· 综述 ·

非创伤性股骨头坏死的基因多态性研究进展

张恩景 廖文 蔡进奎 金捷 李章华*
武汉大学同仁医院(武汉市第三医院),湖北 武汉 430060

中图分类号:R68 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-7108(2018)04-0543-05

摘要:非创伤性股骨头坏死(non-traumatic osteonecrosis of femoral head,NONFH)是一类以髋关节疼痛、功能障碍进行性加重为主的疾病,严重危害人体健康,全世界的发病人数呈逐年上升趋势,但其具体发病机制仍不清楚。近年的研究表明,基因多态性分析有助于破解这一难题。本文综述了与 NONFH 相关的热点基因,旨在为 NONFH 的预防和治疗找到新的方法和途径。

关键词:非创伤性股骨头坏死;基因多态性;发病机制

Advance on the research of the relationship between genetic polymorphism and non-traumatic osteonecrosis of femoral head

ZHANG Enjing, LIAO Wen, CAI Jinkui, JIN Jie, LI Zhanghua*
Tongren Hospital of Wuhan University (Wuhan Third Hospital), Wuhan 430060, China
* Corresponding author: LI Zhanghua, Email: lzh999999@aliyun.com

Abstract: Non-traumatic osteonecrosis of femoral head (NONFH) is a debilitating disease characterized by hip joint pain and progressive impairment of physical function, which could severely damage human health. Currently the cases of ONFH are increasing worldwide, while its pathogenesis remains insufficiently understood. Recent research indicated that genetic polymorphism analysis may constitute a promising strategy to address this challenging problem. This review highlights recent advances on the relationship between the genetic polymorphism and ONFH, with the aim of finding new solution to the prevention and treatment of NONFH.

Key words: Non-traumatic osteonecrosis of femoral head; Genetic polymorphism; Pathogenesis

非创伤性股骨头坏死(non-traumatic osteonecrosis of femoral head,NONFH)是各种非创伤因素破坏了股骨头的血供导致股骨头缺血、坏死、塌陷,常导致严重髋关节功能障碍的一类疾病[1]。它的年发病率在欧洲为 3/100000,在亚洲地区为 29/100000[2]。该病多发于青壮年时期,男性多于女性,致残率较高,影响患者生活质量,NONFH 已经成为世界性的健康问题[3-5]。NONFH 机制复杂,目前形成了骨质疏松、脂肪代谢紊乱和血管内凝血等多种学说,各学说均无法完全解释 NONFH 的具体发病机制。但比较公认的是,在脂肪代谢及其他骨内代谢环境紊乱、血管内血液高凝等多种因素作用下导致骨内微循环障碍可引起 NONFH。

由于人类基因组序列中多态性的类型、表型、发生频率及在人群中的分布特点构成了不同个体与群体对疾病的易感性、对药物与环境因素不同反应的遗传学基础。基因的多态性解释了为什么人体对疾病和药物的易感性、耐受性和疾病的症状存在个体差异,认识和掌握基因多态性与疾病发生、发展关系,有助于人类更好地诊断和治疗疾病。

基因多态性分析包括单核苷酸多态性和限制性片段长度多态性两个方面。由于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)能够充分反映个体间的遗传差异,通过基因易感性分析,能够确定 NONFH 易发人群,提醒他们改变生活和饮食习惯,预防 NONFH 发生。此外,SNP 分析还有利于诠释不同患者药代学和药效学的遗传差异,协助医生需要考虑到不同患者存在不同遗传背景,从而制定个体化治疗方案,施行个性化用药。限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,

基金项目:国家自然科学基金(81472103,81071463);湖北省自然科学基金重点项目(2015CFA079);武汉市科技局应用基础研究计划项目(2015061701011626)

* 通讯作者:李章华,Email:lzh999999@aliyun.com

RFLP)分析是进行基因定位的有力手段,对 NONFH 等遗传性疾病的早期诊断也有良好的应用价值。通过 SNP 和 RFLP 分析,人们发现 NONFH 患者往往伴随凝血因子、一氧化氮合成酶、跨膜蛋白、载脂蛋白和胰岛素样因子的基因变异。这些基因是目前研究较多的 NONFH 易感基因,通过这些基因和 NONFH 的相关性研究,有助于 NONFH 治疗效果的提高。

1 凝血因子相关基因

机体凝血功能相关分子的基因多态性可用于股骨头缺血性坏死高危人群筛查,通过筛查它的多态性可为 ONFH 的早期诊断和治疗提供理论依据。纤溶酶原激活物抑制剂基因(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)和亚甲基四氢叶酸还原酶基因(methylenetetrahydrofolatereductase, MTHFR)是目前研究最多的与凝血相关的 2 个主要基因。PAI-1 能抑制内源性纤溶酶原激活物,维持纤维蛋白稳定、刺激纤维蛋白在血管壁沉积和促进平滑肌细胞增生,对于平衡纤溶和凝血系统发挥决定作用。PAI-1 水平升高是血液高凝状态的显著性标志。PAI-1 基因中 4G/4G 基因型在 ONFH 患者中的比例远远大于正常对照组中的比例,4G/4G 基因型突变引起的低纤溶酶原状态可能是 ONFH 发病的原因[6]。而陈研平等[7]通过 Meta 分析发现 PAI-1 基因 4G/5G 多态性与 NONFH 的易感性增加有关。Gagala 等[8]研究了 68 例 NONFH 波兰患者,其中特发性 45 例、继发性 23 例,并与 100 个健康人对照。结果显示,在波兰人群中血栓形成倾向不是 NONFH 发生的风险因子;而遗传性低纤溶状态与 ONFH 发生关系更为密切。Zhang 等[9]认为 PAI-1 基因中 rs2227631 单核苷酸多态性与固醇类激素诱导的 ONFH 有关,这个基因的变异是该病发生关键因素。这些结果都进一步说明 PAI-1 基因多态性与 ONFH 发生具有相关性。

MTHFR 是产生高同型半胱氨酸的前体,它大大增加了血栓形成的风险,ONFH 患者往往伴随 MTHFR 基因变异,MTHFR 基因中 rs1801133 存在多态性[10]。然而也有学者[11]认为 MTHFR 基因 rs1801133 的单核苷酸多态性与 NONFH 发生并无内在联系。对 MTHFR 基因中 C677T 多态性的研究也存在不同的观点,Kim 等[12]选取了更大的样本,运用无条件的逻辑回归模型与单倍型分析,没有发现二者的相关性。Kim 和 Chang 的研究结果存在差异,说明多态性与地域、种族、样本量大小相关。

2 一氧化氮合成酶相关基因

血管内皮细胞一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)是合成一氧化氮(NO)的关键酶。eNOS 基因缺陷可增加血小板聚集,降低内皮细胞运动,使血管发生受损,降低骨的再生能力[13,14]。Koo 等[15]在 2006 年首次报道了韩国人中 eNOS 基因多态性与 ONFH 发生存在密切关系。他们选取 103 例 NONFH 患者,包括 50 例特发性、29 例激素性和 24 例酒精性 NONFH 患者,并与 103 个健康人对照,结果发现 4 a 等位基因出现频率明显高于对照组,在特发性 NONFH 中,4 a/b 基因型出现频率明显高于对照组。Zheng[16]领导的课题组发现 eNOS 因多态性是 NONFH 发生的风险因素,其内含子 4 中的 27 bp 重复序列多态性及外显子 7 中 G894T 多态性都能抑制内皮型 eNOS 活性,可诱发特发性 NONFH。Zhao 等[17]研究也证实了上述结论。Wang 等[18]建议提高诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达,能诱导 ONFH 患者骨细胞凋亡,抑制 ONFH 病情恶化。Song 等[19]针对亚洲人群比较其 eNOS 基因中关键序列 4b/a、G894T 和 T786C 多态性,通过 Meta 分析表明,4b/a 多态性与特发性和继发性 NONFH 有关,而 G894T 和 T786C 多态性与 NONFH 的发生关联性较小。由于已有研究的样本量均不够大,所以尚不能得出 eNOS 基因多态性和 NONFH 发生存在必然关联。

3 跨膜蛋白相关基因

P-糖蛋白(p-glycoprotein, P-gp)是一种膜转运蛋白,在药物吸收和分布中起重要作用,P-gp 又称多重耐药基因(multidrug-resistant transporter-1, MDR1),能把底物从胞内排到到细胞外[20]。被 ABCB1 基因编码,且具有多个 SNP 位点。它使细胞内药物泵出细胞外,降低了细胞内的药物浓度,使细胞产生耐药性。

大量服用激素增大股骨头缺血性坏死的风险,但个体对激素的敏感性也有显著差异。针对日本 136 例接受肾移植术病人的调查[21]获悉,P-糖蛋白在这些病人当中活性较高,某些特殊组织细胞内激素的浓度偏低,其中 30 例发生股骨头缺血性坏死病人的多重耐药基因 ABCB1 第 26 位外显子的 C3435T 和第 21 位外显子的 G2677T/A 基因多态性

比例非常低,3435T 和 3435C 等位基因分别与 2677T 和 26HG 等位基因存在不平衡联接。C3435T 和 G2677T/A 基因多态性是诊断激素相关性股骨头缺血性坏死的重要指标。

Fan 等[22]研究了来自中国的 662 个样本,分析 MDR1 基因中 C1236T、G2677T/A 和 C3435T 的 SNP,发现 C3435T 的 SNP 与中国人群中 NONFH 的发生有关,其他两者与 NONFH 发病无关。Zhang 等[23]研究也认同 C1236T 的多态性与 NONFH 发生不相关,而 C3435T 的 SNP 与 NONFH 相关联。Bai[24]和 Qiao[25]各自独立的实验都证实了 ABCB1 基因的 rs1045642 多态性对 NONFH 起保护作用;rs2032582 多态性也被 Bai 等认为是 NONFH 保护因子。

4 载脂蛋白相关基因

脂类代谢紊乱易引发 NONFH,不合理服用糖皮质激素引起体内血脂升高,脂肪分解加快,血中游离脂肪酸浓度高。高脂血症会使血液粘度增加,甘油三酯和胆固醇在血管内堆积,导致血管内缺血,引起微循环障碍,最终形成 NONFH。载脂蛋白 A 和载脂蛋白 B 作为脂类代谢的重要蛋白,其基因多态性也与 NONFH 发生相关。Liu 等[26]发现 Apo A1 启动子-75 bp 位点的 G/A 突变可能是 ONFH 的易感因素之一。Hirata[27]研究表明发生股骨头缺血性坏死患者中 ApoB 的 C7623T 基因多态性和 ApoB/ApoAl 概率较高,而 ApoB 的 G12 619 A 基因多态性与 ApoAl 的 G75 A 和 C83T 基因多态性以及 Lp(a)的基因多态性均与 NONFH 的发生没有联系。以往研究发现[28],NONFH 伴随脂质代谢异常,血脂浓度偏高,与长期酗酒[29]和服用激素有关。服用降血脂药物可对长期服用激素药物的 NONFH 患者提供保护作用。

5 胰岛素样因子的相关基因

胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors,IGF1),跟胰岛素在结构上类似,主要在肝细胞中合成,是骨代谢的主要参与者,能有效地促进骨细胞的有丝分裂和软骨细胞功能分化、增殖及其基质的形成,促进骨生长与修复[30]。Maimoun 等[31]报道 IGF1 基因中的 rs2946834 和 IGFBP3 中的 rs924140 多态性都能增加 NONFH 发生风险。IGF1 跟糖尿病关系密切,糖尿病患者的 IGF1 的水平偏低,股骨头坏死也是其典型的并发症,因此考察 NONFH 与糖尿病以及胰岛素基因多态性之间的联系也有助于了解糖尿病性 NONFH 发病的病因。

6 SOX9 基因

SOX9 基因是 SOX 基因家族的一个重要成员,调节软骨形成和软骨细胞的增殖和发育,在哺乳动物性别决定和软骨生成中起着关键的调控作用。

Zhang 等[32]选择了中国北方的 182 个 NONFH 病人,并与 179 个健康者做对照,发现这些病人中的 SOX9 蛋白表达量明显比正常人低,SOX9 基因表达多态性与 ONFH 发生有显著关系,据此他们推测 SOX9 基因是治疗 ONFH 潜在的靶点。Zhang 等[33]在 NONFH 动物模型中发现,在 HIF - 1α 通过促进 SOX9 表达,加快 NONFH 软骨代谢,阐明 SOX9 基因在 HIF-1α 信号通路中的作用,或许能洞悉 SOX9 基因在 NONFH 病因学中的角色。

以往的研究也表明[34],SOX9 在 ONFH 发展过程中能促进软骨修复,SOX 蛋白缺失可能会破坏骨形成机制,进一步探索 SOX9 基因与其他生物分子或环境因素的相互作用,追溯 SOX9 基因变异的根源有助于认识 SOX9 基因与 ONFH 发生之间的联系。

7 展望

综上所述,NONFH 是一类多基因相关疾病,与环境因素密切相关,发病机制复杂。目前 ONFH 基因多态性的研究已有较大进展,但仍需要进一步发展和完善高通量多态性评价的实验平台,并对筛选的大样本和多种族及多地域相关多态性进行深入研究。当前的基因多态性研究应该紧密结合临床,根据 ONFH 的病理生理特征,寻找候选基因,分析其多态性与症状之间的联系,为从分子水平认识它的临床表型本质奠定基础,也为进一步了解 ONFH 发病机理提供依据。代谢组学的蓬勃发展有希望实现对 ONFH 的早期诊断,能从血清中寻找并发现有价值的特异性标志物作为 ONFH 诊断标准[35]。通过基因组、蛋白组和转录组等技术,对于大样本人群与 ONFH 进行生物标记物的分析与鉴定、验证与应用,从而精确寻找 ONFH 的原因和治疗靶点,并有助于指导 NONFH 药物的设计和发现以及提高疾病诊治与预防的效果,也有助于实现对患者进行个体化精准治疗。

【 参 考 文 献 】

[1] Seamon J, Keller T, Saleh J, et al. Effect of collapse on the

deformity of the femoral head-neck junction in osteonecrosis of the femoral head. Arch Orthop Trauma Surg, 2017, 137(7): 933-938.

[2] Pascart T, Falgayrac G, Migaud H, et al. Region specific Ramanspectroscopy analysis of thefemoral head reveals thattrabecular bone is unlikely tocontribute to non-traumaticosteonecrosis. Sci Rep, 2017, 7(1): 97.

[3] Zhang H, Xiao F, Liu Y, et al. A higher frequency ofperipheral blood activated B cells in patients with non-traumaticosteonecrosis of the femoral head. International Immunopharmacology, 2014, 20(1): 95-100.

[4] Mont MA, Cherian JJ, Sierra RJ, et al. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: where do we stand today? A ten-year update. J Bone Joint Surg Am, 2015, 97(19): 1604-1627.

[5] Zhao D, Yu M, Hu K, et al. Prevalence of nontraumaticosteonecrosis of the femoral head and its associated risk factors in the Chinese population: results from a nationally representative survey. Chin Med J (Engl), 2015, 128(21): 2843-2850.

[6] Kang JS, Park S, Song JH, et al. Prevalence of osteonecrosisof the femoral head: a nationwide epidemiologic analysis in Korea. J Arthroplasty, 2009, 24(8): 1178-1183.

[7] 陈研平, 高泓一. PAI-1 基因 4G/5G 多态性与股骨头坏死易感性关联的 Meta 分析. 骨科, 2014, 5(3): 190-192.
Chen YP, Gao HY. Meta-analysis on the correlation between susceptible PAI-1 gene 4G/5Gpolymorphismand osteonecrosis of the femoral head. Orthopaedics, 2014, 5(3): 190-192. (in Chinese)

[8] Gagala G, Buraczynska M, Mazurkiewicz T, et al. Prevalence of genetic risk factors related withthrombophilia and hypofibrinolysis in patientswith osteonecrosis of the femoral head in Poland. BMC Musculoskeletal Disorders, 2013, 14(1): 1-7.

[9] Zhang Y, Wang R, Li S, et al. Genetic polymorphisms in plasminogen activatorinhibitor-1 predictsusceptibility to steroid-inducedosteonecrosis of the femoral head in Chinesepopulation. Diagnostic Pathology, 2013, 8:169.

[10] Mager A, Battler A, Bimbaum Y, et al. Plasma homocysteine Methylene tetrahydrofolatereductase genotypes, and age at onset of sympotoms of myocardial ischemia. Am J Cardiol, 2002, 89: 919-923.

[11] Chai W, Zhang Z, Ni M, et al. Genetic association between methylenetetrahydrofolatereductase gene polymorphism and risk of osteonecrosis of the femoral head. Biomed Res Int, 2015, 2015(3): 196495.

[12] Kim TH, Hong JM, Kim HJ, et al. Lack of association of MTHFR gene polymorphisms with the risk of osteonecrosis of the femoral head in a Korean population. Mol Cells, 2010, 29(4): 343-348.

[13] Abdel-AzizTA, MohamedRH. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with classical risk factors in development of premature coronary artery disease. Molecular Biology Reports, 2013, 40(4): 3065-3071.

[14] Gellman MD, Turner JR. Endothelialnitric oxide synthase (eNOS). Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 26(2): 267-271.

[15] Koo KH, Lee JS, Lee YJ, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in patients with nontraumatic femoral head osteonecrosis. J Orthop Res, 2006, 24(8): 1722-1728.

[16] Zheng L, Wang W, Ni J, et al. The association of eNOS gene polymorphism with avascular necrosis of femoral head. PLoS One, 2014, 9(2): e87583.

[17] Zhao Y, Liao S, Lu R, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with Legg-Calvé-Perthes disease. Exp Ther Med, 2016, 11(5): 1913-1917.

[18] Wang J, Kalhor A, Lu S, et al. iNOS expression and osteocyte apoptosis in idiopathic, nontraumaticosteonecrosis. Acta Orthopaedica, 2015, 86(1): 134-141.

[19] Song GG, Lee YH. Association of eNOS polymorphisms with susceptibility to osteonecrosis of the femur head: a meta-analysis. Z Rheumatol, 2017, 76(3): 267-273.

[20] Kadioglu O, Saeed ME, Valoti M, et al. Interactions of human P-glycoprotein transport substrates and inhibitors at the drug binding domain: Functional and molecular docking analyses. Biochem Pharmacol, 2016, 104: 42-51.

[21] Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, et al. ABCB1 C3435T and G2677T/Apolymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosisof the femoral head after kidney transplantation. Pharmacogenetics, 2003, 13(11): 675-682.

[22] Xue Y, Zhao ZQ, Hong D, et al. MDR1 gene polymorphisms are associatedwithglucocorticoid-induced avascular necrosis of the femoral head in a Chinese population. Genet Testing & Molecular Biomarkers, 2014, 18(3): 196-201.

[23] Zhang Z, Li Y, Liu H, et al. ABCB1 polymorphisms associated with osteonecrosis of the femeral head. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11): 15240-15244.

[24] Bai R, Na Y, LiuW, et al. Quantitative assessment of ABCB1 polymorphisms and non-traumatic osteonecrosis of the femur head risk. Int J Clin Exp Med, 2016, 9(11): 21542-21548.

[25] Qiao G, Han W, Wang D, et al. Association of ABCB1 polymorphismswith osteonecrosis of the femoral head risk. Int J Clin Exp Pathol, 2016, 9(2): 2247-2252.

[26] Yin JM, Liu Z, Zhao SC, et al. Relationship between the Apolipoprotein AI, B gene polymorphism and the risk of non-traumatic osteonecrosis. Lipids Health Dis, 2014, 13:149.

[27] Hirata T, Fujioka M, Takahashi KA, et al. ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. Orthop Sci, 2007, 12(3): 199-206.

[28] Powell C, Chang C, Gershwin ME. Current concepts on the pathogenesis and natural history of steroid-induced osteonecrosis. Clin Rev Allergy Immunol, 2011, 41(1): 102-113.

(下转第 551 页)

hFOB 1.19. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2015, 61(1): 7-14.

[18] Zhang W, Dong R, Diao S, et al. Differential long noncoding RNA/mRNA expression profiling and functional network analysis during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 30-43.

[19] Tong X, Gu PC, Xu SZ, et al. Long non-coding RNA-DANCR in human circulating monocytes: A potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(5): 32-37.

[20] Hao L, Fu J, Tian Y, et al. Systematic analysis of lncRNAs, miRNAs and mRNAs for the identification of biomarkers forosteoporosis in the mandible of ovariect-omized mice. Int J Mol Med, 2017, 40(3): 689-702.

[21] Chen Zhang, Cassandra Lynn Miller, Edward M. Brown, et al. The calcium sensing receptor: from calcium sensing to signaling. Science China Life Sciences, 2015, 58(1): 14-27.

[22] 陈娟,谢丽华,李生强,等. lncRNA 在绝经后骨质疏松症肾阴虚证中的表达特征及调控网络分析. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(5): 553-559.
Chen J, Xie LH, Li SQ, et al. Expression characteristics and regulatory network of lncRNA inpostmenopausal women with kidney yin deficiency syndrome Analysis. Chin J Osteoporos, 2015, 21(5): 553-559. (in chinese)

[23] Hadji F, Boulanger MC, Guay SP, et al. Guay SP1 Altered DNA Methylation of Long Noncoding RNA H19 in Calcific Aortic Valve Disease Promotes Mineralization by Silencing NOTCH1. Circulatio, 2016, 134(23): 1848-1862.

[24] Liu Y, Li G, Zhang JF. The role of long non-coding RNA H19 in musculoskeletal system: A new player in an old game. Exp Cell Res, 2017, 7(17) 30477-30482.

(收稿日期: 2017-09-28; 修回日期: 2017-11-02)

(上接第 546 页)

[29] 徐小文, 王亮, 马远征, 等. 男性酒精性股骨头坏死骨密度及血清 25 羟维生素 D 水平研究. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(5): 570-573.
Xu XW, Wang L, Ma YZ, et al. Study of bone mineral density and 25-OH vitamin D level in male patients with alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head. Chin J Osteoporos, 2015, 21(5): 570-573. (in Chinese)

[30] Wei W, Wei B, Liu X, et al. IGF-1 and IGFBP-3 polymorphisms predict risk fornon-traumatic osteonecrosis of the femoral head. Int J Clin Exp Pathol, 2016, 9(11): 11928-11935.

[31] Maïmoun L, Coste O, Galtier F, et al. Bone mineral density acquisition in peripubertal female rhythmic gymnasts is directly associated with plasma IGF1/IGF-binding protein 3 ratio. Eur J Endocrinol, 2010, 163(1): 157-164.

[32] Song Y, Du Z, Ren M, et al. Significant associations of SOX9 gene polymorphisms and gene expression with the risk of osteonecrosis of the femoral head in a han population in northern China. Bio Med Research International, 2016, 35(12: 836-844.

[33] Zhang C, Yang F, Cornelia R, et al. Hypoxia-inducible factor-1 is a positive regularor of Sox9 activity in femoral head osteonecrosis. Bone, 2011, 48(3): 507-513.

[34] Adesida AB, Mulet S, Jomha NM. Hypoxia mediated isolation and expansion enhances the chondrogenic capacity of bone marrow mesenchymal stromal cells. Stem Cell Res Ther, 2012, 3(2): 1-13.

[35] Xu Z, Xu K, Ding S, et al. Serum metabolomic study for detecting biomarkers of nontraumaticosteonecrosis of the femoral head. Metabolomics, 2017, 13(6): 73.

(收稿日期: 2017-09-19; 修回日期: 2017-10-26)