

OPG/RANKL/RANK 基因多态性与绝经后骨质疏松

商敏

中图分类号: R711 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)01-0068-04

摘要: 随着人口老龄化,骨质疏松症患者的增加是目前和将来一段时间内主要的公共健康问题之一,识别并评价每个个体发生骨质疏松的风险并预防性用药是解决这个问题最有效的方法。骨质疏松症是一种多基因疾病,其中遗传因素在骨质疏松的发生中占 70% ~ 80%,因此,目前大量研究的目的是检测哪种基因变异会导致骨质疏松发病率增加。OPG-RANKL-RANK 系统作为调节破骨细胞分化成熟的关键环节,理所当然的受到了人们越来越多地关注,但其作为骨质疏松候选基因的研究还处于起步阶段,许多问题还有待阐明,利用这些基因的 SNP 筛查绝经后骨质疏松易感人群,对这部分人群进行预防性用药可以更有效的降低绝经后骨质疏松的发生率。

关键词: 单核苷酸多态性; 绝经后骨质疏松; 护骨素; 细胞核因子 κ B 受体活化因子配基

OPG/RANKL/RANK polymorphism and postmenopausal osteoporosis SHANG Min. Department of Gynecology and Obstetrics, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract: With aging of the society, the increasing number of osteoporotic patients becomes the main public health problem in the near future. Identification and evaluation of the individual risk encountering osteoporosis and taking preventive medicine is the best effective way to solve this problem. Osteoporosis is a multiple genetic disease and genetics accounts for 70% ~ 80% of its pathogenesis. Nowadays many investigations are aimed to identify the genetic mutations leading to osteoporosis. As the key step of modification of osteoclast activation, OPG-RANKL-RANK system attracts more and more attentions. But the study of OPG-RANKL-RANK as candidate genes for osteoporosis still has a long way to go and many questions need to be answered. Utility of SNPs of these genes to screen for susceptible population of osteoporosis and taking preventive measures can help us decrease the incidence of postmenopausal osteoporosis.

Key words: Single nucleotide polymorphism; Postmenopausal osteoporosis; Osteoprotegerin; Ligand of receptor activator of NF κ B

随着人口老龄化,骨质疏松症患者的增加是目前和将来一段时间内主要的公共健康问题之一,绝经后妇女由于雌激素下降,骨质疏松发病率明显增加,因此绝经后骨质疏松(PMOP)受到了广泛的研究和关注。PMOP 是一种多基因疾病,它的发生是环境因素和遗传因素共同作用的结果,其中遗传因素在其发生中占 70% ~ 80%,目前已进行了大量的研究以检测哪种基因型变异会导致 PMOP 发病率增加,识别并评价个体发生骨质疏松的风险并预防性用药可以有效的降低 PMOP 的危害。

骨密度(BMD)是骨质疏松症最重要的表型之一,最近《新英格兰医学杂志》上发表的一篇文章,专门研究了 BMD 和基因的关系,鉴别出与骨质疏松有关的基因序列。Styrkarsdottir 等^[1]将 5861 例冰岛人作为发现组,研究了与腰椎和髋关节 BMD 可能相关的 301019 个单核苷酸多态(SNP),然后将 4164 例冰岛人、2269 例丹麦人和 1491 例澳大利亚人作为复制组,分析了相关的 74 个 SNPs 和上面的 32 个基因位点。结果发现有 3 个基因区域与 BMD 的联系非常紧密,它们分别是细胞核因子 κ B 受体活化因子配基(RANKL)、护骨素(OPG)和雌激素受体 1 基因。该研究中提到的 OPG-RANKL-RANK 系统是近年来发现的在破骨细胞分化过程中的一个重要的信号传导

通路, RANKL 与破骨细胞膜上特异性受体 RANK 结合, 促进破骨细胞分化, 增强成熟破骨细胞的活力, 阻止破骨细胞凋亡。OPG 通过阻断 RANKL 与 RANK 结合而抑制破骨细胞前体的分化、存活与融合, 抑制成熟破骨细胞活化及骨吸收活性, 导致破骨细胞凋亡。鉴于 OPG/RANKL/RANK 系统在调控破骨细胞分化成熟中的重要作用, 笔者对这 3 个骨质疏松的候选基因与 PMOP 的相关性研究综述如下。

1 OPG 多态性与 PMOP

2002 年丹麦的 Langdahl 等^[2]最先对正常及骨质疏松患者各 50 例 OPG 基因启动子和 5 个外显子多态性与骨折发生率之间的关系进行了研究, 发现了包括 A163-G, T245-G, T950-C, G1181-C 和 A6890-C 在内的 12 个多态性。2002 年 Arko 等^[3]对 103 例斯洛文尼亚绝经后妇女的研究发现 OPG 基因启动子中有 4 种 SNP, 209G→A, 245T→G, T950→C 和 889 C→T。2005 年 Arko 等^[4]对 60 例 PMOP 妇女进行了 DNA 测序, 结果在整个 OPG 基因编码区中共发现 8 个 SNPs, 4752_4753delCT, 1181G>C, 1217C>T, 1284G>A, 4501C>T, 6893A>G, 6950A>C 和 8738T>A。在这些 SNP 中研究最多的是位于启动子区的 T950→C, 209G→A, 245T→G、A163G 和位于外显子 1 的 G1181-C, 其他的多态性要么频率太低(如 889 C→T 仅在 2 例患者中发现), 要么与 BMD 和骨折无关(如 A6890-C^[2]和 C1217T^[5])。随着国内外研究的展开, 人们很快发现不仅不同人种间基因分布频率存在差异, 同一种族内部等位基因频率分布也存在着区域性差异^[6], 这有可能是不同种族、不同地域人群骨质疏松症发病率差异的遗传学原因。

1.1 209G→A 和 245T→G 与 PMOP

在诸多 SNPs 中, 209G→A 和 245T→G 与 BMD 的关系较为肯定, 而且二者完全连锁^[3,7,8], 二者常一起研究。Langdahl 等^[2]对 268 例骨质疏松患者和 327 例正常对照的研究发现, T245-G 的 G 等位基因在骨质疏松患者和正常对照者中的出现率分别为 12.4% 和 6.5% ($P<0.02$), 含有 G 等位基因者腰椎骨折的 OR 值为 2.00 (1.10~3.62)。Arko 等^[3]对 103 例斯洛文尼亚绝经后妇女的研究发现 209G→和 245T→G 与腰椎 BMD 有关, 所有患者中仅存在 GATG(占 10.7%) 和 GGTT 两种基因型, 前者的 BMD 较后者低。孙立昊等^[7]对 201 例中国上海绝经后妇女 G209A 和 T245G 与 BMD 的关系进行研究, 发现 GG、GA 和 AA 3 种基因型的频率分别为 68.66%、

29.85% 和 1.49%, GG 型者腰椎 BMD 明显高于 GA 和 AA。于丽云等^[9]对北京地区 495 例无血缘关系的绝经前后汉族妇女研究发现, 绝经前妇女 T245G 位点 TG+GG 组腰椎和髌骨的 BMD 均显著低于 TT 组, 绝经后妇女 TG+GG 组在 L₂₋₄、Ward's 三角及大转子是骨质疏松的危险因素(OR=2.059)。但也有相反的结论, Kim 等^[8]在 385 例朝鲜绝经后妇女中检出了 G209A 和 T245, 但与 BMD 和血清中 OPG/RANKL 水平无关。

1.2 A163-G 与 PMOP

多数研究认为 A163-G 与 BMD 有关, Langdahl 等^[2]研究发现, A163-G 的 G 等位基因在骨质疏松患者和正常对照者中的出现率分别为 34.0% 和 26.3% ($P<0.05$), 含有 G 等位基因者腰椎骨折的 OR 值为 1.44 (1.00~2.08)。于丽云等^[9]对北京地区绝经前后妇女研究发现, 163 位点为变异型 G 等位基因时, 腰椎和髌骨的 BMD 较低, 与绝经后妇女 BMD 降低相关。对居住在重庆的 200 例绝经后女性研究显示^[10], 除大转子外, AG/GG/AG+GG 基因型者腰椎和髌骨 BMD 均较 AA 基因型者低($P<0.05$)。这些研究均提示 G 等位基因是 BMD 降低的危险因素。但也有相反的结论, 朝鲜和 Malta 绝经后妇女、澳大利亚老年妇女, 以及西班牙绝经前后妇女的 A163G 均与 BMD 无关^[8,11-13]。

1.3 T950 与 PMOP

T950→C 即 rs2073617, 是研究较多的位点之一, 但阴性结果较多。斯洛文尼亚绝经后妇女、爱尔兰绝经前后妇女及澳大利亚老年妇女的该 SNP 与 BMD 无关^[3,12,14]。Brändström 等^[5]对 1044 例 75 岁妇女的研究表明该多态性与瑞典老年女性 BMD 及骨折发生率之间无关。程群等^[15]将 259 例中国上海绝经后妇女分为 <65 岁组(I 组)和 ≥65 岁组(II 组)2 组, 发现在 I 组不同基因型妇女股骨颈部位 BMD 间差异有统计学意义($P<0.05$), TT<TC<CC, 而 II 组的各项指标在不同基因型间的差异无显著意义, 提示 950T-C 可能对女性峰值骨量的获得有影响。武兆忠等^[16]对居住在广州的汉族妇女(PMOP 妇女和正常妇女各 73 和 61 例)研究发现, T950→C 基因型分布与高加索妇女相比差异有显著性, 高加索人种妇女 CC 型基因型分布频率无论是 PMOP 组还是非 PMOP 组均明显高于汉族妇女, 分别占 21.40% 和 24.5%^[4,5], 而汉族妇女两者仅为 8.2% 和 4.9%, PMOP 组 CC 型的股骨颈 BMD 低于 TC 型和 TT 型, 而绝经后正常妇女 3 种基因型之间

差异无显著性,提示 T950C 不能作为中国汉族妇女是否发生 PMOP 的遗传标志,但对于患有 PMOP 的中国汉族妇女却能预测患病的严重程度。对 Malta 绝经后妇女 OPG 基因 3 种 SNP (A163G, T950C 和 G1181C) 与 BMD 间关系的研究发现,950CC 型的 BMD 大于 TC 和 TT 型,但差异无统计学意义,不过该多态性在正常妇女和骨质疏松-骨量减少妇女中的分布差异具有统计学意义,TT 基因型更多见于低 BMD 者;T950C 与 G1181C 连锁不平衡,此外,不同的单倍体型之间差异具有统计学意义,A-T-G 更多见于低 BMD 者^[11]。

1.4 G1181-C 和 PMOP

G1181-C,即 rs2073618 和 Lys3Asn,可导致第 3 个氨基酸由赖氨酸变成天门冬氨酸,该多态性于 2002 年对爱尔兰绝经前后妇女 OPG 基因启动子区和编码区筛查中首次发现,含有 1181C 等位基因者腰椎和股骨颈 BMD 比含 G 等位基因者分别要低 14.8% ($P = 0.05$) 和 14.4% ($P = 0.04$),但是采用 Bonferroni 校正法进行校正后并没有统计学差异^[14]。Arko 等^[4]对 PMOP 妇女分析发现 1181G > C 与腰椎 BMD 相关,G 等位基因的 BMD 比 C 低。对朝鲜绝经后妇女进行多元回归分析发现 CC 型的妇女比 GG 型的桡骨和跟骨 BMD 分别高 7% 和 10%,且差异有统计学意义,这一关系在 RANK 575 TT 或 ESR1 2142 GG 基因型者更明显^[17]。对 205 例中国绝经后妇女的 OPG 所有外显子的研究中发现,G1181-C 与腰椎 BMD 相关,该多态性可以解释 7.7% 的 BMD 变异,含 G 等位基因者 BMD 较低,发生 PMOP 的风险较 C 高 2.7 倍^[18,19]。Kim 等^[8]发现,G1181C 与腰椎 BMD 相关,但与血清中 OPG/RANKL 水平无关。对西班牙绝经前后妇女的研究表明,G1181C 与腰椎 BMD 有关,而与髌骨 BMD 无关,CC 基因型的 BMD 高于 GC 和 GG,该多态性可以解释 2.2% 的腰椎 BMD 变异,0.3% 的股骨颈 BMD 变异,0.9% 的全髌 BMD 变异在绝经前妇女中,二者明显相关,可以解释 11.9% 的腰椎 BMD 变异^[13]。对美国 6695 例 65 岁及以上的妇女的研究发现,GG 型女性转子间、桡骨远端、腰椎和跟骨 BMD 值明显低于含有 C 等位基因者在随访 13.6 年期间(共 91 249 人·年)发生了 701 例髌骨骨折,其中股骨颈 362 例,转子间 333 例,基因型为 C/C 的妇女股骨颈骨折风险比 G/G 型者升高 51% (95% 可信区间,1.13 ~ 2.02),髌骨骨折风险升高 26% (95% 可信区间,1.02 ~ 1.54),而且独立于 BMD,转子间骨折与该多态性无关。这些结果虽

然还需要进一步证实,但提示 G1181-C 在老年白人女性髌骨骨折的遗传易感性中发挥一定作用^[20]。尽管大多数结果均提示 G1181-C 与 BMD 及骨折有关,但对 Malta 绝经后妇女及澳大利亚老年妇女的研究却发现 G1181CC 与 BMD 无关^[11,12],这些互不相同的研究结果提示我们,不同种族间基因多态性与骨质疏松的关系不尽相同,因此对一个种族中研究结果进行推广时要慎重。

此外,最近发现的两个 SNPs,rs6469804 (A 的频率为 0.510) 和 rs6993813 (C 的频率为 0.496),与腰椎和髌骨的 BMD 有关,且二者连锁不平衡。根据欧洲西北部的 Utah 的 HapMap 数据,研究最多的 G1181→C (rs2073618) 和 T950→C (rs2073617) 均与这两个 SNP 连锁不平衡^[1]。

2 RANKL/RANK 多态性与 PMOP

与 OPG 相比,对 RANKL 和 RANK 的 SNP 的研究要少得多,但这并不意味着它们不重要,在这方面,最令人欢欣鼓舞的资料来自美国。为了明确近年发现并提出的诸多‘新’的骨质疏松候选基因的真正作用,美国的学者们于 2006 年对 20 个基因进行了大规模高密度的 SNP 筛查。对来自 405 个白人核心家族的 1873 个个体的 20 个基因的 27 个 SNPs (密度为 snp/4 kb) 与 3 个重要的骨骼部位:脊柱、髌骨和桡骨远端的定量特征 BMD 和定性特征骨质疏松(OP)之间的相关性进行了研究,结果发现 RANK 等 4 个基因与脊柱、髌骨及桡骨远端 BMD/OP 高度相关,RANKL 等 4 个基因与髌骨 BMD/OP 高度相关,按性别分别进行分析这些关系仍然存在,这些结果提示 RANK/RANKL 在众多骨质疏松候选基因中优先发挥作用^[21]。

2.1 RANK 基因与 PMOP

对 24 例朝鲜人的 RANK 基因进行 DNA 测序发现 25 个序列变异,选择其中的 11 个位点对 560 例朝鲜绝经后妇女 RANK 基因分型,同时测定腰椎从前到后的面积 BMD 及非优势侧的股骨近端 BMD,结果发现内含子 6 中 + 34863G > A (rs12458117) 和 RANK + 35928insdelC 与腰椎和股骨近端 BMD 有关,而且少见的多态性 + 34863G > A 和 + 35928insdelC 与腰椎 BMD 低有关,有可能是低 BMD 的遗传因子^[22]。朝鲜绝经后妇女 RANK 575 T > C 和跟骨 BMD 相关,在 RANK 575 TT 型的妇女中,OPG 1181 CC 基因型的妇女比 GG 型的桡骨和跟骨 BMD 分别高 11% 和 11% (P 值分别为 0.002 和 0.021)^[17]。但

Kim 等^[8]在 385 例朝鲜绝经后妇女中未检出 RANK 基因 C421T 和 C575T 多态性。

2.2 RANKL 基因与 PMOP

Mencej 等^[23]对斯洛文尼亚人 RANKL 基因启动子进行 DNA 测序发现 290C > T, 643C > T, 693G > C 和 1594G > A 4 种序列变异, 对 115 例绝经后妇女以上多态性与 BMD 的关系以及 1 年后 43 例妇女骨丢失与多态性的关系进行分析发现, 290C > T、643C > T 和 693G > C 具有多态性, 而 -1594G > A 仅出现在 1 例患者中, 其中只有 -290C > T 与股骨颈相关, CC 基因型比 TT 型 BMD 低 ($P = 0.022$), 提示该多态性位点可能参与了 BMD 的遗传调节, 693G > C 与髌骨 ($P = 0.011$) 和股骨颈 ($P = 0.037$) 的骨丢失相关。随后 Mencej 等^[24]又对 404 例斯洛文尼亚绝经后妇女 290C > T、643C > T 和 693G > C 与 BMD 及生化标记物的关系进行了研究, 发现 CCG 和 TTC 是 2 种常见的单倍体型, 所占比例分别为 44.3% 和 49.3%; 这 3 个位点多态性与腰椎 BMD 均有关, 而与生化标记物均无关, 643C > T 和股骨颈 BMD 相关。Kim 等^[8]对朝鲜绝经后妇女的研究中, 未检出 rs12721445, rs2277438 本身与腰椎 BMD 无关, 但与 OPG 基因 1181G > C 联合分析时, 与腰椎 BMD 相关, 而与血清中 OPG/RANKL 水平无关。最近的 Styrkarsdottir 等^[1]对欧洲人群的研究中与腰椎 BMD 相关程度最高的 SNP rs9594759 位于 RANKL 上游 113 kb 处, 并与该基因连锁不平衡。

综上所述, OPG/RANKL/RANK 系统具有调控破骨细胞分化成熟的重要作用, 但将它们 (尤其是 RANK 和 RANKL) 作为骨质疏松候选基因的研究还处于起步阶段, 许多问题还有待阐明, 利用这些基因的 SNP 筛查 PMOP 易感人群, 对这部分人群进行预防性用药可以更有效的降低 PMOP 的发生率及危害, 鉴于不同种族间基因多态性与骨质疏松的关系不尽相同, 因此有必要开展广泛研究以获得各种族、地区人群候选基因多态性与 PMOP 的关系。

【参 考 文 献】

- [1] Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med*, 2008, 358(22): 2355-2365.
- [2] Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(7): 1245-1255.
- [3] Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. Sequence variations in the

osteoprotegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(9): 4080-4084.

- [4] Arko B, Prezelj J, Ko cijancic A, et al. Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*, 2005, 51(3): 270-279.
- [5] Brändström H, Gerdhem P, Stiger F, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human gene for osteoprotegerin are not related to bone mineral density or fracture in elderly women. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74(1): 18-24.
- [6] Wang JT, Jia GH, Jia XH, et al. Regional differences of the single T149C mutation polymorphism in the promoter region of osteoprotegerin gene. *J Fourth Mil Med Univ*, 2007, 28(23): 2163-2165(in Chinese).
- [7] Sun LH, Liu JM, Zhao HY, et al. Relationship between the single nucleotide polymorphism of osteoprotegerin gene promoter and the bone mineral density in postmenopausal women. *J Diag Concepts Pract*, 2005, 4(3): 209-212(in Chinese).
- [8] Kim JG, Kim JH, Kim J, et al. Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause*, 2007, 14(5): 913-918.
- [9] Yu LY, Zhou XY, Xing XP, et al. Association between osteoprotegerin gene polymorphisms and bone mineral density of pre- and post-menopause Han women from Beijing areas. *Chinese Journal of Rehabilitation*, 2006, 10(48): 204-207.
- [10] Geng L, Yao ZC, Luo JY, et al. Association between Val80 polymorphism of the CYP19 gene, A163G polymorphism of the OPG gene and bone mineral density in postmenopausal Chinese women. *Hereditas*, 2007, 29(11): 1345-1350(in Chinese).
- [11] Vidal C, Brincat M, Xuereb Anastasi A. TNFRSF11B gene variants and bone mineral density in postmenopausal women in Malta. *Maturitas*, 2006, 53(4): 386-395.
- [12] Ueland T, Bollerslev J, Wilson SG, et al. No associations between OPG gene polymorphisms or serum levels and measures of osteoporosis in elderly Australian women. *Bone*, 2007, 40(1): 175-181.
- [13] Garcia-Unzueta MT, Riancho JA, Zarrabeitia MT, et al. Association of the 163A/G and 1181G/C osteoprotegerin polymorphism with bone mineral density. *Horm Metab Res*, 2008, 40(3): 219-224.
- [14] Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, et al. Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (FokI), and COL1A1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int*, 2002, 71(1): 26-35.
- [15] Cheng Q, Zhu HM, Miao YX, et al. Effect of osteoprotegerin gene polymorphism on bone mass in postmenopausal women. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2004, 84(4): 274-277.
- [16] Wu ZZ, Liu M, Feng JQ. Relationship among single T950-C mutation polymorphism in the promoter region of the osteoprotegerin gene, bone mineral density and metabolism. *Chin J Geriatrics*, 2005, 25(3): 247-250(in Chinese).

- [17] Choi JY, Shin A, Park SK, et al. Genetic polymorphisms of OPG, RANK, and ESR1 and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 2005, 77(3) :152-159.
- [18] Zhao HY, Liu JM, Ning G, et al. The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2005, 16(12) : 1519-1524.
- [19] Zhao HY, Liu JM, Ning G, et al. Association between the G1181C polymorphism of osteoprotegerin gene and bone mineral density in postmenopausal women. *Chin J Endocrinol Metab*, 2005, 21(1) :55-58(in Chinese).
- [20] Moffett SP, Oakley JJ, Cauley JA, et al. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Osteoprotegerin Lys3Asn polymorphism and the risk of fracture in older women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(5) :2002-2008.
- [21] Xiong DH, Shen H, Zhao LJ, et al. Robust and comprehensive

analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear families identified significant association and gene-gene interaction. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(11) :1678-1695.

- [22] Koh JM, Park BL, Kim DJ, et al. Identification of novel RANK polymorphisms and their putative association with low BMD among postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2007, 18(3) :323-331.
- [23] Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A, et al. Association of TNFSF11 gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*, 2006, 55(3) :219-226.
- [24] Mencej S, Albagha OM, Prezelj J, et al. Tumour necrosis factor superfamily member 11 gene promoter polymorphisms modulate promoter activity and influence bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J Mol Endocrinol*, 2008, 40(6) :273-279.

(收稿日期 :2008-11-28)