

OPG 基因多态性与骨质疏松发病风险相关性的荟萃分析

陈圆圆 陈文玮 张宏秀*

南京医科大学第一附属医院妇产科,江苏 南京 210029

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 09-1069-07

摘要: **目的** 评价 OPG 基因 A163G 和 T950C 的多态性与骨质疏松发病风险的相关性。**方法** 在万方数据库、中国知网、中国生物医学文献数据库、PubMed 数据库中全面检索关于 OPG 基因启动子 A163G 和 T950C 多态性与骨质疏松相关的文献,对纳入的文献进行质量评价,并采用 RevMan5.3 软件进行 meta 分析。**结果** 共有 13 篇文献被纳入本次的 meta 分析,关于 A163G 的文献有 7 篇,累计骨质疏松病例组 805 人,健康对照组 948 人;关于 T950C 的文献有 8 篇,累计骨质疏松病例组 1286 人,健康对照组 1252 人。关于 A163G 的 meta 分析显示等位基因 G 可能会增加骨质疏松的风险[OR = 1.37, 95% CI: 1.12 - 1.68, P = 0.003],在高加索人、男性和女性及绝经后妇女的亚组分析中显示同样的结果。关于 T950C 的 meta 分析显示等位基因 T/C 在增加骨质疏松的风险上无统计学意义[OR = 1.03, 95% CI: 0.82 - 1.28, P = 0.004],在种族和性别的亚组分析中同样无统计学意义。**结论** OPG 基因 T950C 的多态性并没有证实与骨质疏松的风险有关,但 A163G 的多态性可能会增加骨质疏松的风险。

关键词: OPG 基因;多态性;骨质疏松;meta 分析

Association between OPG gene polymorphisms and the risk of osteoporosis: A meta-analysis

CHEN Yuanyuan, CHEN Wenwei, ZHANG Hongxiu

Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: ZHANG Hongxiu, Email: hongxiuz@hotmail.com

Abstract: Objective To evaluate the relationship between OPG gene A163G and T950C polymorphisms and the risk of osteoporosis. **Methods** The relationship between OPG gene promoter T950C and A163G polymorphisms and osteoporosis in the literatures of Wanfang, CNKI, CBM, and PubMed was comprehensively searched. Data extracted from the literatures were evaluated. The statistical analysis was conducted using a RevMan5.3 software. **Results** Thirteen published articles were selected for meta-analysis. Among them, there were 7 studies about A163G, including 805 subjects in the osteoporosis group and 948 subjects in the healthy control group. There were 8 studies about T950C, including 1286 subjects in the osteoporosis group and 1252 subjects in the healthy control group. Meta-analysis for A163G showed that allele G increased the risk of osteoporosis (OR = 1.37, 95% CI: 1.12 - 1.68, P = 0.003). Stratified analysis showed that the magnitude of the effect was similar in Caucasian people, males and females, and postmenopausal women. Meta-analysis for T950C showed that allele T/C had no statistical significance on the risk of osteoporosis (OR = 1.03, 95% CI: 0.82 - 1.28, P = 0.004). Analysis in the subgroups also showed no statistical significance. **Conclusion** T950C polymorphisms are not associated with the risk of osteoporosis. However, A163G polymorphisms may increase the risk of osteoporosis.

Key words: OPG gene; Polymorphism; Osteoporosis; Meta-analysis

骨质疏松症是以骨量减少和骨组织的微细结构破坏,导致骨骼的强度减低和骨折危险性增加为特

征的全身代谢性疾病。随着全球人口老龄化问题的加重,它势必会影响数以万计的患者,我国是世界人口最多的国家,同样也是老年人口最多的国家,因此骨质疏松的发病不容乐观。这就意味着由骨质疏松症带来的医疗费用也会不断增加,因此对骨质疏松的相关问题进行研究是十分有必要的。到目前为

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81472989);江苏省卫生厅社妇处(F201201)

* 通讯作者: 张宏秀, Email: hongxiuz@hotmail.com

止,我们对骨质疏松症的分子遗传基础仍然知之甚少。先前的一些研究表明,骨质疏松症是一种多基因疾病,遗传因素在骨质疏松症的发病机理中起着重要的作用。目前已知的有一些基因与骨质疏松症有关,分别是护骨素(OPG)^[1]、白介素6(IL-6)^[2]、I型胶原蛋白A1(COL1A1)^[3]、维生素D受体(VDR)^[4]、雌激素受体 α (ER- α)和雌激素受体 β (ER- β)^[5]。在这些基因里,护骨素是研究最广泛的一个基因,它是肿瘤坏死因子受体超家族的成员,是参与破骨细胞功能及骨代谢关键的调节因子,其主要功能为抑制破骨细胞形成、分化、存活并诱导破骨细胞凋亡。关于护骨素基因多态性的研究显示,多个位点与骨质疏松的风险有关,比如位于启动子的A163G^[1,6-8,11-13]、T950C^[1,9-10,13-17]、T245G^[18]、G209A^[1]和位于第一外显子的G1181C^[7],因此国内外对这些护骨素基因多态性进行了大量的研究,但研究结果差异较大,因此,本文采用meta分析的方法主要对护骨素基因启动子A163G、T950C进行一个相对比较全面地评价,从而获得护骨素基因启动子A163G、T950C多态性与骨质疏松症相关性的结果。

1 材料与方法

1.1 资料收集方法

1.1.1 文献纳入标准:(1)研究设计为病例对照研究(2)研究内容为OPG基因启动子A163G和T950C多态性与骨质疏松风险(3)所有患者均符合WHO推荐的骨质疏松的诊断标准。

1.1.2 文献排除标准:(1)研究设计不是病例对照研究(2)重复的文献(3)未提供足够的原始数据的文献。

1.2 检索策略

使用计算机在PubMed数据库、中国知网数据库、万方数据库中检索截止2014年7月的文献并获取全文。使用关键词检索方式检索,英文检索的检索式为: (“osteoporosis” or “bone loss” or “bonemineral density”) and (“osteoprotegerin” or “OPG” or “TNFRSF11B”) and (“genetic polymorphism” or “single nucleotide polymorphism” or “SNP”);中文检索的检索式为:(护骨素 or 骨保护素)and 基因 and 骨质疏松。此次检索不受语言的限制,最终从检索到的文献中选取符合的文献。

1.3 数据提取及质量评价

使用以下的格式从符合条件的文献中提取相关

的数据:第一作者的姓氏、出版年份、国家、种族、病例组和对照组的样本量及年龄、研究对象、来源控制、基因的检测方法。

使用Newcastle-Ottawa Scale (NOS)量表来评价所纳入的文献的质量。NOS量表是基于三个方面的评价:选择、可比性和暴露,分数范围从0星到9星;0-4星提示为低质量,5-9星提示为高质量。

1.4 统计学处理

使用RevMan 5.3软件进行数据分析。异质性检验使用 χ^2 检验,当 $\chi^2 > 50\%$ 时,认为异质性较大,应尽可能找出原因,并进行亚组分析,若找不出原因,则使用随机效应模型;反之,则使用固定效应模型。与此同时,对各个研究的基因频率分布进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验。为了寻找潜在的异质性来源,主要对种族和研究对象分别进行了亚组分析。为了评估合并结果的稳定性,通过每次去除一个病例对照研究后再重新统计的方法对Meta分析结果进行敏感性分析。采用Begg漏斗图来评估潜在的发表偏倚,最后利用RevMan 5.3软件的森林图来显示meta分析的结果。

2 结果

2.1 纳入研究的文献基本特征

通过计算机共检索出283篇相关的文献,其中PubMed检索出75篇,中国知网检索出76篇,万方数据库检索出132篇。依据文献的排除和纳入标准,最终13篇文献被纳入此次的meta分析中。在这13篇文献中,关于A163G的文献有7篇,累计骨质疏松病例组805人,健康对照组948人;关于T950C的文献有8篇,累计骨质疏松病例组1286人,健康对照组1252人。所有纳入研究的文献按照Newcastle-Ottawa Scale (NOS)量表来评价均高于5星,属于高质量文献。

2.2 meta分析结果

2.2.1 OPG基因启动子A163G与骨质疏松风险之间的关系:关于OPG启动子A163G多态性与骨质疏松风险的数据来源于7篇病例对照研究,累计骨质疏松病例组805人,健康对照组948人。因为存在明显的异质性,所以数据分析采用随机效应模型。Meta分析的结果显示A163G的等位基因G可能会增加个体患有骨质疏松的风险(G vs A; OR = 1.37, 95% CI: 1.12 - 1.68, P = 0.003; (AG + GG) VS AA: OR = 1.43, 95% CI: 1.15 - 1.78, P = 0.001; GG VS AA: OR = 1.53, 95% CI: 1.10 - 2.12, P = 0.01),但

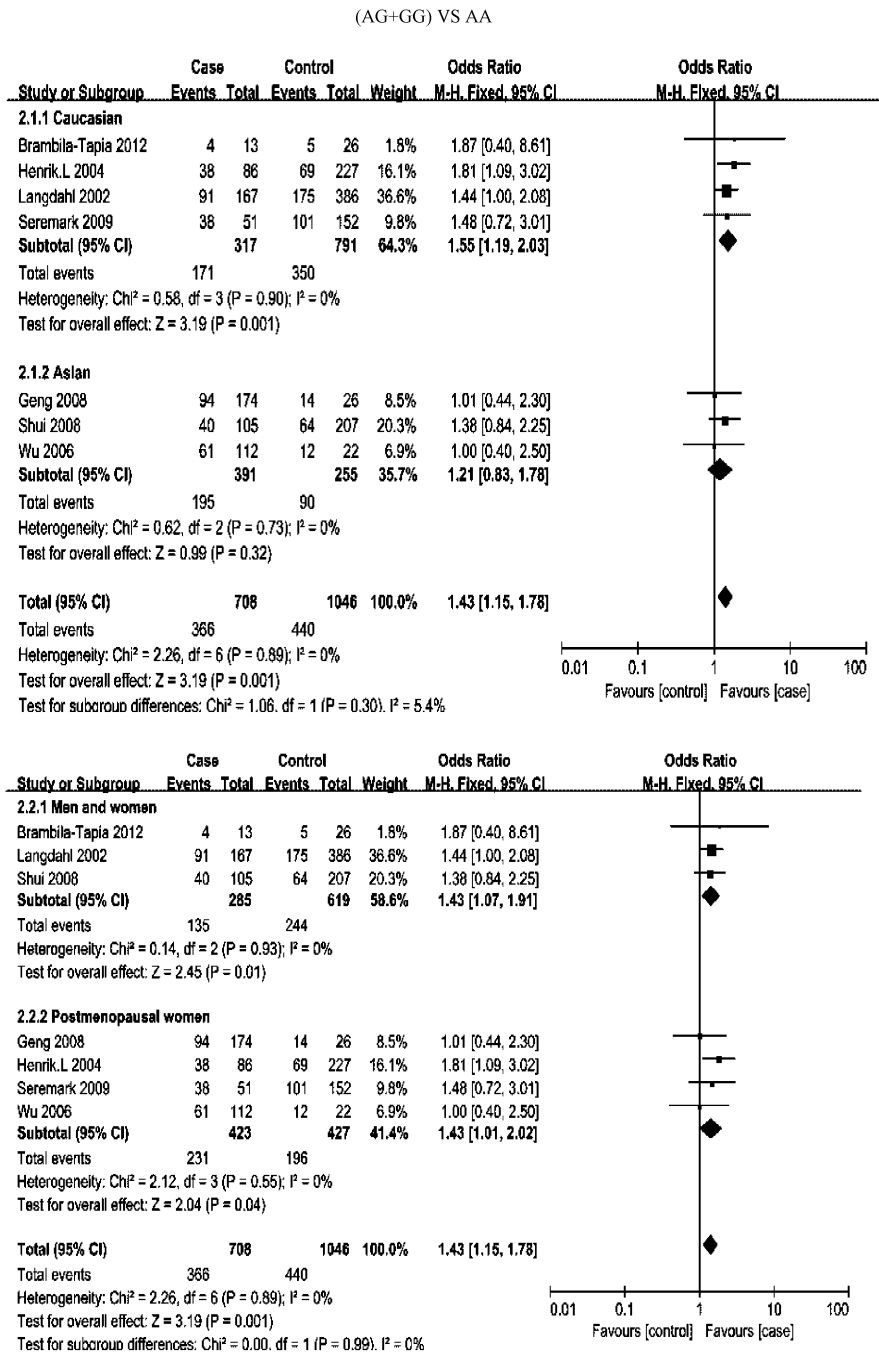


图 1 A163G 基因多态性基于亚组种族和研究对象的 meta 分析

Fig. 1 Meta-analysis of OPG A163G polymorphism based on ethnicity and subject type

在另外两组比较中这种结果却不明显 (GG VS AG: OR = 1.20, 95% CI: 0.70 - 2.05, P = 0.50; GG VS (AA + AG): OR = 1.42, 95% CI: 0.91 - 2.21, P = 0.12), 这可能与比较双方均包含基因 G 有关。关于种族的亚组分析结果显示: 在高加索人群中, 基因 G 与基因 A 相比增加了个体患有骨质疏松的风险, 而在亚洲人群中却没有这样的结果显示。关于性别的亚组分析结果显示: 在男性和女性及绝经后妇女

人群中, 基因 G 与基因 A 相比均增加了个体患有骨质疏松的风险。

2.2.2 OPG 基因启动子 T950C 与骨质疏松风险之间的关系: 关于 OPG 启动子 T950C 多态性与骨质疏松风险的数据来源于 8 篇病例对照研究, 累计骨质疏松病例组 1286 人, 健康对照组 1252 人。因为存在明显的异质性, 所以数据分析同样采用随机效应模型。Meta 分析的结果并不能显示 T950C 的等位

(TC+CC) VS TT

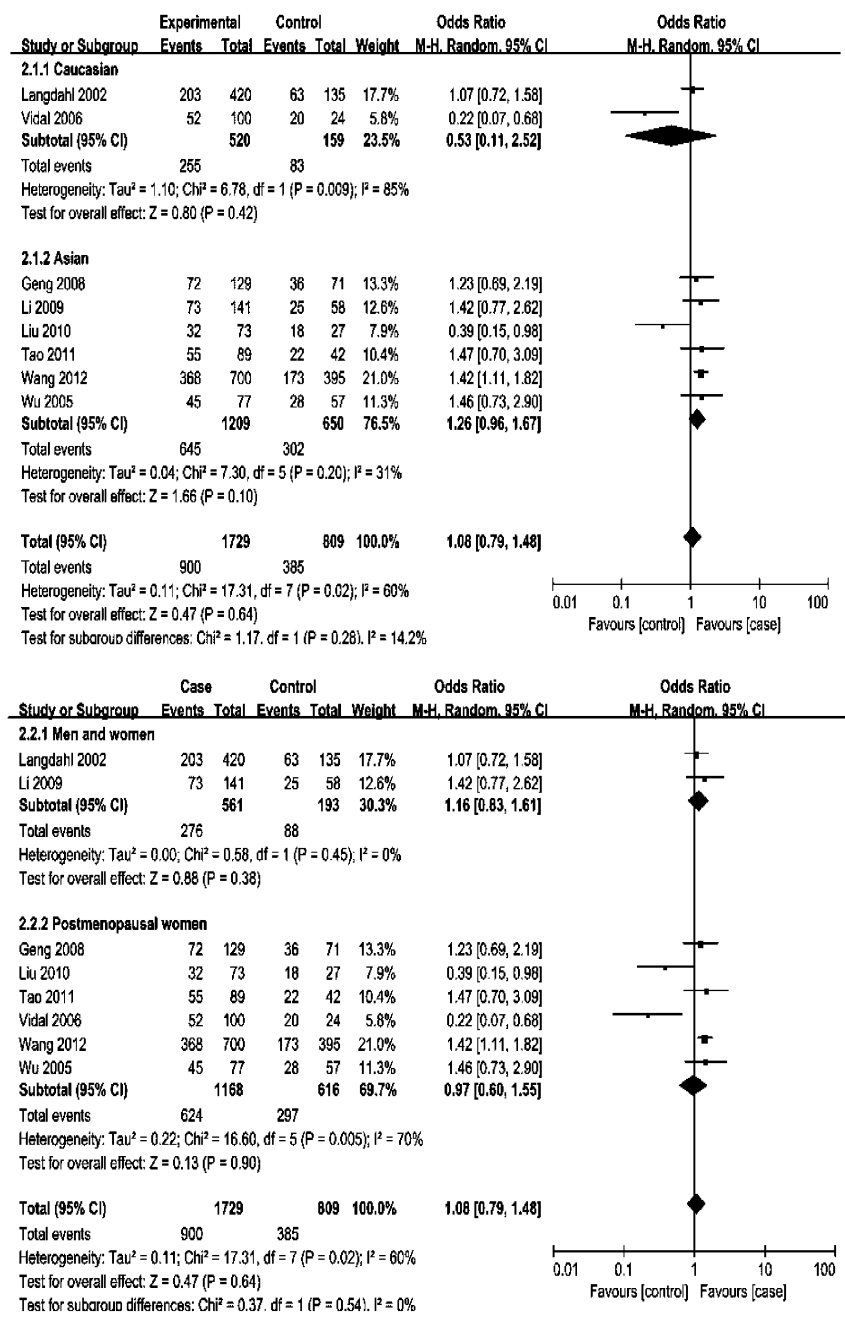


图 2 T950C 基因多态性基于亚组种族和研究对象的 meta 分析

Fig. 2 Meta-analysis of OPG T950C polymorphism based on ethnicity and subject type

基因 C 与骨质疏松的风险有明显的相关性 (C VS T; OR = 1.03, 95% CI: 0.82 - 1.28, P = 0.004; (TC + CC) VS TT; OR = 1.08, 95% CI: 0.79 - 1.48, P = 0.02; CC VS TT; OR = 0.99, 95% CI: 0.61 - 1.62, P = 0.004; CC VS TC; OR = 0.95, 95% CI: 0.65 - 1.405, P = 0.80; CC VS (TT + TC); OR = 0.98, 95% CI: 0.66 - 1.44, P = 0.91)。同样在关于种族和性别的亚组分析中,均不能显示等位基因 C 与骨质疏

松的风险有明显的相关性。

2.3 敏感性分析

使用 stata12.0 软件对 Meta 分析的结果进行敏感性分析,其结果表明:关于 A163G 的 7 篇研究没有一篇研究会影响到结果的稳定性(见图 3);同样关于 T950C 的 8 篇研究也没有一篇研究会影响到结果的稳定性(见图 4)。

2.4 发表偏倚

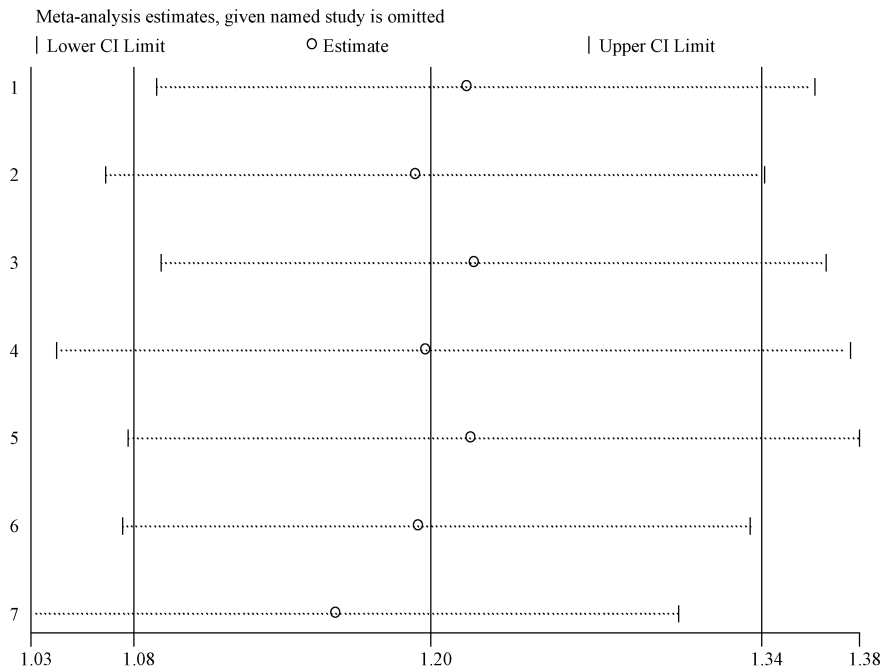


图 3 关于 A163G 基因多态性的敏感性分析

Fig. 3 The sensitivity analysis of OPG A163G polymorphisms

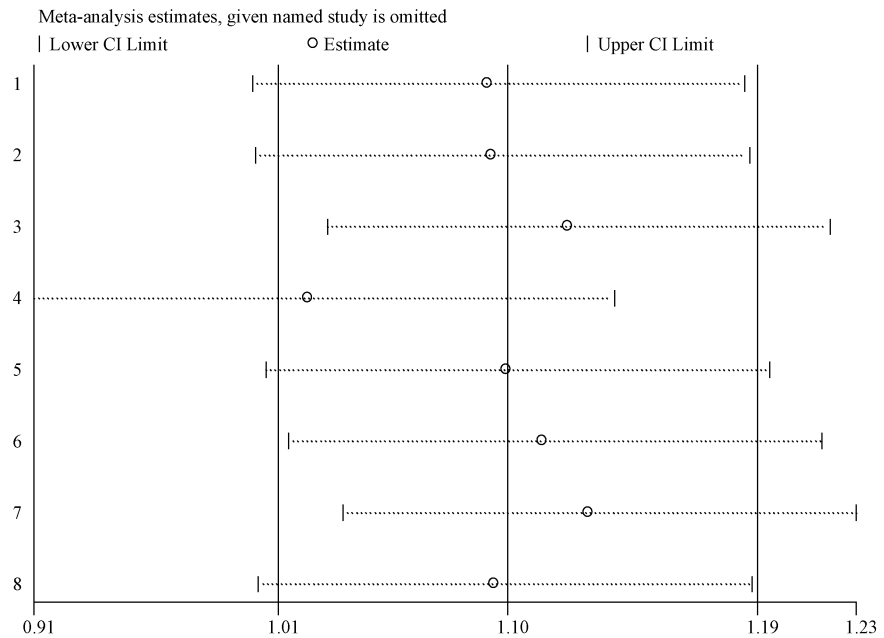


图 4 关于 T950C 基因多态性的敏感性分析

Fig. 4 The sensitivity analysis of OPG T950C polymorphisms

Begg 漏斗图是用来评估各研究之间是否存在潜在的发表偏倚,漏斗图的形状并没有显示有明显的不对称(见图 5、图 6)。使用 Egger 线性回归同样也没有发现任何证据说明存在发表偏倚(A163G: $t = 0.18$, $p = 0.864$; T950C: $t = -1.07$, $p = 0.325$)。

3 讨论

骨质疏松症是常见的代谢性骨病,它的特点主要是骨量下降和骨的微细结构破坏,导致骨的脆性增加,从而大大地增加了骨折的风险,即便是轻微的创伤或是没有外伤的情况下也容易发生骨折。骨质

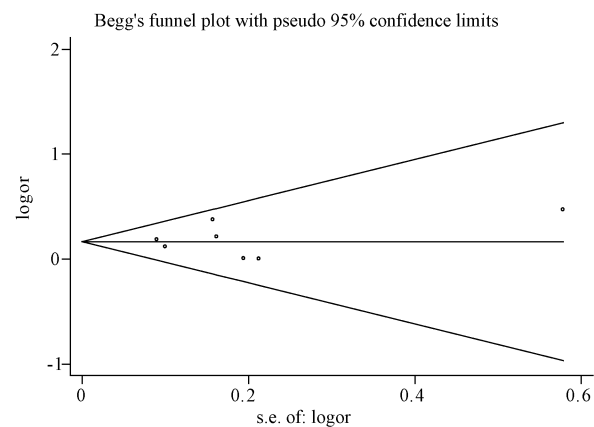


图 5 关于 A163G 基因多态性发表性偏倚的 Begg 漏斗图

Fig. 5 Begg's funnel plots of publication bias in studies on OPG A163G polymorphisms

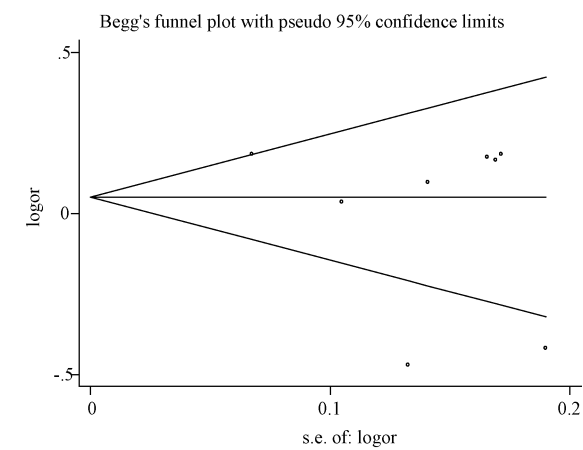


图 6 关于 T950C 基因多态性发表性偏倚的 Begg 漏斗图

Fig. 6 Begg's funnel plots of publication bias in studies on OPG T950C polymorphisms

疏松的发病过程是由遗传因素和环境因素共同参与的,而护骨素能够抑制破骨细胞的分化、多态性基因编码的功能,从而在干扰破骨细胞分化的过程中起到重要的作用,因此护骨素基因可作为研究骨质疏松的一个重要的候选基因。

国内外有很多研究者针对护骨素基因多态性与骨质疏松风险之间的关系进行了大量的研究,与骨质疏松风险相关的护骨素基因多态性的位点有位于启动子的 A163G、T950C、T245G、G209A 和位于第一外显子的 G1181C,但对于这些基因多态性研究的结果并不完全一致。Langdahl^[1] 等人的研究表明 A163G 的多态性与骨质疏松有关。李贤让^[14] 的研究表明 OPG 启动子 T950C 的多态性与老年男性的骨质疏松的发生有关。武兆忠^[15] 对 134 例广州人

的研究发现,OPG 基因启动子区 T950C 多态性不能作为预测中国汉族妇女一定会发生骨质疏松症的遗传学标志。Lee^[19] 等曾使用 meta 分析的方法研究了 G1181C、A163G、T950C 的多态性与骨密度之间的关系,其结果显示 G1181C 多态性与骨密度有关,而 A163G 和 T950C 的多态性与骨密度无明显相关性。Liang Guo^[20] 等人同样使用 meta 分析的方法研究了 G1181C、A163G 的多态性与骨密度之间的关系,其结果显示 A163G 的等位基因 G 可能会增加骨质疏松的风险,而 G1181C 的等位基因 C 可能会降低骨质疏松的风险。本文采用 meta 分析的方法对多个研究结果进行汇总,增加了样本量,期望能够得到关于 A163G、T950C 多态性与骨质疏松风险之间更加客观的结果。

在本研究中,根据排除和纳入标准,最终对 13 篇符合的文献进行了 meta 分析,其中关于 A163G 基因的共有 7 篇,关于 T950C 基因的共有 8 篇。我们发现 A163G 的等位基因 G 可能会增加个体患有骨质疏松的风险;关于性别的亚组分析结果显示:在男性和女性及绝经后妇女人群中,基因 G 与基因 A 相比均可能增加个体患有骨质疏松的风险;关于种族的亚组分析结果显示:在高加索人群中,基因 G 与基因 A 相比也可能增加个体患有骨质疏松的风险,而在亚洲人群中却没有这样的结果显示。与 A163G 多态性的结果不同的是,关于 T950C 依旧没有得到明确的证据证实其多态性与骨质疏松风险有关。除此之外,利用 stata 软件对本研究的敏感性及发表偏倚也进行了评估,其结果显示该研究的结果较为稳定,也没有明显的发表偏倚存在。

本文严格遵循 meta 分析的要求,全面地搜索了国内外现有的关于 A163G、T950C 基因多态性的研究,并对其研究进行质量评估、数据提取、统计学分析等。与 Liang Guo^[20] 等人的 meta 分析相比,本文主要针对 A163G、T950C 两个基因的多态性进行研究,与此同时研究对象主要局限在高加索人和亚洲人,增加了样本量。当然该研究仍存在一定的局限性。首先,Meta 分析属于描述性二次分析,是建立在已有的研究基础之上,因此选取的文献的异质性、变量的研究设计、不同的判断标准及统计方法等都有可能影响到 meta 分析的结果。其次,所纳入的研究文献的数量偏少。在搜集文献阶段,虽然尽可能全面地检索所有文献,但仍可能因部分阴性结果未能公开发表而具有潜在的发表偏倚。因此,本研究的结论仍然需要进行大样本量的科学的病例对照研

究来进一步证实。

综上所述,护骨素基因 T950C 的多态性并没有证实与骨质疏松的风险有关,但 A163G 的多态性与骨质疏松的风险有关,该基因多态性有望与其他遗传标记一起来预测骨质疏松的风险。

【参 考 文 献】

- [1] Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*, 2002, 17: 1245-1255.
- [2] Chung HW, Seo JS, Hur SE, et al. Association of interleukin - 6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal women. *J Hum Genet*, 2003, 48: 243-248.
- [3] Jin H, van't Hof, RJ, Albagha OM, et al. Promoter and intron 1 polymorphisms of COL1A1 interact to regulate transcription and susceptibility to osteoporosis. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 2729-2738.
- [4] Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, et al. Polymorphisms of the VDR, ER and COL1A1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2000, 11: 583-591.
- [5] Gennari L, Merlotti D, De Paola V, et al. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 2005, 161: 307-320.
- [6] Brambila-Tapia AJ, Duran-Gonzalez, Sandoval-Ramirez L, et al. MTHFR C677T, MTHFR A1298C, and OPG A163G polymorphisms in Mexican patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis. *Dis Markers*, 2012, 32: 109-114.
- [7] Seremak-Mrozikiewicz A, Tatusko J, Drews K, et al. Polymorphism of osteoprotegerin gene and osteoporosis in postmenopausal women. *Ginekol Pol*, 2009, 80: 354-360.
- [8] Henrik L. Jørgensen, Philip Kusk, Bente Madsen, et al. Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the OPG promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios. *J Bone Miner Metab*, 2004, 22: 132-138.
- [9] 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.
- [10] Chun W, Zeng Zh, Hao Zh, et al. Susceptibility Genes for Osteoporotic Fracture in Postmenopausal Chinese Women. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2012, 27(12): 2582-2591.
- [11] 武兆忠, 刘敏. 低体重与护骨素基因启动子 T149C 和 A163G 多态性与骨质疏松的关系. *中华老年医学杂志*, 2006, 25(9): 645-650.
Wu ZZ, Liu M. The effect of low-body weight combined with T149C and A163G polymorphism of osteoprotegerin promoter region on osteoporosis. *Chin J Geriatrics*, 2006, 25(9): 645-650 (in Chinese).
- [12] 隋满姝, 那士平, 解汝娟, 等. 三个候选基因多态性与糖皮质激素性骨质疏松症关联的研究. *中国血液净化*, 2008, 7(2): 61-64.
Shui MM, Na SP, Xie RJ, et al. Relationship between the single nucleotide polymorphisms in three candidate genes and the glucocorticoid-induced osteoporosis. *Chin J Blood Purif*, 2008, 7(2): 61-64 (in Chinese).
- [13] 耿力. 女性骨质疏松症及相关基因研究 [D]. 重庆医科大学, 2008, 1-170.
Geng L. Study on female osteoporosis and polymorphisms of related genes [D]. Chongqing Medical University, 2008, 1-170 (in Chinese).
- [14] 李贤让. 护骨素基因多态性与老年男性骨质疏松症的关系. *山东医药*, 2009, 49(29): 71-72.
Li XR. Association between OPG genetic polymorphisms and osteoporosis in elderly men. *Shandong Med J*, 2009, 49(29): 71-72 (in Chinese).
- [15] 武兆忠, 刘敏, 冯鉴强. 护骨素基因启动子区 T950C 多态性与骨密度及骨代谢的关系. *中国老年学杂志*, 2005, 3(25): 247-250.
Wu ZZ, Liu M, Feng JQ. Relationship among single T950C mutation polymorphism in the promoter region of the osteoprotegerin gene, bone mineral density and metabolism. *Chin J Geriatrics*, 2005, 3(25): 247-250 (in Chinese).
- [16] 刘杰, 苗懿德, 张育军, 等. 绝经后妇女护骨素基因启动子区 T950C 基因多态性与骨密度的关系研究. *中国骨质疏松杂志*, 2010, 16(3): 184-187.
Liu J, Miao YD, Zhang YJ, et al. The study of the association between T950C gene polymorphism in the promoter region of osteoprotegerin and bone mineral density in postmenopausal women. *Chin J Osteoporos*, 2010, 16(3): 184-187 (in Chinese).
- [17] 陶燕华. OPG 基因 T950C、G1181C 多态性及血脂与绝经后女性骨密度及颈动脉粥样斑块形成的关系 [D]. 福建医科大学, 2011, 1-41.
Tao YH. Relationships between the OPG gene T950C and G1181C polymorphisms, blood lipids, BMD and carotid artery plaque formation in postmenopausal women [D]. Fujian Medical University, 2011, 1-41 (in Chinese).
- [18] Kim JG, Kim JH, Kim JY, et al. Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause*, 2007, 14: 913-918.
- [19] Lee YH, Woo JH, Choi SJ, et al. Associations between osteoprotegerin polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 227-234.
- [20] Liang G, Ke T, Quan ZX, et al. Association Between Seven Common OPG Genetic Polymorphisms and Osteoporosis Risk: A Meta-Analysis. *DNA and Cell Biology*, 2014, 33: 29-39.

(收稿日期: 2014-10-12)