

遗传决定骨量

梁颖 综述 刘忠厚 审校

骨质疏松是以骨量减少,骨微结构改变,骨脆性增加易发生骨折为特征的疾病。骨量主要受两方面影响:获得的峰值骨量和随年龄增长发生的骨丢失。骨质疏松的发生与峰值骨量的高低和骨丢失的速率密切相关。双生子和家系的研究都有力地证明了遗传因素对骨量的影响。澳大利亚 Pocock 等^[1]报道,在单卵双生子间 BMD 的相关系数为 0.71~0.92,而双卵双生子间 BMD 的相关系数为 0.33~0.50。双生子研究结果显示^[2-4]峰值骨量(PBM)的 60%~80%是由遗传因素所决定的。腰椎和髌部的 Ward's 三角区部位的 BMD 受遗传因素影响最大,遗传力在 0.7~0.8 之间。家系的研究中,峰值骨量受遗传因素的控制。Evans 等用 QCT 作定量研究发现在骨质疏松患者的健康青年家属中,BMD 明显较没有家族史的青年人低,腰椎骨量减少 70%~75%。骨质疏松患者绝经前的女儿和没有骨质疏松病史的女儿相比较,前者的腰椎和股骨的 BMD 值均低于后者。Krall 等估测家系对 BMD 的影响为 46%~62%。以上说明,遗传因素对骨量起决定因素。但不能排除环境因素营养,运动,生活方式,饮食习惯等的影响,遗传因素占 80%,大约 20%或更多的影响来源于环境因素。环境因素也是决定骨量不可忽视的一个重要因素。

近年来,对于骨质疏松遗传基因的研究已经成为骨质疏松病因学研究的热点。

表 1 骨质疏松可能的候选基因^[5]

细胞粘着分子和配体(如,粘素分子)
骨基质蛋白 胶原非-胶原
亲钙激素和它的受体
降钙素和降钙素受体
VitD 和 VitD 受体
PTH 和 PTH 受体
钙感受受体弯曲力学、生长因子和它的受体(IL-6, IL-1, IGF-I 等)、酶的代谢途径
性激素和它的受体
雄激素和雄激素受体
雌激素和雌激素受体

1 VitD 受体 (Vitamin D receptor, VDR) 基因

VDR (Vitamin D receptor, VDR) 是一种核内受体,编码基因位于第 12 号染色体上(12q134),长 43kb,由 9 个外显子组成。VDR 基因具有多态性,多态性分析通常使用限制酶片段长度多态性(restriction fragment length poly-morphism, 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。根据对应内切酶 Bsm I、Apa I、Taq I 和 Fok I 不同,分为多个多态位点进行研究。一般用 b、a、t、f 表示存在这 4 种内切酶的多态性位点,用 B、A、T、F 表示缺乏这 4 种内切酶的一个变异。Morrison 等根据对双胞胎和家系的研究认为,在基因对峰值骨量影响中 75%与 VDR 基因多态性有关。对于内切酶 BsmI 的研究表明,B/b 基因型在不同人种及同一人种的不同地域的出现频率有差异。综合多位学者对于亚洲黄种人日本,朝鲜和中国,以及白种人美国,澳大利亚,法国,荷兰的研究,B/b 基因型的频率分布见表 2^[6]。

表 2 基因型频率分布

基因型	日本	朝鲜	中国	澳大利亚	美国	法国	荷兰
B 型	12	8	4	41	40	45	41
b 型	88	92	96	59	60	55	59

由表可见,黄种人和白种人的 B 基因型分布有很大差异,黄种人的 B 基因出现频率明显低于白种人。BB 型和 Bb 型在多项研究中表明与低骨量有关,Morrison 等曾研究发现 BB 型个体不仅骨密度低且会更早地发生腰椎和髌部骨折,有 bb 型的骨折发生率比 BB 型低大约 4 倍。Gross 采用限制性内切酶 Fok I 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,结果表明:ff 基因型者占 15%,FF 基因型者占 37%,Ff 型占 48%。腰椎 BMD ff 型 < Ff 型 < FF 型。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。Fok I 基

作者单位:100026 北京,首都医科大学附属北京妇产医院妇幼保健院放射科

通讯作者:梁颖, l-ying@vip.sina.com

因型与腰椎 BMD 的降低有明显相关性, ff 基因型者股骨骨丢失增加。Gennari 等^[7]对 400 名意大利籍绝经后妇女进行研究, 发现在 Fok I 多态性与腰椎 BMD 之间存在弱相关性, 但与股骨颈 BMD 无关。Locotte 等对 124 名绝经后骨质疏松法国妇女 (45~90 岁) 进行研究, 发现低于 75 岁的患者 (98 例) ff 基因型携带者 (占样本的 10%) 比 FF 和 Ff 型具有明显低的股骨颈 BMD。他认为 VDR 基因的 ff 基因型与法国绝经后妇女股骨颈低 BMD 相关。黄琪仁等^[8]对上海 388 例健康汉族男性 VDR 基因 ApaI 多态性分析, 基因型频率分布为 aa 48.1%, Aa 44.2%, AA 7.7%。60 岁以上年龄组中, 与腰椎和股骨颈的 BMD 均相关。60 岁以下组缺乏相关性。

但与此同时, 与以上结论相反的研究也有, 如中国南方 30~40 岁的年轻妇女中未发现 VDR 基因与骨量峰值的关系^[9]。在丹麦^[10]的白种围绝经期妇女中, 也没有发现 VDR 基因型同腰椎或股骨骨密度、骨丢失速度以及骨生化指标之间的关系。两个挪威小组分别研究了年轻人的峰值骨密度和中老年妇女骨丢失的情况, 均未发现与 VDR 基因型有任何联系; 法国的 Ganero 研究了 268 例绝经后 1~26 年妇女的脊椎、髓骨、前臂骨及全身的 BMD 的变化情况后认为, 绝经早期和晚期妇女的骨丢失均与 VDR 多态性无关; 美国的 Hustymer 等在双胞胎和非双胞胎人群中均未发现 BMD 与 VDR 多态的联系。台北^[11]155 例男性和 113 例女性的研究, 没有发现 VDR 基因多态性与骨代谢指标有关联。但除了上述两种观点外, Houston 等在苏格兰东北部的研究确实发现骨质疏松与 VDR 基因有相关性, 认为 bb 型个体股骨颈骨密度低于 BB 型 0.79s。

上述三种不同的结论: (1) VDR 基因与骨质疏松的发生密切相关。BB 基因型与低骨密度的发生有关, 在各人种中的总趋势为 BB<Bb<bb; (2) BB 基因型反之与高骨密度有关; (3) VDR 基因型多态性与峰值骨量及骨丢失无明显相关性。产生以上结论说明了骨质疏松的发生是多个基因相互、共同作用的结果。VDR 基因多态性在人种, 种族和地理群落间存在的差异, 除外由于环境因素的影响 (如不同人群对钙摄入量的多少, 妇女绝经期雌激素的补充), 个别报道样本数的不足。VDR 基因本身亦也有与现在研究事实不符之处, 这有两种猜测: VDR 基因多态性位点附近的基因可能与骨代谢有关, 在某些人群中可能存在基因连锁不平衡。VDR 基因多

态性的测定在用 Bsm I RFLP 法有弱相关, 而改用 PCR 测定方法, Bsm I, Apa I, Taq I 三连锁单体型其 BMD 有显著差异。而且表现为 b 基因型对应低骨量。与第二种情况相符。因此, 对于 VDR 基因多态性的进一步研究非常必要的, 已有一些学者提出了不同的意见。深入的研究以找出差异位点的存在, 找到更直接对骨质疏松产生影响的遗传标记。对于各样本进行多因素的研究分析, 把遗传基因和环境因素同时考虑, 可能会对改变曾经认为主要由基因作用的效果。

2 ER (estrogen receptor, ER) 基因

雌激素缺乏是绝经后骨质疏松的重要致病原因。雌激素水平降低可使骨转化增加和骨量丢失加快, 易导致骨折的发生。因此, 雌激素对防止绝经后骨丢失有重要作用。人成骨细胞和破骨细胞表面均发现有雌激素受体 (ER), 表明雌激素对骨细胞起着直接调控作用, ER 基因突变可造成受体基因位于第 6 号染色体 (6q24 q27), 由 8 个外显子 7 个内含子构成, 长约 140 kb, 其多态性由限制性内切酶制 Pvu II 及 Xba I 定义。Kobayashi 等^[12]对 238 名健康绝经后的日本妇女进行研究, 发现经 Pvu II 及 Xba I 酶切产生的雌激素受体 (theoestrogen receptor, ER) 基因多态现象对应不同的骨密度值。基因型与 Z 分数有如下关系: PP<Pp<pp, xx<Xx<XX。其中 PPxx 型比其他基因型对应显著低的 BMD, 提示 Pvu II 及 Xba I 多态性对骨密度均有相关。日本学者 Hosoi^[13]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 型骨密度年变化率与 ER-PP 型骨密度年变化率两者间差异显著。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, 提示对女性绝经后骨质疏松症的雌激素治疗, 疗效与雌激素基因型有关。丹麦学者 Langdahl 等^[14]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 Xba I 分布相似, 而 Pvu II 分布相似, 两组间差异显著, pp 及 ppxx 基因型明显引起骨密度减低。相反的研究结果, 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) 测定腰椎及股骨 BMD 及 ER-RELPS。结果发现 ER RELPS 多态性与绝经后妇女

腰椎及股骨的 BMD 有明显相关性, 且为 $pp < Pp < PP$ 。对于 ER 基因及其多态性的研究尚处于初级阶段, 尚没有肯定一致的结论, 仍有待于深入广泛的研究。

日本人、中国汉族人、英国人的 ER 基因分布频率 (P/p) 分别为: 45/55、42/58、51/49, 它们之间的差异不显著。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。说明亚洲黄种人和部分白种人妇女的 ER 基因频率相近, 无显著差异。但二者与黑人明显不同, 说明可能为黑人骨质疏松发生率较低的原因之一。人种, 种族间的研究还开展的不够, 其对骨密度的确切影响有待于大样本, 多种族, 多区域的综合研究结果的进一步证明。

新近发现的 ER 基因的 ER- β , 通过荧光标记原位杂交技术, 人类 ER- β 定位于 14 号染色体的 q2324.1, 其 DNA 拷贝数异常与骨病关系密切。Ogawa 等^[15]在 204 名健康的绝经后日本妇女中研究定位于 ER- β 基因两翼区的二核苷酸 (胞嘧啶腺嘌呤; CA) 重复多态性与 BMD 的联系, 发现 ER- β 位点遗传变异与 BMD 变化及日本妇女绝经后骨质疏松相关。

3 I 型胶原基因

I 型胶原是体内分布最广、数量最多的胶原成分, 它是由 2 条 $\alpha 1$ (I) 链和 1 条 $\alpha 2$ (I) 链组成的异三聚体。 $\alpha 1$ (I) 和 $\alpha 2$ (I) 分别由 COLIA 1 和 COLIA 2 基因编码。COLIA 1 基因长 18kb, 位于 17q21.3 22, COLIA 2 基因长 38kb, 位于 7q21.3 22.1, 分别由 51 个和 52 个外显子构成。胶原基因富 G/T 序列已被证明为 COLIA1 中转录因子 Sp1 的结合位点, 与 BMD 的调节密切相关。Uitterlinden 等对荷兰 1778 名绝经后妇女的研究显示 SS 基因型具有较高的 BMD, Ss 型的腰椎和股骨的 BMD 次之, ss 型的腰椎和股骨的 BMD 最低。且 Ss 型发生非椎体骨折的风险是 SS 型的 1.4 倍, ss 型是 SS 型的 2.8 倍^[16]。COLIA 1 基因 Sp1 位点多态性的分布频率及与骨质疏松的关系可能也与种族有关。在高加索人种的研究显示 Ss 和 ss 是骨折的风险基因

型。但对于日本, 朝鲜, 中国汉族人群的研究均未发现等位基因点存在多态性。s 等位基因在非洲和亚洲的一些国家的分布频率很低, 为 0~10%, 而欧洲国家则达 15%~25% 或更高。对于不同人种的骨质疏松发生率的差异提供了一个依据。

4 白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 基因

白细胞介素 6 (interleukin6, IL-6) 是由 Hirano 等在 1985 年发现的一种由白细胞产生的能诱导 B 细胞分化并产生免疫球蛋白的细胞因子, 并于次年明确了其 DNA 结构。随后, 发现它是一个多功能细胞因子, 在免疫调节、造血反应、炎症反应等许多病理生理过程中均有重要作用。目前已证实, 造骨微环境中, IL-6 主要由骨髓干细胞、成骨细胞和破骨细胞产生^[17]。破骨细胞及其前体细胞表面均分布有 IL-6 受体 (IL-6R), IL-6 通过与其受体特异结合而促进细胞的增殖及其功能表达。IL-6 是通过其特殊的受体 (IL-6R) 起作用的。IL-6R 是一种糖蛋白, 它有两种存在形式, 即细胞受体和可溶性受体 (sIL-6R)。IL-6 与 IL-6R 结合后, IL-6R 空间结构发生改变, 引起一系列胞内酶链反应, 并导致细胞功能的改变 (IL-6R 上调, 细胞分化与增殖等)。骨质疏松的产生, 主要是由于破骨细胞数目增多或功能增强, 因此发生骨丢失。IL-6 在骨质疏松中的作用主要表现为对破骨细胞及其前体 (如粒-巨系祖细胞即 CFU-GM) 的影响, 它能影响其产生数量和其功能。目前在全球已广泛应用雌激素防治妇女绝经后骨质疏松, 效果肯定。有人认为其作用机制就在于抑制了 IL-6 产生。有人提出利用直接抑制 IL-6 的启动基因的药物既可为临床预防和治疗骨质疏松症提供新的途径, 同时又可避免长期应用雌激素的副作用, 但仅为一种构想。

5 其它候选基因

白细胞介素-1 (interleukin1, IL-1) 及白细胞介素-1 受体拮抗剂基因: IL-1 可看作是影响每种细胞的细胞因子家族, 由 IL-1 α 、IL-1 β 及 IL-1R α 组成。IL-1 α 、 β 与白介素 1 受体 (IL-1R) 结合而发挥广泛的细胞活性激动剂的作用。IL-1 在骨代谢中具有双向调节作用, 低浓度的 IL-1 可以促进骨质形成并可作为骨合成代谢的一个指标, 但是, 高浓度的 IL-1 则可促进骨质丢失成为与骨密度成反比的生

化指标。Lorenzo 等报道了敲除 IL-1R I 型基因的小鼠有正常骨密度和骨生长，而在去卵巢后并不发生骨质丢失。该发现有力地证实了 IL-1 是雌激素缺乏所致骨质疏松的必要中介。IL-1R^a 等位基因可能存在多种多态性，其中第 2 内含子 86 个碱基对 (bp) 的可变同向重复片段 (VNTR) 数目多态性研究最早也最多，通常称为 IL-1RN 1、2、3、4、5 (A1~5)，重复数目分别为 4 (410 bp)、2 (240 bp)、5 (500 bp)、3 (325 bp)、6 (595 bp)。通过检测人群的 IL-1R α 水平及其与不同基因型的相关性的研究，将有利于了解局部拮抗因子的防御作用，从另一侧面认识骨质疏松的发病机制，预测其发生；而且由于 IL-1R α 已经用于某些疾病的三期临床试验，故可以为 IL-1R α 的预防性治疗提供理论依据^[18]。

其他候选基因还有转化生长因子 (TGF- β) 基因，是调节骨形成和骨吸收的重要细胞因子。在研究中发现 TGF- β 多个位点的突变与妇女的骨质疏松有关。但对于 TGF- β 基因还在进行，以期找到更多的证据。胰岛素样生长因子基因，IGF 是一种多肽类生长因子，通过与成骨细胞膜表面的受体结合而发挥作用，促进骨胶原和骨基质合成，刺激成骨细胞形成，抑制骨胶原降解，起着维持骨量的作用。Rosen 等^[19]报道在 IGF 基因所包含的一个微卫星重复多态性 (位于 IGF-1 基因转录起始位点上游约 1 kb 处) 与血清 IGF-1 携带有 192/192 基因型的正常男性具有低 BMD 倾向。对于其他人群的研究还很少见，其对骨质疏松的影响机制还有待进一步的研究证明。

综上所述，骨质疏松是一个多基因疾病，对于骨质疏松候选基因的研究确认工作，已经有了许多的证据表明，一些基因和其多态型及一些细胞因子与骨量的变化有关，目前，人们正试图寻找骨质疏松的遗传学病因，试图阐明骨质疏松的发病机制。但对于确定骨质疏松的致病基因，各基因间的相互关系还有待于深入广泛的探索。

【参 考 文 献】

[1] Krall EA, Dawson-Hughes B. Heritable and life style determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res*, 1993, 8: 19.
 [2] Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, et al. Genetic determinants of bone mass in adults. *J Clin Invest*, 1987, 80: 706-710.
 [3] Kely PJ, Nguyen T, Hopper J, et al. Changes in axial bone density with age: a twin study. *J Bone Miner Res*, 1993, 8:

11-17.
 [4] Hustmyer FG, Peacock M, Hui S, et al. Bone mineral density in relation to polymorphism of the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest*, 1994, 94: 2130-2134.
 [5] Gennari L, Becherini L, Falchetti A, et al. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2002, 81: 1-24.
 [6] 陈金标, 秦林林. 骨质疏松与遗传. *中国骨质疏松杂志*, 2000, 6 (1) 80-83.
 [7] Gennari L, Becher L, Mansani R, et al. Fok I polymorphism at translation initiation site of the vitamin D receptor gene predicts bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. *J Bone Miner Res*, 1999, 14: 1379-1386.
 [8] 黄琪仁, 章振林, 秦厥娟, 等. 维生素 D 受体基因 Apa I 多态性与男性骨量的关系. *69 中国医学科学院学报*, 2003, 25 (3): 56-60.
 [9] Kung AWC, Teung SSC, Lau KS, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and peak bone mass in Southern Chinese women. *Bone*, 1998, 22: 389-393.
 [10] Hansen TS, Abrahamsen B, Henriksen FL, et al. Vitamin D receptor alleles do not predict bone mineral density or bone loss in Danish perimenopausal women. *Bone*, 1998, 22: 571-575.
 [11] Tsai KS, Hsu SH, Cheng WC, et al. Bone mineral density and bone markers in relation to vitamin D receptor gene polymorphisms in Chinese men and women. *Bone*, 1996, 19 (5): 513-518.
 [12] Kobayashi S, Inoue S, Hooi T, et al. Association of estrogen receptor gene polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res*, 1996, 11: 306-311.
 [13] 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): T533.
 [14] Langdah I BL, Lokke E, Carstens M, et al. Polymorphisms in the estrogen receptor gene show different distribution in osteoporotic patient, and normal controls. *J Bone Miner Res*, 1997, 12 (Suppl): F581.
 [15] Ogawa S, Hosoi T, Shiraki M, et al. Association of estrogen receptor beta gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 269 (2): 537-541.
 [16] Uitterlinden AG, Burger H, Huang QJ, et al. Relation of alleles of the collagen type I α 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med*, 1998, 338: 1016-1021.
 [17] 陈德才, 魏松全. 白细胞介素 6 与骨质疏松. *中国骨质疏松杂志*, 1998, 2 (4) 1.73-76.

- ular structure in osteoporosis patients. *J Bone Miner Res*, 1998, 13 (6): 1175-1182.
- [13] Laibl A, Newitt DC, Lu Y, et al. New model-independent measures of trabecular bone structure applied to *in vivo* high resolution MR images. *Osteoporosis Int*, 2002, 13: 130-136.
- [14] Jurgen Machann, Attain Raible, Peter Schnatterbeck, et al. Osteodensitometry of human heel bones by MR spin-echo imaging: comparison with MR gradient-echo imaging and quantitative computed. Tomography *J Magn Reson Imaging*, 2001, 14: 147-155.
- [15] Chin-Shou Lin, Djamil Fertikh, Bolivia Davis, et al. 2D CSI proton MR spectroscopy of human spinal vertebra feasibility studies. *J Magn Reson Imaging*, 2000, 11: 287-293.
- [16] Newitt DC, Majumdar S, B. van Rietbergen, et al. *In vivo* assessment of architecture and microfinite element analysis derived indices of mechanical properties of trabecular Bone in the radius. *Osteoporos Int*, 2002, 13: 6-17.
- [17] 王传馥, 朱汉民, 顾同进, 主编. 临床辅助诊断手册. 第一版, 上海: 上海科技教育出版社, 2001. 665-667.
- [18] 叶学松, 谢建蔚, 徐斌, 等. 定量超声骨测量技术. 中国骨质疏松杂志. 2001, 7: 361-364.
- [19] Kang C, Paley M, Ordidge R, et al. *In vivo* MRI measurements of bone quality in the calcaneus; a comparison with DXA and ultrasound. *Osteoporos Int*, 1999, 9: 65-74.

(收稿日期: 2004-12-23)