研究进展



全文二维码

向路苹 付豪 刘远梅

遵义医科大学附属医院贵州省儿童医院小儿外科, 遵义 563000

通信作者: 刘远梅, Email: yuanmei116@aliyun.com

**【摘要】** 先天性巨结肠(Hirschsprung's disease, HSCR)是由环境、遗传等多因素导致的疾病,手术是其主要治疗手段,其基本病理改变为不同长度的远端肠管神经节缺如。目前已有大量关于 HSCR 在基因组学、转录组学、蛋白质组学等方面的研究报道,多组学在 HSCR 的筛查、诊断以及发病机制探索中发挥了重要作用。本文就多组学技术在 HSCR 中的应用与研究进展进行综述。

**【关键词】** 先天性巨结肠; 基因组学; 转录组学; 蛋白质组学; 外科手术; 儿童

**基金项目:** 国家自然科学基金(82060100)

DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202312028-007

#### Applications and research advances of multi-omics for Hirschsprung's disease

Xiang Luping, Fu Hao, Liu Yuanmei

Department of Pediatric Surgery, Affiliated Hospital, Zunyi Medical University, Guizhou Provincial Children's Hospital, Zunyi 563000, China

Corresponding author: Liu Yuanmei, Email: yuanmei116@aliyun.com

**【Abstract】** Hirschsprung's disease (HSCR) is a disease caused by both environmental and genetic factors. And surgical intervention has remained a major treatment. Its basic pathological changes include an absence of distal intestinal ganglia of varying lengths, abdominal distension and constipation. Currently a large number of studies have been devoted to HSCR in genomics, transcriptomics, proteomics and other multi-omics. Multi-omic has played an important role in the screening, diagnosis and pathogenesis of HSCR. This review focused upon the latest applications and researches of multi-omics technology for HSCR.

**【Key words】** Hirschsprung Disease; Genomics; Transcriptomics; Proteomics; Surgical Procedures, Operative; Child

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82060100)

DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202312028-007

先天性巨结肠(Hirschsprung's disease, HSCR)又被称为“无神经节细胞症”,是小儿常见先天性消化道畸形之一,其在新生儿中的发病率约为1:5 000<sup>[1-2]</sup>。HSCR具有高遗传率(>80%)、明显性别差异(男女发病比例约为4:1)等复杂的遗传特征<sup>[3]</sup>。HSCR的发生是由于肠神经嵴细胞(enteric neural crest cells, ENCCs)在远端肠管的迁移、增殖、分化、存活等发生异常而引起远端肠管神经节细胞缺如,导致病变肠管持续痉挛性收缩,蠕动消失,近端肠管被动扩张,从而出现腹胀、呕吐以及排便障碍等临床表现,但其具体发病机制仍未完全阐明<sup>[4-6]</sup>。术前诊断HSCR的方法主要包括腹部X线检查、钡剂灌肠、肛门直肠测压等,其诊断的金标准

是在临床表现及影像学检查的基础上进行病理活检,检测黏膜下神经丛或肠神经组织丛内是否缺乏神经节细胞,及是否伴有黏膜下层神经纤维增生<sup>[7]</sup>。

根据肠道中无神经节细胞段所累及的长度,国际上将HSCR分为四型:短段型(short segment HSCR, S-HSCR)、长段型(long segment HSCR, L-HSCR)、全结肠型(total colonic HSCR, TCA)和全肠炎型(total colonic and small-colon aganglionosis, TC-SA)<sup>[8]</sup>。由于病理活检属于有创操作,所以很多国内外学者都在探索HSCR的分子机制,以期为HSCR带来新的诊治方法。多组学是指把基因组学(deoxyribonucleic acid, DNA)、转录组学(ribonucleic

acid, RNA)、蛋白质组学(蛋白质)、代谢组学(下游的小分子代谢产物)和表观遗传组学(基因表达的广泛变化)等多个组学技术得到的数据集进行生物信息学分析后,将存在差异的组学特征进行整合,从而对疾病进行整体分析的方法<sup>[9]</sup>。多个组学数据的结合可以更全面地将 HSCR 患者基因水平改变、基因表达调控以及蛋白质表达差异等联系起来,对阐明 HSCR 的发生、发展机制以及早期筛查、诊断及治疗 HSCR 具有重要意义。

### 一、基因组学

ENCCs 迁移停滞是引起 HSCR 的内在原因,整个过程由神经嵴和肠道微环境的特定信号通路分子和转录因子调控,任何编码这些分子的基因发生突变,都可能影响到整个 ENCCs 的定植过程,成为 HSCR 的致病基因<sup>[10]</sup>。研究发现 HSCR 是由多基因异常导致的复杂遗传性疾病,表明对该疾病的基因组学研究是深入了解其发病机理的重要手段<sup>[3]</sup>。基因组学是对生物体全部 DNA 序列进行研究的学科,以 DNA 变异为主要研究内容,在临床研究中,主要是探讨疾病 DNA 变异位点及其对生物体的影响,以更好地反映疾病的遗传基础。目前国内外已有很多研究通过全基因组测序或全外显子组测序等二代测序技术绘制 HSCR 相关的基因组变异图谱,筛选出新的易感基因,并通过生物信息学分析过滤各种遗传变异,鉴定出与 HSCR 发病相关的显著突变基因。目前已知至少有 20 个基因与 HSCR 的发病机制相关,包括 *RET* 基因重排、胶质细胞源性神经生长因子(*GNDF*)、*GNDF* 家族受体  $\alpha 1$  (*GFR $\alpha 1$* )、*NRTN*、*EDNRB*、*EDN3*、*PHOX2B*、*SOX-2*、*SOX10*、*DLL3* 等<sup>[11-14]</sup>。近年来,国内外学者利用二代测序技术发现了十余个新的 HSCR 候选基因,包括 *TBATA*、*ERBB2*、*ERBB3*、*BACE2*、*DEND3*、*NUP98*、*NCLN*、*PTK2*、*ITGB4*、*ACSS2*、*ENO3*、*URB4* 等基因<sup>[15-20]</sup>。除了筛选新的候选基因外,研究者们还致力于寻找已知致病基因中的新致病位点。有学者通过二代测序技术发现 HSCR 的主要易感基因 *RET* 的 14 号外显子出现了一个新的无义突变 c. 2599G > T,并且经过功能学检测证实该突变是具有功能的有害突变<sup>[21-22]</sup>。之后又有学者通过相同方法发现 HSCR 的另一个主要致病基因 *EDNRB* 新的重复突变 c. 367delinsTT (p. L123Fter32),并推测该突变可能对 HSCR 具有致病性<sup>[23]</sup>。研究显示,目前所知的基因突变只能解释约 50% 的家族性 HSCR 病例和 20% 左右的散发性 HSCR 病例<sup>[24-25]</sup>。上述

研究说明,在 HSCR 中还存在许多未知的潜在致病基因,或已知致病基因的新突变位点还没有被发掘。随着二代测序技术的迅速发展,利用二代测序技术可在 HSCR 患儿中发现更多新的 HSCR 相关基因突变,但更重要的是,除了进行突变基因的检测外,我们还应该关注突变的功能测试,从而辨别突变是否有害。通过结合基因组学技术以及遗传分析技术,整合多个关键基因的遗传变异与 HSCR 的关系,可进一步阐明 HSCR 的遗传机制。除此之外,二代测序技术可能逐渐成为 HSCR 等许多出生缺陷疾病的常规产前诊断方法,但若使用基础广泛的遗传学方法,可能发现某些与易患不相关癌症或者退行性疾病相关的基因缺陷,这使得数据分析变得复杂,且增加了经济负担。所以,如何利用靶向的下一代测序方法促进定向基因检测以识别有效的 HSCR 遗传风险,从而降低基因分析成本和提高解释遗传数据的能力,值得继续研究。

### 二、转录组学

转录组学是一门在整体水平上研究细胞中基因转录及转录调控规律的学科,是细胞中基因转录所得产物 RNA 的集合。根据 RNA 是否通过编码蛋白质发挥生物学功能,将其分为编码 RNA (messenger RNA, mRNA, 占 1% ~ 4%) 和非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA, > 95%)。目前已有大量研究证实 *RET*、*GNDF*、*GFRA1*、*EDNRB*、*EDN3*、*SOX-10*、*SEMA3C*、*PHOX2B*、*ACCS2*、*UBR4* 等基因与 HSCR 的发生有关<sup>[26-30]</sup>。如果这些基因的转录表达及其转录调控发生异常,则编码蛋白的结构可能发生改变,导致 ENCCs 因过早分化或凋亡而不能到达远端肠道,最终导致 HSCR<sup>[31]</sup>。近年来,国内外不少学者通过转录组测序揭示 HSCR 病变组织与正常组织的差异性表达。有研究报道在 *EDNRB*<sup>ml/y<sup>zcm</sup></sup> 小鼠中内皮素信号通路成员的修饰基因 *LICAM* 表达明显增高,而与胚胎发育密切相关的 *SHH* 基因表达显著降低,提示 *EDNRB*/*EDN3* 信号通路与 *SHH* 基因之间可能存在未知的相互作用<sup>[32]</sup>。还有学者在 HSCR 扩张段和狭窄段结肠组织中发现 *CCL5* 基因上调,且富集分析发现 *CCL5* 参与朊病毒疾病途径,推测 *CCL5* 可能通过对神经系统的影响参与 HSCR 的发生,但该预测结果还未进一步验证<sup>[33]</sup>。此外,有学者在 HSCR 患儿病变肠组织中发现了 5 个 lncRNA 与正常结肠组织相比具有显著差异表达性,对于区分 HSCR 组织与正常组织具有较高的灵敏度和特异度,他们还发现 lncRNALOC101926975 及其

与细胞增殖和胚胎发育高度相关的靶基因 *FGF1* 在病变肠管表达下调,该结果可影响肠神经嵴细胞的增殖和细胞周期<sup>[34-35]</sup>。而 Huang 等<sup>[36]</sup>也通过相同方法,确定了 5 个在 HSCR 中显著上调的 circRNAs,并利用这些 circRNAs 构建了一个 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络,该网络揭示了 circRNAs 在 HSCR 中作为靶向 miRNA 和 mRNA 的分子海绵潜在功能。还有学者通过对 HSCR 患儿的血液标本行 miRNA 测序后筛选出 3 个与正常血液标本相比具有差异表达的 miRNA,包括 miR-382 上调、miR-29B2 和 miR-29A 下调,并通过 KEGG 富集分析发现:miR-382 主要富集于 PI3K-Akt 通路,miR-29A 富集于癌症中的蛋白聚糖和 Hippo 信号通路,miR-29B2 则富集于细胞周期通路,这些具有诊断价值的 miRNA 可以作为 HSCR 新的非侵入性诊断标志物<sup>[37]</sup>。上述研究是近年来国内外学者在组织或血液等标本上进行 RNA 测序发现大量与 HSCR 相关的编码 RNA 与非编码 RNA,这些研究对深入阐明 HSCR 的发病机理具有重要作用。而除了疾病机制的研究外,转录组学技术在 HSCR 新的模型构建中也有重要作用。最近有学者通过苯扎氯胺 (Benzalkonium chloride, BAC) 灌肠的方式建立 HSCR 小鼠模型,对 BAC 小鼠和正常小鼠结肠组织进行 RNA 测序分析,并与 HSCR 患儿病变段组织 RNA 测序结果比较,发现 BAC 小鼠和 HSCR 患儿的转录组谱具有相似基因表达<sup>[38]</sup>。结果表明:通过 BAC 灌肠建立的 HSCR 动物模型简单可行,丰富了现有的 HSCR 动物模型,对研究 HSCR 的病理机制和评估新的诊断和治疗方法具有重要作用。而 Kuil 等<sup>[39]</sup>通过对 5dpf 斑马鱼全肠道进行单细胞 RNA 测序,发现了 11 种肠神经系统亚型,并且发现斑马鱼幼鱼具有表达 *her4*、*cx43*、*s100b* 的胶质细胞,说明可以在 5dpf 的斑马鱼幼鱼肠道中检测到以前未被识别的神经元和胶质细胞群,该研究扩展了我们对斑马鱼 ENS 组成和特征的理解,这对研究 ENS 发育失调所致的 HSCR 具有重要意义。从以上研究中可以看出,转录组学在揭示 HSCR 基因表达差异以及疾病模型构建等方面发挥了重要作用,除了对 mRNA 水平的研究已经取得一定进展以外,越来越多学者也注意到非编码 RNA 在 HSCR 中的重要作用,但目前大多数研究主要关注异常转录产物以及转录表达的调控关系,而对其体内外功能的研究报道较少。虽然 RNA 测序技术可筛选出新的差异表达基因和相关分子信号通路,但对这些候选基因(尤其是许

多非编码 RNA)与 HSCR 的具体关联和机制仍不清楚,未来我们需要对这些候选基因进行表达验证及体内外功能验证,梳理清楚相应 RNA 与靶基因之间的调控关系,进一步探究 HSCR 发生、发展的新机制。

### 三、蛋白质组学

蛋白质是直接参与生命活动的生物大分子,蛋白质组学以细胞内全部蛋白质的存在及其活动方式为研究对象,其作为细胞连接基因表达与表型的主要“功能层”<sup>[40]</sup>。由于泛素化、甲基化、磷酸化等翻译后修饰的存在,mRNA 水平并不总是与蛋白表达或活性相对应。而与转录产物相比,蛋白质是直接的功能参与者,所以比起基因组学和转录组学,蛋白质组学在揭示各种生理和病理过程中的关键分子和途径上更具优势,其研究的核心在于蛋白质的分离与鉴定,主要步骤为双向电泳和质谱分析<sup>[41]</sup>。近年来,蛋白质组学主要用于识别可能与 HSCR 相关的蛋白质水平比较表达谱,不少学者利用双向电泳和质谱分析技术分析 HSCR 患者狭窄结肠段组织和正常结肠段组织之间的差异蛋白质组模式。有研究者发现在病变的狭窄组织中大约有 12 种蛋白 (GST、ACTN4、HSP90B1、HSPB1、APOE、PRDX、BMPRI1A、MYLIP、 $\alpha$ -辅肌动蛋白、白蛋白、Hsp27 和 GSK3b) 表达上调,5 种蛋白 (FABP7、TAGLN、原胶原-脯氨酸、Wnt1 和 PRDX3) 表达下调<sup>[42-43]</sup>。有学者通过改进方法后对 HSCR 患者无神经节段和正常后肠组织蛋白质表达差异进行了研究,分析确认了 HSPB1、CNN1、ANXA2 和 ATP5B 等四种调控平滑肌运动的差异蛋白以及 SOX10、纤维蛋白原 (Fn)、FHL1、TAGLN 和 AGR2 等五种 HSCR 病理相关的差异蛋白,这些蛋白的异常可能影响细胞-ECM 附着物组装、细胞增殖和细胞迁移等过程,从而导致 HSCR 等 ENS 疾病<sup>[44]</sup>。以上研究主要的技术缺陷是只能检测到丰度较高的蛋白质,而丰度较低的蛋白质不能被分析到,所以可能无法全面地揭示 HSCR 的发病机制。后来,有学者使用串联质量标记进行基于质谱的蛋白质组学分析,并利用生物信息学分析对不同性别、不同亚型的 HSCR 结肠组织蛋白质组学数据进行分析 and 分类,发现正常肠道组织中蛋白质的丰度和表达模式在不同性别间存在较大差异,ARF4、KIF5B、RAB8A 等三种神经元投射发育相关蛋白在 HSCR 患者狭窄结肠段组织中的表达下调,而男性 L-HSCR 与女性 S-HSCR 具有相似的异常蛋白表达模式(程度),并且



这些差异表达蛋白主要在剪接体(mRNA 剪接)、轴突导向、胞外分泌、胞浆和蛋白结合等方面发挥作用,并且对剪接体、碳代谢、轴突引导、内吞和黏附连接等信号通路有显著影响,这些发现可能为进一步研究人类 ENS 发育的分子机制提供有价值的信息。从以上研究可以看到蛋白质组学除了可以检测 HSCR 患儿与非 HSCR 患儿之间的差异表达蛋白外,对于揭示这些差异蛋白与不同信号通路之间的潜在关联也具有重要作用,但是,这些研究并没有阐明这些分子的功能障碍在 HSCR 中的具体调控机制(如何破坏神经元发射投射、怎样增加 HSCR 的风险等),未来还需深入挖掘。

#### 四、其他组学技术在 HSCR 中的应用

除了上述三大主流组学研究外,HSCR 的表观遗传组学以及代谢组学近年也逐渐成为研究者的关注领域。

表观遗传学是指在不改变 DNA 序列的情况下,通过不同的机制调节基因表达,包括胞嘧啶碱基上的 DNA 甲基化和调控非编码 RNA 表达等方式。近年来表观遗传学在 HSCR 发生机制中的研究也逐渐增多,有学者证实甲基转移酶 3B(*DNMT3B*) 在 HSCR 患者神经嵴细胞中的下调与整体 DNA 甲基化水平的降低有关<sup>[45]</sup>。本团队前期研究也发现,在 HSCR 患儿神经节细胞段肠管中,*MEG3* 启动子甲基化率高于有神经节细胞段肠管,表明 HSCR 中 *MEG3* 表达异常可能源于其启动子甲基化率升高<sup>[46]</sup>。这些研究结果均说明 DNA 甲基化在肠神经系统的发育和 HSCR 发病中起关键作用,而除了 DNA 甲基化以外,在组蛋白修饰以及非编码 RNA 调控等方面也有不少研究。这些研究对构建出 HSCR 中表观遗传调控网络并说明其与遗传学的交叉作用等方面具有重要意义。

代谢组学是一门研究各种代谢物的新兴学科,旨在对生物样品中的所有代谢物进行全面、定量的分析,找出代谢物与生理、病理变化之间的联系。主要方法有气相色谱-质谱和液相色谱-高分辨率串联质谱。目前,环境因素对 HSCR 易感性的影响也成为了研究者们新的研究方向。近年来,先后有人报道代谢酶 *CYP2B6* 以及前列腺素合成酶 *mPG-ES-1* 因为调节肠神经嵴细胞的迁移而与 HSCR 的发病机制有关。还有研究者发现 HSCR 的代谢谱主要与色氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的代谢有关,并且出色氨酸代谢紊乱可能是 HSCR 的一个重要代谢特征。虽然上述

研究都阐述了环境因素对 HSCR 的显著易感性影响,丰富了现有的疾病发生机制学说,但目前 HSCR 的代谢组学研究尚处于较浅层面,未能深入阐明其潜在的机制,未来仍需要继续探索。

综上,当前 HSCR 的研究大多局限于基因、蛋白等单一层面水平,而 HSCR 是一个多组学改变导致的过程复杂、分子网络庞大的疾病,并且没有任何孤立的组学分析可完全阐述 HSCR 病因以及发病机制。因此,在未来的研究中我们不能只停留在单一的组学层面,需要整合多组学数据,对 HSCR 的发病机理、分子机制、因果关系等做出深层次的阐释,为 HSCR 的预防、诊断及治疗提供新的途径。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Nagy N, Goldstein AM. Enteric nervous system development: a crest cell's journey from neural tube to colon[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 66: 94-106. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.01.006.
- [2] Mueller JL, Goldstein AM. The science of Hirschsprung disease: What we know and where we are headed[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2022, 31(2): 151157. DOI: 10.1016/j.sempedsurg.2022.151157.
- [3] Tilghman JM, Ling AY, Turner TN, et al. Molecular genetic anatomy and risk profile of Hirschsprung's disease[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15): 1421-1432. DOI: 10.1056/NEJMoa1706594.
- [4] Karim A, Tang CSM, Tam PKH. The emerging genetic landscape of Hirschsprung disease and its potential clinical applications[J]. *Front Pediatr*, 2021, 9: 638093. DOI: 10.3389/fped.2021.638093.
- [5] Chng SH, Pachnis V. Enteric nervous system: lessons from neurogenesis for reverse engineering and disease modelling and treatment[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2020, 50: 100-106. DOI: 10.1016/j.coph.2020.02.001.
- [6] Stavely R, Bhawe S, Ho WLN, et al. Enteric mesenchymal cells support the growth of postnatal enteric neural stem cells[J]. *Stem Cells*, 2021, 39(9): 1236-1252. DOI: 10.1002/stem.3388.
- [7] 张强, 侯丹杰, 陈广生, 等. Calretinin、S100 免疫组化染色及二者联合检测在新生儿先天性巨结肠诊断中的应用价值研究[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2020, 25(10): 1363-1366. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2020.10.022.  
Zhang Q, Hou DJ, Chen GS, et al. Application of Calretinin, S100 immunohistochemical staining and their combined detection in the diagnosis of Hirschsprung's disease in neonates[J]. *Mod Interv Diagn Treat Gastroenterol*, 2020, 25(10): 1363-1366. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2020.10.022.
- [8] 谢华, 唐维兵. 规范、统一先天性巨结肠分型的建议[J]. *临床小儿外科杂志*, 2021, 20(3): 212-216. DOI: 10.12260/lxewkzz.2021.03.003.  
Xie H, Tang WB. Unifying the classification of Hirschsprung's disease[J]. *J Clin Ped Sur*, 2021, 20(3): 212-216. DOI: 10.12260/lxewkzz.2021.03.003.

- [9] O'Connor LM, O'Connor BA, Lim SB, et al. Integrative multi-omics and systems bioinformatics in translational neuroscience: a data mining perspective [J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13 (8): 836–850. DOI: 10.1016/j.jpha.2023.06.011.
- [10] Klein M, Varga I. Hirschsprung's disease-recent understanding of embryonic aspects, etiopathogenesis and future treatment avenues [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2020, 56 (11): 611. DOI: 10.3390/medicina56110611.
- [11] 王泰垚, 郑丽飞. 先天性巨结肠的易感基因及表观遗传调控的研究进展 [J]. *基础医学与临床*, 2023, 43 (4): 700–705. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.04.0700.
- Wang TY, Zheng LF. Advance in susceptibility genes and epigenetic regulation in Hirschsprung's disease [J]. *Basic Clin Med*, 2023, 43 (4): 700–705. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.04.0700.
- [12] 庞文帅, 马建苏, 刘晓丽, 等. 先天性巨结肠患儿不同肠管中 SOX-2、SOX-10、GDNF 的表达及其临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31 (19): 14–18. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.19.003.
- Pang WS, Ma JS, Liu XL, et al. Expression and significance of SOX-2, SOX-10 and GDNF in different intestines of children with congenital megacolon [J]. *China J Mod Med*, 2021, 31 (19): 14–18. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.19.003.
- [13] 傅润熹, 王阳, 蔡威. DLL3 基因遗传多态性与先天性巨结肠易感性的相关性分析 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2023, 22 (4): 351–355. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202203030-010.
- Fu RX, Wang Y, Cai W. Association study of delta-ligand 3 (DLL3) gene with the susceptibility of Hirschsprung's disease [J]. *J Clin Ped Sur*, 2023, 22 (4): 351–355. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202203030-010.
- [14] Chatterjee S, Karasaki KM, Fries LE, et al. A multi-enhancer RET regulatory code is disrupted in Hirschsprung disease [J]. *Genome Res*, 2021, 31 (12): 2199–2208. DOI: 10.1101/gr.275667.121.
- [15] Villalba-Benito L, Torroglosa A, Luzón-Toro B, et al. ChIP-seq-based approach in mouse enteric precursor cells reveals new potential genes with a role in enteric nervous system development and hirschsprung disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (23): 9061. DOI: 10.3390/ijms21239061.
- [16] Tang CSM, Li P, Lai FPL, et al. Identification of genes associated with Hirschsprung disease, based on whole-genome sequence analysis, and potential effects on enteric nervous system development [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155 (6): 1908–1922. e5. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.09.012.
- [17] Gui HS, Schriemer D, Cheng WW, et al. Whole exome sequencing coupled with unbiased functional analysis reveals new Hirschsprung disease genes [J]. *Genome Biol*, 2017, 18 (1): 48. DOI: 10.1186/s13059-017-1174-6.
- [18] Tang CS, Zhuang XH, Lam WY, et al. Uncovering the genetic lesions underlying the most severe form of Hirschsprung disease by whole-genome sequencing [J]. *Eur J Hum Genet*, 2018, 26 (6): 818–826. DOI: 10.1038/s41431-018-0129-z.
- [19] Le TL, Galmiche L, Levy J, et al. Dysregulation of the NRG1/ERBB pathway causes a developmental disorder with gastrointestinal dysmotility in humans [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131 (6): e145837. DOI: 10.1172/JCI145837.
- [20] Meng XY, Wang J, Zhu TQ, et al. Long-term outcomes of single-incision laparoscopic technique in Soave procedure compared with heart-shaped anastomosis for Hirschsprung disease [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2020, 35 (6): 1049–1054. DOI: 10.1007/s00384-020-03565-3.
- [21] 张文果, 王大佳, 张志波, 等. 第二代测序技术在先天性巨结肠症家系致病基因筛查中的应用 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2018, 39 (6): 434–439. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2018.06.007.
- Zhang WG, Wang DJ, Zhang ZB, et al. Next generation sequencing technology for detecting a new RET gene mutation in two families of Hirschsprung's disease [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2018, 39 (6): 434–439. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2018.06.007.
- [22] 王大佳, 张志波, 白玉作. 巨结肠家系 RET 基因突变功能研究 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2023, 44 (8): 676–682. DOI: 10.3760/cma.j.cn421158-20221107-00670.
- Wang DJ, Zhang ZB, Bai YZ. Functional study of a novel RET mutation in a Hirschsprung disease family [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2023, 44 (8): 676–682. DOI: 10.3760/cma.j.cn421158-20221107-00670.
- [23] 丁辉阳, 雷雯, 许露, 等. 先天性巨结肠家系 EDNRB 基因重复突变 1 例报道并文献复习 [J]. *国际医药卫生导报*, 2023, 29 (17): 2381–2386. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2023.17.004.
- Ding HY, Lei W, Xu L, et al. Identification of a novel heterozygous mutation in EDNRB in a Chinese family with Hirschsprung's disease: one case report with a literature review [J]. *Int Med Health Guid News*, 2023, 29 (17): 2381–2386. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2023.17.004.
- [24] Emison ES, Garcia-Barcelo M, Grice EA, et al. Differential contributions of rare and common, coding and noncoding Ret mutations to multifactorial Hirschsprung disease liability [J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 87 (1): 60–74. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.06.007.
- [25] Wu Q, Zhao JL, Zheng Y, et al. Associations between common genetic variants in microRNAs and Hirschsprung disease susceptibility in Southern Chinese children [J]. *J Gene Med*, 2021, 23 (2): e3301. DOI: 10.1002/jgm.3301.
- [26] Tang CSM, Karim A, Zhong YX, et al. Genetics of Hirschsprung's disease [J]. *Pediatr Surg Int*, 2023, 39 (1): 104. DOI: 10.1007/s00383-022-05358-x.
- [27] Fadista J, Lund M, Skotte L, et al. Genome-wide association study of Hirschsprung disease detects a novel low-frequency variant at the RET locus [J]. *Eur J Hum Genet*, 2018, 26 (4): 561–569. DOI: 10.1038/s41431-017-0053-7.
- [28] Soret R, Schneider S, Bernas G, et al. Glial cell-derived neurotrophic factor induces enteric neurogenesis and improves colon structure and function in mouse models of Hirschsprung disease [J]. *Gastroenterology*, 2020, 159 (5): 1824–1838. e17. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.07.018.
- [29] Watanabe Y, Stanchina L, Lecerc L, et al. Differentiation of mouse enteric nervous system progenitor cells is controlled by endothelin 3 and requires regulation of Ednrb by SOX10 and ZEB2 [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152 (5): 1139–1150. e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.12.034.
- [30] Chatterjee S, Fries LE, Yaacov O, et al. RET enhancer haplotype-dependent remodeling of the human fetal gut development program [J]. *PLoS Genet*, 2023, 19 (11): e1011030. DOI: 10.1371/journal.pgen.1011030.
- [31] 彭雪妮, 沈淳. 先天性巨结肠转录组学研究进展 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2019, 40 (6): 567–573. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2019.06.019.
- Peng XN, Shen C. Research advances in transcriptomics of Hirschsprung's disease [J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2019, 40 (6):

- 567-573. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2019.06.019.
- [32] Yang QW, Wang FW, Wang ZF, et al. mRNA sequencing provides new insights into the pathogenesis of Hirschsprung's disease in mice[J]. *Pediatr Surg Int*, 2023, 39(1):268. DOI:10.1007/s00383-023-05544-5.
- [33] Pan WK, Zhang YF, Yu H, et al. Identifying key genes associated with Hirschsprung's disease based on bioinformatics analysis of RNA-sequencing data[J]. *World J Pediatr*, 2017, 13(3):267-273. DOI:10.1007/s12519-017-0002-0.
- [34] Shen ZY, Peng L, Zhu ZX, et al. Downregulated expression of long non-coding RNA LOC101926975 impairs both cell proliferation and cell cycle and its clinical implication in Hirschsprung disease patients[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(4):292-297. DOI:10.7150/ijms.14187.
- [35] Shen Z, Du C, Zang R, et al. Microarray expression profiling of dysregulated long non-coding RNAs in Hirschsprung's disease reveals their potential role in molecular diagnosis[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(2):266-273. DOI:10.1111/nmo.12722.
- [36] Huang SG, Cheng Y, Li DS, et al. Systematic screen of potential circular RNA biomarkers of Hirschsprung's disease[J]. *Transl Pediatr*, 2022, 11(1):10-19. DOI:10.21037/tp-21-392.
- [37] 张嘉杰, 刘俊, 王建峰, 等. 先天性巨结肠血浆外泌体分子生物学及生物信息分析的初步研究[J]. *中华小儿外科杂志*, 2022, 43(7):651-656. DOI:10.3760/cma.j.cn421158-20220309-00155.
- Zhang JJ, Liu J, Wang JF, et al. Molecular biology and bioinformatics of plasma exosomes in Hirschsprung's disease[J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2022, 43(7):651-656. DOI:10.3760/cma.j.cn421158-20220309-00155.
- [38] Lan CT, Wu YX, Liu YQ, et al. Establishment and identification of an animal model of Hirschsprung disease in suckling mice[J]. *Pediatr Res*, 2023, 94(6):1935-1941. DOI:10.1038/s41390-023-02728-6.
- [39] Kuil LE, Kakaiiatu NJM, Windster JD, et al. Unbiased characterization of the larval zebrafish enteric nervous system at a single cell transcriptomic level[J]. *iScience*, 2023, 26(7):107070. DOI:10.1016/j.isci.2023.107070.
- [40] Haas R, Zelezniak A, Iacovacci J, et al. Designing and interpreting 'multi-omic' experiments that may change our understanding of biology[J]. *Curr Opin Syst Biol*, 2017, 6:37-45. DOI:10.1016/j.coisb.2017.08.009.
- [41] 李林, 邓娜, 张博, 等. 多组学技术及其在食品研究中的应用[J]. *食品与机械*, 2023, 39(2):17-24. DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.80785.
- Li L, Deng N, Zhang B, et al. Advances of multi-omics and its researches in food[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(2):17-24. DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.80785.
- [42] Gao H, He XJ, Wu M, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins between stenotic and normal colon segment tissues derived from patients with Hirschsprung's disease[J]. *Protein J*, 2011, 30(2):138-142. DOI:10.1007/s10930-011-9314-4.
- [43] Gao H, Liu XM, Chen D, et al. Comparative study of Hsp27, GSK3 $\beta$ , Wnt1 and PRDX3 in Hirschsprung's disease[J]. *Int J Exp Pathol*, 2014, 95(3):229-237. DOI:10.1111/iep.12075.
- [44] Fan Y, Wang LL, Zhang Y, et al. Comparative proteomics of Hirschsprung's disease[J]. *J Proteomics*, 2013, 84:176-184. DOI:10.1016/j.jprot.2013.03.024.
- [45] Torroglosa A, Villalba-Benito L, Luzón-Toro B, et al. Epigenetic mechanisms in Hirschsprung disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):3123. DOI:10.3390/ijms2013123.
- [46] 黄露, 刘远梅, 金祝, 等. MEG3 启动子甲基化在先天性巨结肠发病机制中的作用[J]. *中华小儿外科杂志*, 2020, 41(12):1106-1112. DOI:10.3760/cma.j.cn421158-20190827-00520.
- Huang L, Liu YM, Jin Z, et al. Role of MEG3 promoter methylation in the pathogenesis of Hirschsprung's disease[J]. *Chin J Pediatr Surg*, 2020, 41(12):1106-1112. DOI:10.3760/cma.j.cn421158-20190827-00520.

(收稿日期:2023-12-12)

**本文引用格式:** 向路苹, 付豪, 刘远梅. 多组学在先天性巨结肠中的应用及研究进展[J]. *临床小儿外科杂志*, 2024, 23(5):434-439. DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202312028-007.

**Citing this article as:** Xiang LP, Fu H, Liu YM, et al. Applications and research advances of multi-omics for Hirschsprung's disease[J]. *J Clin Ped Sur*, 2024, 23(5):434-439. DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202312028-007.

· 编者·作者·读者·

## 本刊关于工作单位的书写要求

原则上1位作者仅能标注1个单位(著录个人隶属的行政机构,如果作者隶属的行政机构与完成课题选题、研究方案设计、进行研究工作和提供研究条件的机构不一致,或作者隶属不同机构时,以提供研究条件和完成研究工作的机构为作者单位),确需标注多个单位的,需在投稿介绍信加盖所有著录单位的公章(所有公章盖在同一张纸上),且第一作者单位必须为资料来源单位。

中文作者单位著录,在作者署名下方列出作者单位的名称(到科室,单位名称以公章为准)、城市名和邮政编码。如单位名称已体现城市名,邮政编码前仍需标注城市名,无论是否为省会城市或知名城市,城市名称前的省自治区名均可省略。