

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00667

## 基因多态性与脊柱后纵韧带骨化病发病机制的研究进展

赵永飞<sup>△</sup>, 吴大江<sup>△</sup>, 李 明<sup>\*</sup>

第二军医大学长海医院骨科, 上海 200433

**[摘要]** 后纵韧带骨化(ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL)是临床常见脊柱疾患,好发于颈椎,主要表现为神经压迫症状,严重损伤患者健康。其发病机制尚不明确,与遗传因素、基因多态性、机械刺激、代谢异常等多种因素有关,可能是多基因、多因素导致的疾病。该病具有鲜明的遗传特性,与多个基因单核苷酸多态性位点的改变相关。因此,本文就其发病相关基因(COL11A2、BMP-2、TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_3$ 、NPPS、COL6A1、Runx2)的多态性研究进展作一综述,为后续研究奠定基础。

**[关键词]** 后纵韧带骨化;基因;单核苷酸多态性

**[中图分类号]** R 686.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2010)06-0667-03

### Single nucleotide polymorphisms and ossification of posterior longitudinal ligament: recent progress

ZHAO Yong-fei<sup>△</sup>, WU Da-jiang<sup>△</sup>, LI Ming<sup>\*</sup>

Department of Orthopaedics, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL) is common clinical spinal disorders often occurring in the cervical spine, with the main symptom being nerve compression. The specific mechanism of OPLL remains unclear, but genetic factors, single nucleotide polymorphisms (SNPs), mechanical stimulation, metabolism abnormality might be involved in the etiology of the disease. Multiple genetic and environmental factors may contribute to the development of OPLL. OPLL has prominent genetic characteristic, and it is associated with SNPs of several genes. Here we review the SNPs of several genes (COL11A2, BMP-2, TGF- $\beta_1$ , TGF- $\beta_3$ , NPPS, COL6A1 and Runx2) which contribute to the development of OPLL, hoping to lay a foundation for future study.

**[Key words]** ossification of posterior longitudinal ligament; gene; single nucleotide polymorphism

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(6):667-669]

后纵韧带骨化(ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL)属于常见脊柱疾病,65岁以上亚洲人发病率可达20%~34%<sup>[1-2]</sup>,好发于颈椎,压迫脊髓神经根,导致神经功能障碍,引起一系列临床表现,严重损伤患者健康。OPLL发病机制尚不明确,病因较复杂,可能与遗传因素、基因多态性、机械刺激、炎症因素、代谢异常等多种因素有关。该病具有鲜明的遗传特性,与多个基因单核苷酸多态性(SNP)位点的改变显著相关。因此,本文就OPLL发病相关基因多态性作一综述,为后续深入探讨其发病机制奠定基础。

### 1 OPLL的遗传特征

1981年日本人颈椎OPLL患者直系亲属与其他亲属的OPLL发病率分别为23%和22%,而普通人群仅为3.7%<sup>[3]</sup>。这表明颈椎OPLL有基因遗传基础。因调查人群中兄弟姐妹间种族隔离率为0.26,大于隐性特性的理论最大值0.25,故推测其为显性遗传。Terayama<sup>[4]</sup>调查了347个OPLL患

者家庭,共1030个家庭成员,发现影像学表现为OPLL的患者父母达26.5%,兄妹中发现OPLL的占28.89%,符合常染色体显性遗传特点。Hamanishi等<sup>[5]</sup>的调查结果表明,OPLL可能具有常染色体隐性遗传特征,所调查家庭中的3个亲姐妹都患有OPLL,父亲疑似OPLL,其父母为表兄妹。由于缺少第1代、第2代的影像学证据,故该家庭OPLL显性遗传的可能性不能完全排除。

### 2 OPLL与HLA基因

Sakou等<sup>[6]</sup>对33个OPLL家庭进行的HLA单倍型频率研究发现,患者兄妹中双HLA单倍体的56%表现出OPLL,而那些单HLA单倍体的兄妹无一人患病。Matsunaga等<sup>[7]</sup>对24例颈椎OPLL患者的家庭成员进行研究,发现带有较多HLA单倍体的家庭成员OPLL发病率较高;若HLA单倍型为双线性,OPLL发生率为53%(10/19);若为单线性单倍体,发生OPLL的比例为24%(5/21);若无HLA

**[收稿日期]** 2010-01-10 **[接受日期]** 2010-03-05

**[作者简介]** 赵永飞,博士。E-mail: lakezyf@hotmail.com; 吴大江,硕士。E-mail: dajiangdajiang@hotmail.com

<sup>△</sup>共同第一作者(Co-first authors).

<sup>\*</sup> 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873387, E-mail: limingch@21cn.com

单倍体,OPLL发生率为4.8%(1/21)。

### 3 OPLL发病候选基因多态性

3.1 COL11A2基因 胶原11A2(COL11A2)基因位于6号常染色体的II型组织相容性复合物上,调控II型胶原 $\alpha 2$ 链的表达<sup>[8]</sup>。进一步对双胞胎6号染色体HLA区域进行配对研究,发现编码胶原X I  $\alpha$ 的COL11A2基因与OPLL发病相关,证明COL11A2基因可能是OPLL的易感基因<sup>[8]</sup>。Maeda等<sup>[9]</sup>研究发现,OPLL患者COL11A2基因的内含子6的单核苷酸与正常人群有明显差异;还发现COL11A2基因内含子6的1个SNP在男女性之间有显著差异,而OPLL患者中男女比例约为2:1,该因素是否会造成OPLL发病的性别差异有待进一步研究。

3.2 BMP-2基因 Kawaguchi等<sup>[10]</sup>对OPLL组织进行病理学研究,结果发现骨形态发生蛋白表达于骨化后纵韧带相邻的软骨灶骨化基质和软骨细胞中,而且在异位骨化过程中激发间叶原始细胞分化。这说明BMP-2基因对于OPLL的发病有调控作用。Wang等<sup>[11]</sup>研究发现BMP-2基因中的Ser37Ala和Ser87Ser SNP与中国人OPLL遗传易感及严重程度相关。他们发现Ser37Ala(T/G)SNP与OPLL的发生明显相关,与骨化范围和严重程度无关;Ser87Ser(A/G)SNP与骨化范围和严重程度明显相关,而与OPLL发生率无关。该研究证实,BMP-2基因不仅与OPLL发生有关,也与其进展和严重程度有关。其中,Ser37Ala(T/G)SNP中的G等位基因与OPLL发生率相关;Ser87Ser(A/G)SNP中的G等位基因促进骨化进展,而A等位基因限制骨化进展。

3.3 TGF- $\beta_1$ 基因 Kawaguchi等<sup>[10]</sup>研究也发现,TGF- $\beta_1$ 表达于骨化后纵韧带相邻的软骨灶骨化基质和软骨细胞中,在骨化过程中刺激骨的形成。这说明TGF- $\beta_1$ 基因与骨化形成范围有关。Kamiya等<sup>[12]</sup>用等位基因特异性聚合酶链反应法对319例没有亲属关系的日本人进行TGF- $\beta_1$ 基因分型研究,其中OPLL患者46例,对照组273例,多元回归分析显示OPLL患者该位点是C等位基因的比例远高于对照组,表明TGF- $\beta_1$ 基因的T869位点上C等位基因是OPLL遗传易感性的危险因素。

3.4 TGF- $\beta_3$ 基因 Horikoshi等<sup>[13]</sup>对711例OPLL患者和896例对照组人群进行分析研究,对35个候选基因共109个SNPs进行分析,结果发现3个基因的5个SNPs与OPLL相关,其中TGF- $\beta_3$ 基因的1个内含子SNP(IVS1-1284G>C)与疾病最为密切相关。此外,进一步基于性别、年龄、骨化椎体的分层研究亦未显示出有明显关联。结果表明,TGF- $\beta_3$ 基因值得进一步研究,因为该基因位于与OPLL强相关的基因区域内。

3.5 NPPS基因 核苷酸焦磷酸酶(NPPS)基因的蛋白产物是一种膜结合酶,该酶可促进焦磷酸盐的生成,从而抑制软骨钙化和骨矿化。Okawa等<sup>[14]</sup>沉默直立鼠(tip-toe walking mouse)的NPPS基因,使超过1/3的NPPS基因表达丢失,发现其后纵韧带产生异位骨化,这可能与焦磷酸盐水平降低有关。结果表明NPPS基因可能是OPLL的易感基因。NPPS基因有3种亚型(NPP1~3),其中NPP1基因位于6

号常染色体上,与OPLL发病相关。Goding等<sup>[15]</sup>研究发现NPP1酶在骨和软骨细胞中高表达,说明NPP1酶与成骨关系密切。Koshizuka等<sup>[16]</sup>研究确定NPP1基因多态性对OPLL的发病具有特异性。Tahara等<sup>[17]</sup>研究发现NPP1基因的1个内含子在颈胸部OPLL患者出现的频率较高,而在单纯颈椎OPLL患者中未见明显改变,这说明NPP1基因与OPLL的进展有关。

3.6 COL6A1基因 Tanaka等<sup>[18]</sup>对日本人群OPLL患者的基因组应用GENE-HUNTER-PLUS进行多点连锁分析,发现染色体1p、6p、11q、14q、16q、21q与疾病相关,其中21号染色体相关性最强。对21号染色体SNP的进一步分析,发现有7个基因与疾病相关,而其中有4个基因(COL18A1、PCBP3、COL6A1、COL6A2)位于750 kb的区域内。进一步的连锁不平衡分析发现,COL6A1基因的SNPs与OPLL相关性最强。Tsukahara等<sup>[19]</sup>采用直接测序法对COL6A1基因上的7个SNP进行了基因分型,将与OPLL患者有关的COL6A1等位基因频率,在97例日本弥漫性特发性骨肥大症(diffuse idiopathic skeletal hyperostosis, DISH)患者及298例日本对照组间进行比较,同时在96例捷克DISH患者及96例捷克对照组间进行比较,发现COL6A1的内含子32(-29)SNP与日本DISH患者显著相关,而与捷克DISH患者没有明显相关,从而提示该基因与日本人群的OPLL与DISH发病相关,是导致脊柱韧带异位骨化的重要基因。

Kong等<sup>[20]</sup>于2007年针对中国汉族人群OPLL与黄韧带骨化(ossification of ligamentum flavum, OLF)患者的COL6A1 SNP研究发现,在该基因的4个已知SNPs位点中,启动子(-572T)的等位基因频率在OPLL组及OLF组要明显高于对照组;启动子(-572)、内含子32(-29)及内含子33(+20)的总单体型频率,OPLL与OLF组均与对照组显著不同。该研究提示COL6A1基因可能是中国汉族人群脊柱韧带骨化的易感基因。

3.7 Runx2基因 Runx2基因是间充质干细胞向成骨细胞分化的特异性转录调节因子<sup>[21]</sup>。Runx2基因对成骨细胞、破骨细胞的分化和成熟,细胞外基质的生成,成纤维细胞生长因子(FGF)、 $\beta$ 转化生长因子(TGF- $\beta$ )、血管内皮生长因子(VEGF)的表达,甲状旁腺激素(PTH)的分泌及力学信号向生物学信号转导都有重要的调控作用。Kishiya等<sup>[22]</sup>应用DNA微阵列检测Runx2基因表达,发现韧带骨化症患者Runx2基因表达增强。他们将骨化的后纵韧带细胞进行体外培养,然后应用RNAi抑制Runx基因的表达,发现骨化细胞促血管生成素-1表达明显下调,而正常细胞的表达没有明显差异,提示促血管生成素-1在脊柱韧带异位骨化过程中也起重要作用。

## 4 总结及展望

上述与OPLL相关的基因均具有一共同特点——对骨的代谢与调节都有重要的作用。BMP-2基因与OPLL关系更为密切,它不仅与OPLL的发病率相关,还调控OPLL骨化节段的延续,对OPLL的发生、发展都有调控作用;COL11A2、TGF- $\beta_3$ 、COL6A1基因仅与OPLL发病相关,其

SNP的改变会导致个体对OPLL易感性的变化,而其中COL6A1与OPLL发病的相关性最强;TGF- $\beta_1$ 、NPPS基因对OPLL影响则主要体现在调控骨化节段的延续;Runx2基因从多方面对骨代谢进行调节,且Runx2基因对骨化细胞有重要的调控作用,Runx2基因可能从多方面对OPLL进行调控,具体机制仍待进一步研究。

总之,OPLL是多基因、多因素导致的遗传学疾病,需多学科进一步共同协作才能使其病因明朗,使OPLL的临床治疗取得新的突破。

#### [参考文献]

- [1] Kobashi G, Washio M, Okamoto K, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, et al. High body mass index after age 20 and diabetes mellitus are independent risk factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine in Japanese subjects: a case-control study in multiple hospitals [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2004, 29: 1006-1010.
- [2] Inamasu J, Guiot B H, Sachs D C. Ossification of the posterior longitudinal ligament: an update on its biology, epidemiology, and natural history [J]. *Neurosurgery*, 2006, 58: 1027-1039.
- [3] 顾宇彤, 贾连顺. 颈椎后纵韧带骨化症发病机制的研究进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2004, 14: 54-57.
- [4] Terayama K. Genetic studies on ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1989, 14: 1184-1191.
- [5] Hamanishi C, Tan A, Yamane T, Tomihara M, Fukuda K, Tanaka S. Ossification of the posterior longitudinal ligament. Autosomal recessive trait [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1995, 20: 205-207.
- [6] Sakou T, Taketomi E, Matsunaga S, Yamaguchi M, Sonoda S, Yashiki S. Genetic study of ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine with human leukocyte antigen haplotype [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1991, 16: 1249-1252.
- [7] Matsunaga S, Yamaguchi M, Hayashi K, Sakou T. Genetic analysis of ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1999, 24: 937-938.
- [8] Koga H, Sakou T, Taketomi E, Hayashi K, Numasawa T, Harata S, et al. Genetic mapping of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62: 1460-1467.
- [9] Maeda S, Ishidou Y, Koga H, Taketomi E, Ikari K, Komiya S, et al. Functional impact of human collagen alpha2(XI) gene polymorphism in pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *J Bone Miner Res*, 2001, 16: 948-957.
- [10] Kawaguchi Y, Furushima K, Sugimori K, Inoue I, Kimura T. Association between polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with the radiologic characteristic and ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2003, 28: 1424-1426.
- [11] Wang H, Liu D, Yang Z, Tian B, Li J, Meng X, et al. Association of bone morphogenetic protein-2 gene polymorphisms with susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine and its severity in Chinese patients [J]. *Eur Spine J*, 2008, 17: 956-964.
- [12] Kamiya M, Harada A, Mizuno M, Iwata H, Yamada Y. Association between a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene and genetic susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament in Japanese patients [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001, 26: 1264-1266.
- [13] Horikoshi T, Maeda K, Kawaguchi Y, Chiba K, Mori K, Koshizuka Y, et al. A large-scale genetic association study of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Hum Genet*, 2006, 119: 611-616.
- [14] Okawa A, Ikegawa S, Nakamura I, Goto S, Moriya H, Nakamura Y. Mapping of a gene responsible for twy (tip-toe walking Yoshimura), a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL) [J]. *Mamm Genome*, 1998, 9: 155-156.
- [15] Goding J W, Grobber B, Slegers H. Physiological and pathophysiological functions of the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1638: 1-19.
- [16] Koshizuka Y, Ikegawa S, Sano M, Nakamura K, Nakamura Y. Isolation of novel mouse genes associated with ectopic ossification by differential display method using ttw, a mouse model for ectopic ossification [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2001, 94 (3-4): 163-168.
- [17] Tahara M, Aiba A, Yamazaki M, Ikeda Y, Goto S, Moriya H, et al. The extent of ossification of posterior longitudinal ligament of the spine associated with nucleotide pyrophosphatase gene and leptin receptor gene polymorphisms [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30: 877-880.
- [18] Tanaka T, Ikari K, Furushima K, Okada A, Tanaka H, Furukawa K, et al. Genomewide linkage and linkage disequilibrium analyses identify COL6A1, on chromosome 21, as the locus for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Am J Hum Genet*, 2003, 73: 812-822.
- [19] Tsukahara S, Miyazawa N, Akagawa H, Forejtova S, Pavelka K, Tanaka T, et al. COL6A1, the candidate gene for ossification of the posterior longitudinal ligament, is associated with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis in Japanese [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30: 2321-2324.
- [20] Kong Q, Ma X, Li F, Guo Z, Qi Q, Li W, et al. COL6A1 polymorphisms associated with ossification of the ligamentum flavum and ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2007, 32: 2834-2838.
- [21] 李彬, 张柳. RUNX2与骨代谢的调控 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2009, 15: 63-67.
- [22] Kishiya M, Sawada T, Kanemaru K, Kudo H, Numasawa T, Yokoyama T, et al. A functional RNAi screen for Runx2-regulated genes associated with ectopic bone formation in human spinal ligaments [J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 106: 404-414.