

骨质疏松症的全基因组关联研究进展

曾海涛¹ 吴飞¹ 何启艇² 刘世清^{1*}

1. 武汉大学人民医院骨三科,湖北 武汉 430066

2. 武汉大学人民医院骨二科,湖北 武汉 430066

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 12-1623-04

摘要: 骨质疏松是以骨量减少、骨微观结构退化为特征的,骨脆性增加以及易于发生骨折的一种全身性骨骼疾病。骨质疏松症临床上较为常见,随着全球人口老龄化,其发病率越来越高,由于骨质疏松骨折具有相当大的发病率和死亡率,因此,探究骨质疏松的发病机制尤为重要。骨质疏松发病原因复杂,受遗传和环境因素相互影响,具有高度的遗传决定性。近几年,骨质疏松症全基因组关联研究(GWASs)取得了巨大进步,开启了骨质疏松症的遗传学研究新时代。本文对骨质疏松症的遗传流行病学及骨质疏松症全基因组关联研究的现状和展望进行综述。

关键词: 骨质疏松;骨密度;脆性骨折;全基因组关联;表观遗传学

Progress of the GWAS related to osteoporosis

ZENG Haitao¹, WU Fei¹, HE Qiting², LIU Shiqing^{1*}

1. The 3rd Department of Orthopaedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060

2. Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: LIU Shiqing, Email: wszht51888@126.com

Abstract: Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by reduced bone mass, degraded bone microstructure, and increased bone fragility. Osteoporosis is a clinically common disease, and with the aging trend of the world's population, its incidence rate is increasing. As osteoporotic fractures cause considerable morbidity and mortality, exploring the pathogenesis of osteoporosis is of particular importance. The etiology of osteoporosis is complex, which is influenced by both genetic and environmental factors. In recent years, the field of bone research has witnessed great progress of the whole genome association study (GWASs) of osteoporosis, which opens a new era in studying the genetics of osteoporosis. In this paper, the current status and prospects of research on the genetic epidemiology of osteoporosis and the whole genome association of osteoporosis were reviewed.

Key words: Osteoporosis; Bone mineral density; Brittle fracture; Genome-wide association; Epigenetics

骨质疏松症是由遗传因素和环境因素共同作用的慢性复杂性疾病,临床上较为常见,随着全球人口的老龄化趋势,其发病率越来越高。该病的临床诊断主要依靠测定骨密度(bone mineral density, BMD),骨质疏松及骨质疏松相关性骨折有高度遗传性,已有很多研究人员去识别该病的遗传因素^[1]。1992 年 Morrison 等^[2]最先报道维生素 D 受体(VDR)基因型与骨密度密切相关,至今已发现并报道大量与骨质疏松症相关的候选基因,但针对这些基因位点的研究成果仍存在争议。研究者开始尝试寻找使实验结果更加可信的新的实验技术和遗传

分析方法。全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)通过扫描人类整个基因组,找出对人类复杂疾病或者性状有一定影响的基因或基因组区域,它不再需要预先假设致病基因。过去几年,骨研究领域见证了骨质疏松症全基因组关联研究(GWASs)的巨大进步,开启了骨质疏松症的遗传学研究新时代。

1 骨质疏松症的遗传流行病学

Cummings 等^[3]研究显示母亲有髌部骨折史的妇女发生髌部骨折的概率是母亲无髌部骨折史妇女的 2 倍, Torgerson 等^[4]研究表明,这个比率高达 3.7 倍。Francois 等^[5]的研究也表明有骨质疏松症家族史的绝经前女性 BMD 较没有骨质疏松症家族史的

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81301052)

* 通讯作者: 刘世清, Email: wszht51888@126.com

绝经前女性低,特别是腰椎早期受影响明显。总的说来,BMD 有很高的遗传特性:约在 50% ~ 85% 之间。同时相关研究表明,与骨质疏松症及骨折风险相关的其他因素也和遗传有关,如体重指数、绝经年龄、骨转换率、年龄相关性骨丢失及骨量化超声等^[6]。虽然离散性分析已经确认骨质疏松症是一种多基因病,但迄今为止尚无研究能阐明 BMD 和骨代谢的具体遗传模式,而对编码参与骨代谢的蛋白质、激素和细胞因子等的诸多候选基因的多态性分析正试图深入该领域,以期在将来解决这个问题,在分子学水平上对骨质疏松症的临床防治奠定基础。

2 骨质疏松的基因相关研究

2.1 与骨密度变化和骨质疏松骨折相关的基因和位点

过去 20 多年里,研究者在骨质疏松症易感基因的定位方面一般采用基于家系或群体的候选基因法和基因组扫描法。候选基因法是先选择待测基因,确定多态性,再行等位基因相关研究和功能检测。通过此法发现的骨质疏松症易感基因有维生素 D 受体基因(VDR)、雌激素受体 1(ESR1)、I 型胶原(CoII)等。基因组扫描是利用 DNA 多态性标志(主要是微卫星位点 DNA)或消减杂交等策略,对基因组位点逐个进行筛查,检测与疾病相关的易感基因。其优势在于不需要了解和判断哪些是候选基因,BP2 基因的发现就是一个典型例子。关联分析是一种鉴别复杂疾病遗传基础的方法,通常用来比较来自同一群体中无亲缘关系的患病个体与非患病个体(对照)在等位基因频率分布上是否存在显著性差异,属于病例对照研究,因此研究者更趋向于关联分析。迄今为止,用 GWASs 和其荟萃分析已经确定了 60 多个与骨密度变化相关的基因位点以及超过 20 个与骨质疏松骨折相关基因位点。另外,近年出版的全基因组测序研究确定了一个发生在新型 LGR4 内的罕见无义突变与低骨密度和骨质疏松骨折密切相关^[7]。

2.2 骨质疏松候选基因的关联研究

GWASs 之前,科学家将候选基因关联研究(CGASs)广泛应用于确定在疾病发生发展中起重要作用的相关基因。在基因测序费用高居不下的时期,设计精良的 CGASs 加上已知的精确定位的骨质疏松基因位点显然是一个具有吸引力和有效确定新型易感基因或变异的途径。CGASs 的方法简单,但其常常产生虚假和不可复制的结果,另外样本的差

异特征包括种族、性别、年龄、绝经状态、在不同实验中也会产生不同的结果^[8]。

近年有 CGAS 尝试通过对来自 5 个国家的 19195 名欧洲人进行基于人口的基因标准化和表型定义的多中心研究,这项研究采用全基因组基因分型数据,但研究者将基因位点分析局限在对 150 个候选基因和 36016 个单核苷酸多态性的研究上。此项研究结果显示对骨密度的候选基因测试很少能在标准化表型和基因分型研究中大量重复^[9]。

3 骨质疏松骨折的全基因组关联研究

临床上将骨密度用于骨折危险因素的评价,这可以确定哪些患者需要进行骨折一级预防。可以说骨密度就是与临床上骨质疏松性骨折发生最相关的研究靶点,由于骨质疏松骨折具有相当大的发病率和死亡率,因此骨密度作为理解骨质疏松症引起骨折的途径和潜在的药物靶点的工具,将具有很大应用前景和价值。骨折与骨密度相比具有相当低的遗传性,并且随年龄增长而降低^[10],而骨折高发的年龄段恰恰是骨折遗传性最低的时候,要从低遗传年龄段人群中随机获取骨折病例进行基于人口的研究,具有很高的挑战性。为克服这种局限,针对年轻骨折患者的特定研究就要将对骨折危险因素的遗传多态性的调查做到尽可能全面,并尽可能找到新的骨折全基因组显性位点,即使只用很小的样本量^[11]。

大规模的 GWAS 研究结果的缺乏证明了这个问题,目前只有一个发表的 GWAS 用断裂作为搜索表型,在 SNP 家庭成员乙醛脱氢酶 7(A1ALDH7A1)与关联髌部骨折在一个全基因组显著水平,具有 2.25 高比值,并且是全基因组,提示中国和欧洲受试者的髌部骨密度有差异^[12]。该位点在任何 GEFOS 或在其他 GWASs 研究中都与 BMD 没有关联。

确定骨折遗传决定因素的另一种途径是首先通过 GWASs 识别与骨密度有关的基因位点,然后测试它们与骨折的相关性。虽然这种模式有自身的局限性,因为大多数遭受骨质疏松骨折的患者 BMD 并不低,但它能为骨质疏松性骨折这种常见疑难病提供研究参考。这种方法对与骨折相关的遗传位点的识别效果很好,特别是对高遗传性骨折,即使少数病例和对照也能产生全基因组的有意义的发现^[13]。

总的来说,GWASs 最有用的方面是能够识别此前在骨疾病中尚未发现的全新蛋白质,但对于骨折

风险的遗传学仍然知之甚少^[14]。未来大规模的研究应该从最具遗传性的年龄段的骨折病例中提出问题。根据最初的 GEFOS-2 证据显示一种有意增加样本量,该样本允许包含不同位点和不同骨折验证级别的包容性表型定义,可产生最大效应。如果是年龄依赖的遗传性骨折,那么研究最具遗传性的骨折将很可能极大地了解该疾病的机理。

4 骨密度的 GWASs 研究

GWASs 已阐明连锁研究对骨密度有关的区域识别力不足,这些常见变异的影响范围很小。值得注意的是,GWASs 大量基因组中仅有 5.8% 已经通过全基因组显著的 SNP 说明股骨颈骨密度的变异度,即使在 GEFOS-2-荟萃分析^[15]中也是如此。重要的是,随着样本容量增加新基因的影响范围逐渐减少(每个风险等位基因的等位基因作用在早期的研究中是-0.09 的标准差,在 GEFOS-2 中新等位基因标准差下降为-0.04)^[16]。

因此,GWASs 已经开始描述骨质疏松症等位基因的架构。常见变异体的微小效应可以通过大量研究得以复制,没有哪个基因位点能影响这种形状从而造成大规模变异,这些事实表明骨质疏松或者有极微量的等位基因架构,等位基因频率谱中的大量等位基因会在这里对骨质疏松产生微小的影响,又或者可以说很少的变异可以产生相当多的表型^[17]。毋庸置疑,范围更广、功能更强的 GWASs 将识别更多的新基因位点,但能被常见全基因组显著性 SNPs 解释的变异似乎很可能保持着较低的遗传率。尽管如此,骨质疏松症遗传学的总体目标不是为了解释它的遗传特性,而是促进临床治疗^[18]。

5 GWAS 的局限性

完整高效的 GWAS 研究要有足够的样本量和 SNPs 数目、先进的技术平台和严密的统计学方法。目前的 GWAS 仍偏向于高频多态性位点,尚不能检出个别罕见的多形性易感位点,这将有利于增加具有中度风险的常多态性位点的收集。目前,GWAS 依然处于早期阶段,很多结果尚不能完全一致,有待进一步重复验证。骨质疏松症被认为是基因与基因或(和)基因与环境共同作用而引起的,但目前 GWAS 还很少能考虑到基因与环境之间的相互影响。

GWASs 最终要落到 DNA 水平上的研究,并且从系统生物学的角度来研究复杂的人类疾病的方法

极其重要^[19]。基因表达是一个复杂的过程,由 DNA、RNA、蛋白质、表观基因和环境水平同步交互调节。因此一种整合了来自 GWASs、基因表达、蛋白质组学、表观基因组学、蛋白翻译后修饰和基因-环境研究的信息的基因融合或系统生物学方法可能有利于弄清骨质疏松及其骨折发病机制中的关键环节。Moayyeri 等^[20]利用系统的遗传分析方法,确定生理相关基因网络,并用它来发现新基因和参与成骨细胞谱系的细胞的功能调节机制。在另一项研究中,Deng 等^[21]通过整合 DNA、RNA 和蛋白水平的证据确定了 SOD2 是中国人骨质疏松症的一个易感基因。最后,对所识别变异的功能关联性需要通过体内和/或体外分子生物学研究来证实。

6 GWASs 的展望

近年骨质疏松症的 GWAS 成果令人欣慰,之前广泛研究的易感基因已被肯定,同时又发现很多新的基因和位点,但要想发现真正与骨质疏松症相关的 SNPs,GWAS 研究还需不断完善。相信随着基因芯片技术的发展,研究样本量的加大,多中心联合研究的开展,多种科研方法的综合应用,骨质疏松症基因学的“面纱”会被慢慢揭开。同时,相关基因的发现,通过研究阐述其可能的作用机制,将会使人们对该疾病及其发病机制有更进一步的认知。回首骨质疏松遗传学界对该病大规模的合作研究,未来的研究方向很可能集中在对罕见的表观遗传变异的骨质疏松研究上来^[22]。

【参 考 文 献】

- [1] Richards JB, Zheng HF, Spector TD. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(8):576-588.
- [2] Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, et al. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89(15):6665-6669.
- [3] Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med*, 1995, 332(12):767-773.
- [4] Torgerson DJ, Campbell MK, Thomas RE, et al. Prediction of perimenopausal fractures by bone mineral density and other risk factors. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(2):293-297.
- [5] Francois S, Benmalek A, Guaydier-Souquieres G, et al. Heritability of bone mineral density. *Rev Rhum Engl Ed*, 1999, 66(3):146-151.
- [6] Costantini A, Mäkitie O. Value of rare low bone mass diseases for osteoporosis genetics. *Minerva Pediatrica*, 2016, 5(28):

- 1215-1218.
- [7] Jin Y, Yang Y. LGR4: A new receptor for a stronger bone. *Science China Life Sciences*, 2016, 59(7):735-736.
- [8] Cheung CL, Sham PC, Xiao SM, et al. Meta-analysis of gene-based genome-wide association studies of bone mineral density in Chinese and European subjects. *Osteoporosis International*, 2012, 23(1):131-142.
- [9] Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F, et al. Collaborative meta-analysis: associations of 150 candidate genes with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Annals of Internal Medicine*, 2009, 151(8):528-537.
- [10] Lee SH, Cho EH, Ahn SH, et al. Prediction of Future Osteoporotic Fracture Occurrence by Genetic Profiling: A 6-Year Follow-Up Observational Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(3):1215-1224.
- [11] Styrkarsdottir U, Thorleifsson G, Sulem P, et al. Nonsense mutation in the LGR4 gene is associated with several human diseases and other traits. *Nature*, 2013, 497(7450):517-520.
- [12] Guo Y, Tan LJ, Lei SF, et al. Genome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis. *Plos Genetics*, 2010, 6(1):779-785.
- [13] Riancho JA, Olmos JM, Pineda B, et al. Wnt receptors, bone mass, and fractures: gene-wide association analysis of LRP5 and LRP6 polymorphisms with replication. *Eur J Endocrinol*, 2011, 164(1):123-131.
- [14] Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet*, 2012, 44(5):491-501.
- [15] Moayyeri A, Hsu YH, Karasik D, et al. Genetic determinants of heel bone properties: genome-wide association meta-analysis and replication in the GEFOS/GENOMOS consortium. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(11):3054-3068.
- [16] 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.
- [17] Visscher PM, Hill WG, Wray NR. Heritability in the genomics era—concepts and misconceptions. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(4):255-266.
- [18] Liu YJ, Zhang L, Papasian CJ, et al. Genome-wide Association Studies for Osteoporosis: A 2013 Update. *J Bone Metab*, 2014, 21(2):99-116.
- [19] Farber CR. Systems-level analysis of genome-wide association data. *G3 (Bethesda)*, 2013, 3(1):119-129.
- [20] Moayyeri A, Hsu YH, Karasik D, et al. Genetic determinants of heel bone properties: genome-wide association meta-analysis and replication in the GEFOS/GENOMOS consortium. *Human Molecular Genetics*, 2014, 23(11):3054-3068.
- [21] Deng FY, Lei SF, Chen XD, et al. An integrative study ascertained SOD2 as a susceptibility gene for osteoporosis in Chinese. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(11):2695-2701.
- [22] Delgado-Calle J, Fernandez AF, Sainz J, et al. Genome-wide profiling of bone reveals differentially methylated regions in osteoporosis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(1):197-205.

(收稿日期: 2016-04-20;修回日期:2016-04-26)

(上接第 1617 页)

- [36] 严晓苓, 魏丽杰, 王文雅, 等. 降钙素对白介素-1 β 诱导的大鼠软骨细胞炎症反应的作用. *解放军医药杂志*, 2015, 27(2):47-51.
- Yan XL, Wei LJ, Wang WY, et al. Effect of calcitonin on the inflammatory reaction in IL-1 β -induced chondrocytes in rats. *Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2015, 27(2):47-51. (in Chinese)
- [37] Karsdal MA, Bay-Jensen AC, Lories RJ, et al. The coupling of bone and cartilage turnover in osteoarthritis: opportunities for bone antiresorptives and anabolics as potential treatments?. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(2):336-348.
- [38] Herrero-Beaumont G, Roman-Blas JA. Osteoarthritis; osteoporotic OA: a reasonable target for bone-acting agents. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(8):448-450.
- [39] 朱华, 田发明, 张柳. 软骨下骨在骨性关节炎中的研究进展. *医学研究生学报*, 2014, 27(10):1095-1098.
- Zhu H, Tian FM, Zhang L. Research progress of subchondral bone in osteoarthritis. *J Med Postgrad*, 2014, 27(10):1095-1098. (in Chinese)
- [40] Ohta H, Solanki J. Incorporating bazedoxifene into the treatment paradigm for postmenopausal osteoporosis in Japan. *Osteoporos Int*, 2015, 26(3):849-863.
- [41] Ellis AG, Reginster JY, Luo X, et al. Bazedoxifene versus oral bisphosphonates for the prevention of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis at higher risk of fracture: a network meta-analysis. *Value Health*, 2014, 17(4):424-432.
- [42] Ellis AG, Reginster JY, Luo X, et al. Indirect comparison of bazedoxifene vs oral bisphosphonates for the prevention of vertebral fractures in postmenopausal osteoporotic women. *Curr Med Res Opin*, 2014, 30(8):1617-1626.
- [43] Henrotin Y, Sanchez C, Cornet A, et al. Soluble biomarkers development in osteoarthritis: from discovery to personalized medicine. *Biomarkers*, 2015, 20(8):540-546.
- [44] Mobasheri A, Henrotin Y. Biomarkers of (osteo) arthritis. *Biomarkers*, 2015, 20(8):513-518.
- [45] Jochems C, Islander U, Erlandsson M, et al. Role of endogenous and exogenous female sex hormones in arthritis and osteoporosis development in B10.Q-ncl1/mice with collagen-induced chronic arthritis. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, 11(1):284.
- [46] Xiao YP, Tian FM, Dai MV, et al. Are estrogen-related drugs new alternatives for the management of osteoarthritis?. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1):1-9.

(收稿日期: 2016-03-29;修回日期:2016-04-19)