

骨质疏松相关基因研究进展

杨舒欣 陈隽

骨质疏松症 (OP) 是多种因素导致的复杂疾病, 它的发生与峰值骨量高低和骨量丢失速度密切相关, 而遗传与环境因素参与了峰值骨量的达到、维持以及骨量丢失的调节。研究证实, 遗传因素可解释 60%~80% 骨密度 (BMD) 的变化。近年来, 对导致 OP 相关基因的研究成为热点, 目前已对约 60 种与骨代谢有关的基因及其多态性与骨质疏松表型的关系进行了研究。这些候选基因中, VDR、ER、COL1A1、白介素家族 (IL-1ra, 6, 11)、胰岛素样生长因子 IGF-1、骨钙素、降钙素及其受体、TNF α 等基因的研究报道较多, 本文对另几个候选基因的研究现状作一综述。

1 ApoE 基因

载脂蛋白 E (Apolipoprotein E, ApoE) 作为一种糖蛋白, 其主要功能为清除血浆中的脂蛋白, 尤其是乳糜微粒。乳糜微粒是维生素 K 的主要转运蛋白, 维生素 K 是骨钙素基因翻译后羧化所必需, 而高比例的羧化骨钙素和 BMD 呈负相关。ApoE 基因包括 3 个等位基因 (ApoE2, 3, 4)。Salamone 等^[1]报道, 在白种人中 3 种基因型频率分别为 0.083、0.775 和 0.142, 且受雌激素影响; 其中 ApoE4 清除乳糜微粒残体最快; 研究表明, 未羧化骨钙素比例与 ApoE4 呈相关性, 因此 ApoE4 基因与骨质疏松关系密切, ApoE4 可能通过维生素 K 的活性和骨钙素的羧化间接影响 BMD。Sennels 等^[2]对丹麦绝经后的 73 名前臂骨折, 43 名髌骨骨折病人和 211 名同龄匹配对照研究中, 以 PCR-RFLP 检测其 ApoE 基因多态性, 发现 ApoE4 基因与前臂和髌骨 BMD 呈显著负相关, 其表达是骨折的高危因素。在对美国 392 例绝经前、绝经期、绝经后健康白人妇女的调查中还发现^[1], 在绝经期和绝经后,

携带 ApoE4 等位基因的妇女, 椎骨骨量丢失比没有携带 ApoE4 等位基因的妇女明显要快。同样接受小剂量雌激素替代治疗 (HRT) 的妇女中, 携带 ApoE4 等位基因的椎骨骨量丢失率比没有携带 ApoE4 等位基因高两倍。Pluijm 等^[3]对荷兰 1406 名年龄大于 65 岁的老年人群进行调查后发现, 女性携带 ApoE4 等位基因者全身骨矿含量、股骨颈 BMD 更低, 脊柱变形风险增加; 而男性则与年龄有更大的关系, 只有 65~69 岁年龄组携带 ApoE4 等位基因的男性与低骨量有关。Cauley 等^[4]也发现携带 ApoE4 等位基因的妇女髌骨和桡骨的骨折风险增加。但也有学者认为, ApoE 基因与老年人群的 BMD、骨量丢失及骨质疏松性骨折并无相关性^[5]。

2 TGF- β 基因

目前, 对各种骨细胞功能具调节作用的细胞因子基因多态性日益受到重视, 其中备受关注的是转化生长因子 β 1 (Transforming Growth Factor β 1, TGF- β 1) 基因。TGF- β 1 是骨基质中含量最多的细胞因子, 可促进成骨细胞增殖分化, 抑制破骨细胞成熟, 并促使成熟的破骨细胞凋亡; 其基因由 7 个外显子和 6 个内含子组成。自 1998 年 Yamada 报道 TGF- β 1 基因信号序列区存在 T/C 多态性并与 BMD 相关以来, 研究人员在不同国家和地区对该基因多态性进行了研究。TGF- β 1 基因第 29 位核苷酸存在 T₂₉→C 转换, 该转换导致第 10 位氨基酸由亮氨酸转变为脯氨酸 (Leu→Pro), CC 基因型的腰椎骨密度明显高于 TT 和 TC 型, 其骨折率也低于 TT 和 TC 型, 并且 CC 基因型血清中 TGF 水平也较高。Yamada 等^[6]还发现第 869 位核苷酸同样存在 T₈₆₉→C 转换多态性, CC 基因型的绝经后妇女腰椎骨密度较高, 骨折风险减低。但 Hinke 等^[7]的报道完全相反, 他们在对 102 名绝经后日本妇女的 T₂₉→C 多态性研究后发现 TT 基因型的腰椎、股骨颈骨密度高于 CC 型约 10%, 全髌骨量丢失更少, 且血清中 TGF 水平也较 CC 型高。Lei 等^[8]对

作者单位: 400010 重庆医科大学附属第二临床学院内分泌科

通讯作者: 杨舒欣, Email: yangyuxin@sina.com

Tel: 023-66818031

124 例国人的研究中也并未发现 TGF- β 1 与骨密度有相关性。一项对丹麦妇女进行的研究发现^[9], TGF- β 1 基因第 4 个内含子序列缺失一个碱基 C (713-8delC) 变异在骨质疏松病人中多见, 与骨质疏松病人低骨量及正常人和骨质疏松症妇女高骨转换有关。Bertoldo 等^[10]也发现 713-8delC 变异可导致意大利绝经后妇女髌骨 BMD 降低, 提高骨转换使脆性骨折的发生率增加。

另有学者研究了 TGF- β 2 对骨转换的影响。成骨细胞中 TGF- β 2 的表达增加了导致骨质疏松症样表型。TGF- β 2 作为骨转换的局部调节因子, 可能与骨质疏松症等骨代谢性疾病的发生有关, 但尚需进一步研究证实。

3 CaSR 基因

钙受体 (Calcium-sensing Receptor, CaSR) 因存在 “A986S” 多态性, Eckstein 等^[11]在以色列绝经前妇女中发现低 BMD 的妇女其基因型主要表现为 “A986S” 多态性杂合子, “A986S” 多态性纯合子和杂合子在 BMD 上差异显著。但 Bollerslev 等^[12]在澳大利亚的一项大型队列研究中, 并未发现绝经后妇女 “A986S” 多态性与 BMD 具有相关性, 也无法预测血钙水平、骨密度和骨折率。部分研究认为 CaSR 基因 “A986S” 多态性与年轻女性循环中 Ca 离子水平、峰值骨量有关。Young 等^[13]在新西兰的一项随机、双盲和安慰剂对照试验中发现, 青年女性和绝经前女性 CaSR 基因 “A986S” 多态性与 BMD 相关, 但在绝经后女性这种相关性并不存在。而在匈牙利的一项试验中, 该基因 “A986S” 多态性在青年女性和绝经后女性中均与血钙水平和 BMD 无相关性^[14]。CaSR 基因存在明显的种族差异性, 一项在中国人和高加索人种中进行的大规模抽样调查中, 在多个候选基因中, CaSR-BsaHI 的多态性发生频率在高加索人种中显著高于中国人^[15]。

4 OPG 基因

护骨素 (Osteoprotegerin, OPG) 由成骨细胞分泌, 它能竞争性的与破骨细胞分化因子相结合, 抑制破骨细胞的成熟发育, 抑制骨转换。已发现 OPG 基因敲除大鼠会出现早期骨质疏松、多发性骨折, 给大鼠注射重组 OPG 蛋白可使其骨量增加, 故 OPG 被认为是调节骨量的一个候选基因。研究

发现 OPG 基因启动子区多处存在单核苷酸多态性, 如 245T-G、950T-C、290G-A、1181G-C 等, 其中 950T-C 突变位点产生 HinCII 酶切位点研究较多。Langdahl 等^[16]对 322 名 OP 患者和 364 名健康人 950T-C 基因多态性对照分析表明, CC 型腰椎部位 BMD 较 TT 型高, 但未证实其多态性是骨折的危险因子。Chung 等^[17]对 133 名绝经后妇女进行研究发现, CC 型较 TT 型尿钙排泄率高。但 Arko 等^[18]在对 103 名高加索绝经时间超过 6 年的妇女的调查中未发现 950T-C 多态性与腰椎和股骨颈 BMD 有相关性。程群等^[19]也未发现华人汉族绝经后妇女的腰椎和股骨颈 BMD 在各 OPG 基因型间有差别, 但按年龄分组后 <65 岁组 CC 型 BMD 明显高于 TT 型, BMD 表现出 CC>TC>TT 的趋势; 但年龄 $\geq$ 65 岁组, 则无此差别。由此可推断, OPG 基因多态性对骨密度的影响与骨转换状态有关, <65 岁组绝经后妇女属于高转换型骨质疏松, OPG 抑制骨转换的作用较明显; 而 $\geq$ 65 岁组更接近于老年性骨质疏松, 属低转换型骨质疏松, OPG 分泌减弱对骨量影响减少。证明 OPG 基因可能是高转换性骨丢失中起作用的基因。同样, OPG 基因多态性分布频率存在种族差异。与高加索人种比较, 华人妇女等位基因 T 频率增加, C 频率减少, 突变率降低。

5 LRP5 基因

将决定高或低的骨密度的遗传位点定位于染色体 11q11-13 同一区域是骨质疏松研究的突破性进展, 其中低密度脂蛋白受体相关蛋白 (LDL Receptor-related Protein 5, LRP5) 基因定位于 D11S1296 和 D11S4136 区间^[20], 长 1.3kb, 编码一胞膜受体, 该受体含 4 个表皮生长因子 (EGF) 重复序列和 3 个 LDL 受体, 现已发现 LRP5 基因功能缺失性突变将导致骨质疏松-假性神经胶质瘤综合征 (OPS), 是一种常染色体隐性遗传性疾病, 表现为先天性早盲及幼年时期出现的骨质疏松症、假性胶质瘤、肌张力减退、轻度精神发育迟缓等^[21,22]。LRP5 基因发生突变的小鼠可发生骨质疏松和眼疾病。体外试验表明, LRP5 是参与 Wnt 信号转导和骨形成的共同受体, 表达 LRP5G171V 突变基因的转基因小鼠骨皮质和骨小梁体积及厚度明显增加, 骨细胞内碱性磷酸酶 (BALP) 也增高, 而破骨细胞数量无变化, 敲除 LRP5 基因的小鼠则呈低骨量表型^[23]。Boyden 等^[24]在一个家系研究发现, 该家系许多成

员的骨骼密度高于正常,而具有这种特质的家庭成员其 LRP5 基因的 DNA 序列有所变化。多数的研究都证实了 LRP5 基因在成骨细胞功能上的作用,但 Deng 在家系研究中却未发现 LRP5 基因所属区域与 BMD 有关。目前已知的 LRP5 突变均与系统性疾病有关,而它在调节普通人群的骨密度中是否具有重要作用尚需进一步证实。LRP5 和 Wnt 信号通路在骨形成中作用的研究最大意义在于,它提示可能开发出一类新的药物通过增加骨形成来防治骨质疏松。

此外,有报道隐性遗传性骨质疏松症的遗传位点位于染色体区 11q12,与 TCIRG1 基因相关,显性遗传性骨质疏松症的遗传位点位于染色体区 16q13,与 CLCN7 基因相关。LDL、脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL)、CBF α 1、Cbf α 1 等基因也都有报道与骨质疏松相关。

需要注意的是,多种基因参与调节骨代谢的不同环节,基因-基因之间相互协同,以及环境因素对骨质疏松表型的影响给骨质疏松症基因的研究带来了一定的困难,以致不同国家、地区的研究差异显著。许多基因的功能还存在争议,但可以肯定,通过有关基因及其多态性的研究,发现与骨质疏松的发生密切相关的基因可揭示骨质疏松的遗传基础,提供临床筛选早期骨质疏松或骨折高危人群的遗传学证据,利于及早的预防和治疗骨质疏松症。

【参 考 文 献】

- [1] Salamone LM, Cauley JA, Zmuda J, et al. Apolipoprotein E gene polymorphism and bone loss: estrogen status modifies the influence of apolipoprotein E on bone loss. *Bone Miner Res*, 2000, 15: 308-314.
- [2] Sennels HP, Sand JC, Madsen B, et al. Association between polymorphisms of apolipoprotein E, bone mineral density of the lower forearm, quantitative ultrasound of the calcaneus and osteoporotic fractures in postmenopausal women with hip or lower forearm fracture. *Scand J Clin Lab Invest*, 2003, 63: 247-258.
- [3] Pluijm SM, Dik MG, Jonker C, et al. Effects of gender and age on the association of apolipoprotein E epsilon4 with bone mineral density, bone turnover and the risk of fractures in older people. *Osteoporos Int*, 2002, 13: 701-709.
- [4] Cauley JA, Zmuda JM, Yaffe K, et al. Apolipoprotein E polymorphism: A new genetic marker of hip fracture risk—the study of osteoporosis fractures. *Bone Miner Res*, 1999, 14: 1175-1181.
- [5] von-Muhlen DG, Barrigt-Connor E, Schneider DL, et al. Osteoporosis and apolipoprotein E genotype in older adults: the Rancho Bernardo study. *osteoporos Int*, 2001, 12: 332-335.
- [6] Yamada Y, Harada A, Hosoi T, et al. Association of transforming growth factor beta1 genotype with therapeutic response to active vitamin D for postmenopausal osteoporosis. *Bone Miner Res*, 2000, 15: 415-420.
- [7] Hinke V, Seck T, Claret C, et al. Association of transforming growth factor beta1 (TGF beta1) T29→C gene polymorphism with bone mineral density (BMD), changes in BMD, and serum concentrations of TGF-beta1 in a population-based sample of postmenopausal German women. *Calcif Tissue Int*, 2001, 69: 315-320.
- [8] Lei SF, Deng FY, Liu XH, et al. Polymorphisms of four bone mineral density candidate genes in Chinese populations and comparison with other populations of different ethnicity. *J Bone Miner Metab*, 2003, 21: 34-42.
- [9] Langdahl BL, Knudsen JY, Jensen HK, et al. A sequence variation: 713-8delC in the transforming TGF-beta-1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone*, 1997, 20: 289-294.
- [10] Bertoldo F, Dagruma L, Furlan F, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphism, bone turnover, and bone mass in Italian postmenopausal women. *Bone Miner Res*, 2000, 15: 634-639.
- [11] Eckstein M, Vered I, Ish-Shalom S, et al. Vitamin D and calcium-sensing receptor genotypes in men and premenopausal women with low bone mineral density. *Isr Med Assoc J*, 2002, 4: 340-344.
- [12] Bollerslev J, Wilson SG, Dick IM, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism A986S does not predict serum calcium level, bone mineral density, calcaneal ultrasound indices, or fracture rate in a large cohort of elderly women. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74: 12-17.
- [13] Young R, Wu F, Van de Water N, et al. Calcium sensing receptor gene A986S polymorphism and responsiveness to calcium supplementation in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88: 697-700.
- [14] Takacs I, Speer G, Bajnok E, et al. Lack of association between calcium-sensing receptor gene "A986S" polymorphism and bone mineral density in Hungarian postmenopausal women. *Bone*, 2002, 30: 849-852.
- [15] Dvornyk V, Liu XH, Shen H, et al. Differentiation of Caucasians and Chinese at bone mass candidate genes: implication for ethnic difference of bone mass. *Ann Hum Genet*, 2003, 67 (Pt3): 216-227.
- [16] Langdahl BL, Carstens M, Stenckjar L, et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene and osteoporotic fractures and bone mass. *J Bone Miner Res*, 2000, 15 (Suppl 1): F159.

Choy 等^[13]利用 pQCT 检测四肢外周血管的钙化情况以及研究它与 BMD 的关系。结果表明, 外周血管钙化可能是引起骨质疏松症的一个危险因素。

5 结论

冠心病和骨质疏松的发病可能有相互影响。低骨量和骨质疏松与动脉硬化、血管钙化、血脂异常具有相关性。脂类氧化产物促进了动脉粥样硬化的形成也抑制了成骨细胞的分化。他汀类降脂药不仅可以降低血脂、减轻动脉硬化还可以促进骨形成降低骨质疏松性骨折的发病率。治疗骨质疏松的双膦酸盐具有降低血脂抑制动脉硬化进展的作用。可以看出冠心病和骨质疏松的发生具有一定的相关性, 二者相关性详细内容还需进一步的研究。

【参 考 文 献】

- [1] Nawroth P, Pirzer R, Fohr B, et al. Osteoporosis and cardiovascular disease—two sides of the same coin? *Med Klin (Munich)*, 2003, 98: 437-446.
- [2] Luegmayr E, Glantschnig H, Wesolowski GA, et al. Osteoclast formation, survival and morphology are highly depend on exogenous cholesterol lipoproteins. *Cell Death Differentiation* advance onlinePublication, 12 March 2004, doi: 10.1038/sj.cdd.4401399 (Epub ahead of print)
- [3] Samelson EJ, Cupple LA, Harman MT, et al. Long-term effects of serum cholesterol on bone mineral density in women. *Bone*, 2004, 34: 557-561.
- [4] Stulc T, Ceska R, Horinek A, et al. Hyperlipoproteinemia, the Apo-E genotype and bone density. *Cas Lek Cesk*, 2000, 139: 267-271.
- [5] Schlienger RG, Meier CR. HMG-CoA reductase inhibitors in osteoporosis: do they reduce the risk of fracture? *Drugs Aging*, 2003, 20: 321-336.
- [6] Farhad Parhami, Alan Garfinkel, Linda L Demer. Role of Lipids in Osteoporosis. *Arteriosclerosis Thrombosis and vascular Biology*, 2000, 20: 2346-2346.
- [7] 林华, 包丽华, 韩祖斌, 等. 双膦酸盐类药物治疗骨质疏松症. *中国骨质疏松杂志*, 2004, 10: 77-79.
- [8] Ylitalo R. Bisphosphonates and atherosclerosis. *Gen Pharmacol*, 2000, 35: 278-296.
- [9] Ylitalo R, Syvala H, Tuohimaa P, et al. Suppression of immunoreactive macrophage in atheromatous lesions of rabbits by clodronate. *Pharmacol Toxicol*, 2002, 90: 139-143.
- [10] Reszka AA, Rodan GA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Rheumatol Rep*, 2003, 5: 65-74.
- [11] Dombrecht EJ, Cos P, Vanden Berghe D. Selective *in vitro* antioxidant properties of bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 314: 675-680.
- [12] Cherida R, Dhore, Jack P. M., et al. Differential expression of bone matrix regulatory protein in human atherosclerotic plaques. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2001, 21: 1998-1998.
- [13] Choy WY, Qin L, Hung VWY, et al. 外周血管钙化是一个引起骨质疏松症的危险因素. 2004 年国际骨质疏松大会会刊, 北京: 85-85.

(收稿日期: 2004-08-01)