

·综述·

遗传基因与骨质疏松症

薛延 赵新华 谭辉

骨质疏松症是一种多因素性疾病。主要特征是单位体积骨量减少,骨脆性增加。影响骨量的因素可分为环境因素与遗传因素两种。环境因素包括营养、运动及生活习惯等,是影响骨量的可控因素。近年来,随着分子生物学技术的研究进展,遗传因素对骨量和骨质疏松发病的影响,逐步引起人们的重视。

家族性流行病学调查研究发现:双亲骨折史与子女的骨密度及家庭主要成员骨量之间存在明显相关性,说明正常人群峰值骨量及骨密度受遗传因素调控。国外学者 Johnston 曾指出,人群骨量的差别20%归于环境因素,80%归于遗传因素^[1]。但骨量究竟由哪些遗传基因决定,目前研究尚处于起步阶段。

1 VDR 基因多态性与骨质疏松症

Eisman 等为了探讨遗传因素的影响,着眼于维生素 D 受体(VDR)的等位基因研究,取得了突破性的进展。成骨细胞特异产生的骨钙素是骨形成或骨转换的指标,其基因的启动子内存在维生素 D 的应答成分 $[1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3\text{-responsive element, VDRE}]$ 。VDR 等位基因位于人的第12对染色体,为43.2 kb,由9个外显子构成,其中限制性内切酶 BsmI 与 ApaI 的识别部位位于第8和第9外显子之间的内含子内, TaqI 的识别部位位于第9外显子内。他们应用 Southern blot 法,对由数种限制酶生成的健康成人染色体 DNA 中 VDR 等位基因碱基排列的不同而产生的多态性进行了分析,并探讨了血清骨钙素水平的关系。其结果以 BsmI 表现

的3个 VDR 基因多态性(BB、Bb、bb)和血清骨钙素最为相关。

人的基因(DNA)在细胞核中以染色体的形式存在,并世代相传。表达遗传信息的碱基排列经过长时间会产生各种变化,产生遗传的多样性,这种变异在对个体表现型无影响的内含子部分容易蓄积,大约以250~500个碱基对有一个变异,多态性分析通常使用限制酶片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)法。本法是用限制酶切断 DNA 上特异的碱基排列,以切断后片段长度的多样性来表达。VDR 等位基因能被 BsmI 切断的为隐性,用 b 表示,显性则用 B 表示,各等位基因的组合产生了 BB、Bb 和 bb 三种多态性。同样由 ApaI 产生的多态性为 AA、Aa 和 aa, 由 TaqI 产生的多态性为 TT、Tt 和 tt。

基于 BsmI 的 VDR 基因多态性与血清骨钙素的相关, Morrison 等对成人双生子之间的 VDR 基因多态性与骨密度的关系进行了探讨^[2]。在22对异卵双生子的21对中, BB 型比 Bb 或 bb 型、Bb 型比 bb 型的骨密度显著低下。以上结果揭示,在遗传因素对骨密度的影响中, VDR 基因可能占最大(75%)。

他们采用了较大的样本(311名健康女性,年龄 52.5 ± 13.5 岁)来验证 VDR 基因多态性与骨密度的关系。在 VDR 基因中内含子内存在的 BsmI 识别部位在内的825bp 用 PCR 扩增后,利用 RFLP 法进行了解析,白人女性多态性的频率为 BB 17%, Bb 50%, bb 33%。在对多态性和骨密度的关系进行了分析后,得到了如下令人感兴趣的结果。①女性在绝经前, BB 型比 bb 型的骨密度低约10%。②在成人女性达

到骨折阈的年龄上, BB 型比 bb 型提前 10 年以上。③进而以身长、体重、年龄、绝经后年数、BsmI 的基因型为变量进行了回归分析。

以上结果提示骨密度分别与年龄、基因型、身高、体重及绝经后年数等变量相关, 其中具有 b 基因者的骨密度值较高。从此结果还可以看出, 与股骨颈相比, 腰椎骨密度与基因型的相关更显著。基因多态性与骨密度相关的机理尚未明了, 目前认为可能与 VDR 基因转录和 mRNA 的稳定性有关, 由 BsmI 产生的多态性是在内含子内, 值得注意的是, 上述 RFLP 解析所得到的基因型的不同, 是正常范围内的变动, 并不表示异常或突变。

继 Morrison 的报告之后, 其他国家的学者纷纷进行了研究, 其中 Yamagata^[1]等首先报告了以 102 名日本女性为对象的结果, 基因型的出现频度分别为 BB7%、Bb38%、bb55%, B 基因的出现频度明显低于白人, 但骨密度同样呈现了 BB<Bb<bb 的趋势。其他日本学者也曾报告了类似的结果。揭示了 VDR 基因多态性可能是超越种族之上的影响骨密度的因素。但这种倾向在绝经前女性更为明显, 提示月经对骨密度的影响大于 VDR 基因。

Gross 采用限制性内切酶 FokI 对 109 名墨西哥—美国白人绝经后妇女的 VDR 等位基因进行分析^[4]。结果表明: ff 基因型者(占该人群的 15%)腰椎低 BMD 有 12.8%, 与 FF 基因型者(占该人群的 37%)腰椎 BMD 比较有显著性差异($P<0.01$), Ff 型(占该人群的 48%)腰椎 BMD 居中。经两年追踪观察, ff 型与 FF 型者股骨颈 BMD 分别下降 4.7% 和 0.5%, ff 型股骨 BMD 下降速度明显高于 FF 型($P<0.05$)。但前臂与腰椎 BMD 两型无显著性改变。不同基因型血清 250HD₃、1, 25(OH)₂D₃、PTH、BGP 及尿 PYr 无明显不同。认为 FokI 基因型与腰椎 BMD 的降低有明显相关性, ff 基因型者股骨丢失增加。

Cooper 综合分析了 27 项研究, 他得出的结论是: ①VDR-RFLP 对 BMD 的影响不明显,

大约 VDR 的影响相当于 2~3 年的骨量丢失造成的差异^[5]。②BB 型在白人、黑人和亚洲人中分布的频率分别为 17.2%、4.8% 和 2.3%。③髋部 BMD, BB 型平均低于 bb 型 0.02 g/cm², 腰椎和桡骨远端 BMD, BB 型分别低于 bb 型 0.03 g/cm² 和 0.01 g/cm²。

但是另外一些学者的分析结果否定了上述的结论。Hustmyer 等以美国白人为对象^[6], 对 86 对同卵双生及 39 对异卵双生的成人女性进行了 VDR 基因多态性分析, 同时测定了腰椎、股骨及前臂的骨密度, 发现 BsmI、ApaI 或 TaqI 的任何基因型与骨密度都无相关关系。也就是说, 异卵双生之间骨密度的差异不能用 VDR 基因多态性来解释。瑞典学者 Melhus 对 70 名绝经后骨质疏松症患者及 76 名绝经后骨密度高于骨折的女性进行了 VDR 基因多态性分析后亦未发现基因型与骨密度之间的关系。日本也有骨质疏松症患者和正常小儿中各基因型的分布与骨密度无显著相关的报告。我国学者也有类似的报道^[7]。

上述两种截然相反的结果, 提示骨量不是由单独的基因, 而是由多数的基因组调节的可能性。为得出正确的结论, 必须采用较大的样本量, 对上述基因和其他可能影响骨量的多种基因作出慎重的分析。

2 雌激素受体基因多态性与骨质疏松症

妇女绝经后骨质疏松发病率显著高于男性。我国学者徐尚志报道我国 60 岁以上男性与女性骨质疏松发病率分别为 13.9% 和 58%, 吴青等报道分别为 13.4% 和 41%。女性绝经后雌激素水平降低导致骨丢失加速是发病的主要原因, 其详细机制尚未完全阐明。人类成骨细胞及破骨细胞均存在雌激素受体, 雌激素可与该受体结合直接调节成骨细胞和破骨细胞的功能。如抑制破骨细胞溶酶体酶的活性, 促使成骨细胞产生细胞素、白细胞介素及肿瘤坏死因子等。由此推测雌激素受体基因多态性有可能与女性骨质疏松发病危险性有关, 可能是影响骨量的

遗传因素之一。

1996年日本学者 Kobayashi 分析238例绝经后健康妇女(66.3 ± 0.6 岁)雌激素受体等位基因 PVuII 和 XbaI 限制性酶切片多态性与骨量的关系,发现研究对象腰椎及全身骨密度呈如下趋势:PP<Pp<pp,XX>Xx>xx,单纯 PPxx 型妇女骨密度明显低于其他基因型^[5]。推测雌激素受体基因多态性有可能会影响雌激素受体的表达及功能。这一发现引起了各国学者的广泛关注,在骨质疏松发病遗传因素的研究领域展示了新的角度,又掀起了新的研究热潮。

1997年在美国召开的第十九届骨矿研究会议(ASBMR)上,有十几位学者纷纷报道了有关雌激素受体基因多态性与骨密度及骨质疏松发病关系的研究结果。

美国学者 Nelson 分析了绝经后黑人($n=20$)和白人妇女($n=18$)(38 ± 5 岁)的 ER 基因型和全身 BMD 关系。发现 pp 型个体骨密度较低,而 PPXx、PPxx 及 PpXX 型骨密度较高。其中黑人 55% 有高 BMD-ER 基因型,而白人仅 11% 有,表明 ER 等位基因分布与种族有关,也许这是引起不同种族间骨密度差异的原因之一。

丹麦学者 Langdahl^[9]等对292名椎体骨折的骨质疏松患者和同年龄对照组 ER 基因多态性分析结果表明,两组人群 XbaI 分布相似,而 PVuII 分布两组间差异显著(骨质疏松患者 PP 型 17.7%,Pp 型 37.1%,pp 型 45.2%;对照 PP 型 29.2%,Pp 45.9%,pp 型 24.6%),pp 及 ppxx 基因型在骨质疏松症患者过度表达。

芬兰学者 Mahonen 报告对44名未用 HRT 治疗绝经后妇女(50.5 ± 1.9 岁)测定腰椎(LS)及股骨(FM)BMD 及 ER-RELPs。结果发现:人群 ER-RELPs 分布频率为:PP 型 20.5%,Pp 型 43.2%,pp 型 36.4%,ER-RELPs 多态性与绝经后妇女 LS 及 FM 的 BMD 有明显相关性。但与日本学者 Kobayashi 报道的趋势相反,LS-BMD 和 FM-BMD 的值:基因型 PP>Pp>pp。

意大利学者 Gennari 等测定144名正常绝经后妇女、106名骨量减少者及176名患骨质疏松症患者(平均年龄 57.7 ± 0.4 岁)腰椎和股骨头 BMD 与 VDR-RELPs 及 ER-RELPs 的关系。结果表明 aabbTT 基因型腰椎 BMD (0.87 g/cm^2)明显高于 AABBtt 基因型(0.76 g/cm^2), $P<0.02$,ER 的各种基因型的 BMD 无明显差异,但 PP 基因型 BMD 有高于 pp 型的趋势。两种基因型联合考虑,aabbTT-ppxx 基因型 BMD(0.97 g/cm^2)明显高于 AABBtt-PPXX 基因型(0.71 g/cm^2), $P<0.05$,说明 VD-AABBtt 基因型合并 ER-PPXX 基因型发生骨质疏松的危险性比较高。

非常有意义的是,日本学者 Hosoi^[10]的报道,观察了为期一年的86名绝经后骨质疏松患者与正常对照骨密度的变化,其中26例骨质疏松患者接受一年雌激素治疗(0.3125 mg/d)。发现 ER-pp 型骨密度年变化率为(-1.60 ± 0.67)%,而 ER-PP 型骨密度年变化率为(0.317 ± 0.71)%,两者间差异显著。并且雌激素治疗 ER-Pp 和 pp 基因型患者骨密度显著提高,而 PP 型患者骨密度提高疗效不明显,这可能与上述两者骨密度年变化率不同有关。提示我们对女性绝经后骨质疏松症的治疗,雌激素疗法并不是对每位患者都有效,疗效与雌激素基因型有关。

上述研究对象都是绝经后妇女,美国学者 Sowers 观察了356名绝经前及围绝经期妇女腰椎及全身 BMD 与 ER-RELPs 的关系。发现雌激素受体 XbaI 与 PVuII 基因型皆与骨密度明显相关($P<0.01$),说明 ER 基因型与女性峰值骨密度及绝经前后骨密度的维持有关。

但也有一些相反意见的报道。韩国学者 Kohan 的报告研究对象为绝经前健康妇女($n=99$,年龄 28.6 ± 0.8 岁)与绝经后女性骨质疏松患者($n=134$,年龄为60~69岁),发现骨代谢生化指标,股骨及腰椎 BMD 与 ER 等位基因之间皆无明显相关性。英国学者 Keen 对129名绝经前的妇女(年龄为 47.3 ± 2.1 岁)和

104名绝经后妇女(绝经5年之内,年龄为53.3±3.5岁)的腰椎和股骨BMD经追踪4年观察,未见ER—PvuII与BMD有明显的相关性。丹麦学者Jorgensen同样发现绝经后妇女不同ER基因型股骨骨密度无明显差异。另外日本学者Tokita未发现绝经前女性ER基因型与骨密度有相关关系^[11]。

综上所述,近两年雌激素受体基因与骨质疏松发病关系的研究尚处于起步阶段,大部分研究对象为绝经后妇女,极少数研究对象为绝经前妇女。研究结果存在两种截然相反的意见,这可能与样本量的大小及研究对象的选取有关。阳性报道的研究基本认为ER—PvuII基因型与骨密度有关,骨密度值ER基因型PP>Pp>pp,pp基因型在骨质疏松患者过度表达,并且发现雌激素受体等位基因的人群分布有种族差异性。我国目前这方面的研究尚属空白,急需开展一些研究工作。

原发性骨质疏松症预防重于治疗。遗传因素的研究将为从遗传角度早期筛查骨质疏松的高危人群,及在临床进行基因诊断和治疗提供必要的理论依据。

3 其他基因

I型胶原的基因突变引起的骨形成不全曾有许多报告。最近有报告指出,在轻度骨形成不全的患者,此基因的突变与骨质疏松的早期发病有关。此外,TGF- β 基因异常在骨质疏松患者的低骨密度组多见,以及I型胶原的基因多形性与骨质疏松的发病有关亦有报告。

Tomout等最近对青春前期墨西哥—美国女孩($n=109$)进行的股骨BMD与VDR I型胶原(CoILAI)基因多态性的研究^[12]。结果表明:VDR的aa和bb基因型比AA和BB基因型女孩股骨皮质BMD要高3%,松质骨BMD要高8%~10%。同时发现股骨松质骨BMD与I型胶原(CoILAI)基因多态性之间有关联。Ss和ss基因型女孩腰椎松质骨BMD比SS基因型分别低6.7%和49.4%。但股骨皮质骨与

CoILAI基因型之间无关联。而VDR及CoILAI基因型对骨量的大小无影响。

Cauley等研究了载脂蛋白等位基因与骨质疏松性骨折患者骨量丢失率之间的相关关系^[13]。他们对1750名脆性骨折妇女(平均年龄71岁)进行了7.7年随访,共计发生临床骨折466次,其中髌部骨折60次,腰椎骨折62次,腕部骨折85次。载脂蛋白等位基因(APOE)的分布频率为:APOE2为8.3%,APOE3O为83.1%,APOE4为8.6%。其中有APOE4基因型的有271人,无APOE4有1479人。有APOE4者每年总髌骨和股骨颈骨量丢失率(分别为-0.46%和-0.76%)明显高于无APOE4者(分别为-0.17%和-0.42%)。髌部和腕部骨折相对危险度(95%可信限)在有APOE4者分别为1.99(1.12~3.56)和1.76(1.06~2.91),而腰椎骨折为1.22(6.62~2.36),其他临床骨折为1.06(0.82~1.36)。因此他们认为APOE4可能成为骨质疏松发病重要的遗传基因。

此外Marry等报道153名英国绝经后妇女F/F纯合子IL-6基因型者腰椎BMD明显低于C/F杂合子基因型者。

原发性骨质疏松症预防重于治疗,其病因是多样化的,由年龄、遗传和环境等因素所决定。从遗传因子的角度来说,即使证明B基因或I型胶原基因或其他基因是引起本病的原因,这些基因诊断的变异或异常也不一定意味着是本病的发病原因。但作为发病危险因素之一,将对本病的预防和治疗具有重要价值,尽管骨质疏松症的基因诊断还刚刚开始,今后需要研究解决的问题还很多,包括与骨质疏松发病有关基因的临床意义(如:不同种族的差异、男女的差异、妇女绝经前后的差异、骨质疏松与非骨质疏松者之间的差异,对不同部位骨密度有哪些调控基因等),作用机制(通过什么途径,哪些环节和因素发生作用)以及各种基因和环境因素之间的相互作用等^[14],只有这样才能使骨质疏松的基因诊断真正成为可能,并应用于指导骨质疏松的预防和治疗。

参 考 文 献

- 1 Johnston CC, Miller JZ, Shemenda CW, et al. Calcium supplementation and increase in bone mineral density in children. *N Engl J Med*, 1992, 327:82.
- 2 Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, et al. Contribution of transacting factor alleles to normal physical variability: vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6665.
- 3 Yamagata Z, Miyamura T, Iijima S, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese woman. *Lancet*, 1994, 344:1027.
- 4 Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, et al. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women.
- 5 Cooper GS, Umbach DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? a meta-analysis. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(12):1841.
- 6 Hustmyer FG, Peacock M, Huis, et al. Bone mineral density in relation to polymorphisms at the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest*, 1994, 94:2130.
- 7 赵金秀,周学赢,刘国仰,等.北京地区汉族人维生素D受体基因多态性分布. *中国医学科学院学报*, 1997, 19(1): 18.
- 8 Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen gene. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(3):306.
- 9 Langdahl BL, Lokke E, Carstens M, et al. Polymorphisms in the estrogen receptor gene show different distribution in osteoporotic patients and normal controls. *J Bone Miner Res*, 1997, 12(suppl 1):F581.
- 10 Hosoi T, Hoshino S, Miyao M, et al. Association of estrogen receptor gene polymorphism and bone loss, response to hormone replacement therapy, and body composition in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 1997, 12(suppl 1):T533.
- 11 Tokita A, Miura Y, Tawa T, et al. Estrogen receptor gene RFLP and peak bone density in Japanese. *J Bone Miner Res*, 1996, 12(suppl 1):T534.
- 12 Tomout JMV, Samz J, Gilsanz V. Towards a multigenetic predicting model for bone density in healthy, prepubertal girls. *J Bone Miner Res*, 1997, 12(suppl 1):S557.
- 13 Cauley JA, Zmuda TM, Yaffa K. Allelic variation at APOE ϵ 4 allele gene locus is associated with hip bone loss and fracture. *J Bone Miner Res*, 1997, 12(suppl 1): P293.
- 14 Burshell AL, Smith SR. Familial osteoporosis. In Marcus R, et al. *Osteoporosis*. London: Academic Press, 1996. 821-832.

(上接第33页)

3.4 骨折类别和骨折数量的关系:各类骨折中以近关节部发病率居多,约占全部骨折的63.97%。尺桡骨远端骨折、足部骨折含踝关节、股骨胫骨折、股骨粗隆间骨折、髌骨骨折、椎体骨折以及肩部骨折依次排在骨折前列。这是因为由于以上部位多为松质骨,坚固性差,同时还因为年龄的增长使这些部位骨量的丢失较密质骨骨量的丢失大而快,此外年龄增长自身肌肉收缩力量的减少将导致骨髓纵向应力的减少,从而使骨小梁数量和质量,骨骼的坚固性同步降低,提高了骨折的危险度。所以建议老年人沿

骨小梁的排列方向,进行有效的力量训练有助于增加骨小梁数量及改善骨小梁的有序排列,达到延缓骨矿丢失和防止骨显微结构的异常改变。

3.5 股骨粗隆间的骨折与股骨颈骨折数量在性别上出现相反倾向:这能否说明股骨粗隆部骨矿含量和骨显微结构的改变男性更为显著,而股骨颈处的表现却以女性突出。这组数字虽然得到统计学支持但结论能否得到病理学上生物力学的支持有待进一步研究。