

成骨不全及其分子机制*

鲁艳芹^{1, 2)**} 任秀智³⁾ 王延宙⁴⁾ 韩金祥^{1, 2)}

⁽¹⁾ 山东省罕见病重点实验室, 山东省医学科学院, 济南 250062;

⁽²⁾ 济南大学 - 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250200;

⁽³⁾ 天津市武清区人民医院, 天津 301700; ⁽⁴⁾ 山东大学附属山东省立医院, 济南 250021)

摘要 成骨不全作为罕见性遗传性结缔组织疾病, 具有临床异质性与遗传异质性, 迄今已经分为 15 个亚型。有常染色体显性遗传与常染色体隐性遗传两种遗传方式。常染色体显性遗传以 I 型胶原蛋白结构基因 *COL1A1*、*COL1A2* 突变为主。非 I 型胶原蛋白突变的常染色体隐性遗传的成骨不全患者数量少, 但致病基因种类多, 涉及到胶原合成后异常修饰, 胶原蛋白分子伴侣及羧基端前肽剪切酶缺陷、成骨细胞与破骨细胞分化及转录因子异常、钙离子通道与 Wnt 信号通路分子等诸多方面。致病基因及其机制的研究, 对于成骨不全的基因确诊及个体化药物治疗意义重大。

关键词 成骨不全, I 型胶原蛋白, 常染色体显性遗传, 常染色体隐性遗传, 分子机制

学科分类号 R394, Q75

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0108

成骨不全(osteogenesis imperfecta, OI)是一类因 I 型胶原蛋白合成代谢障碍而引起的遗传性结缔组织疾病。临床症状主要包括骨质疏松、易骨折, 部分患者还会有身材矮小、蓝巩膜、牙本质发育不全、早熟性耳硬化、关节及韧带松弛以及肌肉薄弱等症状^[1]。患者的个体发病率约为 1/10000^[2], 中国尚无发病率的报道。

1 成骨不全遗传与表型异质性

成骨不全具有表型与遗传异质性, 其临床表现从轻微、无症状到严重骨骼畸形甚至围产期死亡等严重程度不等。1979 年, Sillence 等^[3]根据病人临床体征和影像学等特性将成骨不全分为 I~IV 型。

I 型最为轻微, 无肢体变形; II 型为围产期致死型; III 型存在严重长骨畸形; IV 型介于 I 与 III 型之间, 中等严重程度。I~IV 型均是由于 I 型胶原蛋白结构基因 *COL1A1* 或 *COL1A2* 发生突变所致。IV 型成骨不全患者临床表型差异很大, 2000~2002 年, Glorieux 课题组根据独特的巨大骨瘤形成以及尺桡骨融合与桡骨头脱位等表型特征^[4]、骨矿化缺陷病理特征^[5]、髌内翻、近端肢体短小等特征^[6]将

V~VII 型先后从 IV 型中分离出来。其后, VIII~XV 型随着新致病基因的发现顺序而先后被命名^[6-7]。2013 年新发现的致病基因 *CREB3L1*^[8]尚未被收录到成骨不全亚型中。

迄今发现的 15 个成骨不全亚型中, I~V 型为常染色体显性遗传, 其中 I~IV 型均是由于 I 型胶原蛋白结构基因 *COL1A1* 或 *COL1A2* 突变所致, 构成了该类患者人群的主体, V 型致病基因为 *IFITM5*。VI~XV 型均为常染色体隐性遗传方式模式, 致病基因分别为 *SERPINF1*、*CRTAP*、*LEPRE1*、*PPIB*、*SERPINH1*、*FKBP10*、*SP7*、*BMPI*、*TMEM38B*、*WNT1*。成骨不全合并布鲁克综合征(OI-Bruck syndrome)的患者除具有成骨不全的特征外, 同时伴有大关节痉挛, 其致病基因为 *PLOD2*^[9-10]。成骨不全各临床表型特征汇总如表 1。

* 山东省医药卫生科技发展计划项目(2013WS0374), 山东省科技厅国际合作项目(2014GH02)。

** 通讯联系人。

Tel: 0531-82919611, E-mail: yanqinlu@yahoo.com

收稿日期: 2014-08-11, 接受日期: 2015-03-18

Table 1 Genetic and phenotypical heterozygosity for osteogenesis imperfecta

表1 成骨不全遗传及表型异质性

亚型	严重程度	遗传方式	临床表现	致病基因	表型 /MIM 号	基因 /MIM 号
I	轻度	AD	身高正常或近乎正常, 听力下降, 传导性耳聋, 蓝巩膜, 多数患者牙齿正常, 极少数牙本质发育不全, 轻度骨质疏松, 骨折次数较少, 骨折次数较少, 轻微或无骨畸形, 多存在家族史	<i>COL1A1</i>	166200	120150
II	严重或致死	AD	短肢, 出生时体重低, 蓝巩膜, 串珠状肋骨, 出生时或宫内骨折, 颅盖骨软且缺失矿化, 青蛙腿, 扁平髌白及髌骨翼, 早产, 一般围产期死亡	<i>COL1A1/COL1A2</i>	166210	120150/120160
III	渐进性畸形	AD	身材矮小, 三角脸, 前额突出, 小颌畸形, 听力下降, 出生时多蓝巩膜, 随着年龄增大而变正常, 牙本质发育不全, 严重的周身性骨质疏松, 有爆米花样骨骺板, 颅底塌陷, 出生时存在多次骨折, 由于多次骨折致使四肢畸形, 脊柱侧弯或后凸	<i>COL1A1/COL1A2</i>	259420	120150/120160
IV	中度	AD	身材较矮, 听力下降, 巩膜正常或是灰色、蓝色, 牙本质发育不全, 脊柱侧弯或后凸, 双凹扁平椎体, 由于多次骨折而是使四肢弯曲。首次骨折可以发生在宫内、分娩期以及新生儿期, 经常在新生儿期被发现	<i>COL1A1/COL1A2</i>	166220	120150/120160
V	轻微到严重不等	AD	身高正常或矮小, 无蓝巩膜, 牙齿正常, 中等到严重的骨脆性, 前臂旋内旋外功能受限, 增生性骨瘤, 骨间膜钙化, 毗邻生长板两端(股骨远端, 胫骨近端, 桡骨远端)存在干骺端带	<i>IFITM5</i>	610967	614757
VI	中度或严重	AR	身材矮小, 有或无蓝巩膜或灰巩膜, 牙齿正常、儿童早发性骨折, 一般无宫内骨折, 类骨质含量高, 矿化缺陷, 骨板呈鱼鳞状; 部分患者韧带松弛	<i>SERPINF1</i>	613982	172860
VII	严重或致死	AR	身材矮小, 眼球突出, 蓝巩膜, 无牙本质发育不全, 中等到严重的骨骼脆性, 骨质疏松, 脊柱侧弯, 髌内翻, 髌臼内陷, 近端肢体短小, 多发性肋骨骨折, 出生时多次骨折, 在婴儿期由于继发呼吸功能不全/肺炎而死亡, 部分患者与 II 型相似	<i>CRTAP</i>	610682	605497
VIII	严重或致死	AR	身材矮小, 上下身比例失调, 手相对前臂较长, 指骨长, 掌骨短, 无蓝巩膜, 眼球突出, 无牙本质发育不全, 桶状胸, 严重骨质疏松, 出生时多发性骨折, 脊柱侧弯, 后凸, 与 II、III 型相似, 严重身体畸形, 严重骨骼矿化缺陷, 干骺端呈爆米花样, 骨基质排列紊乱, 中枢神经系统发育迟缓	<i>LEPRE1</i>	610915	610339
IX	严重或致死	AR	与 II、III 型类似, 宫内死亡或严重, 灰巩膜或正常, 无牙本质发育不全, 听力视力正常, 运动迟缓, 无肋骨骨折, 长骨短且弯曲, 但无近端肢体短小表型, 头大, 前囟大, 脊柱后凸, 手指和髌关节活动幅度大,	<i>PPIB</i>	259440	123841
X	严重或致死	AR	身材矮小, 大头畸形, 三角脸, 蓝巩膜, 牙本质发育不全, 小颌畸形, 骨折频繁, 出生时存在多次宫内骨折, 周身性骨质疏松, 脊柱侧弯, 四肢相对短, 长骨弯曲, 膝外翻, 周身性关节松弛, 该型婴儿显示渐进性的病情加重	<i>SERPINH1</i>	613848	600943
XI	中度至致死	AR	身高正常或矮小, 巩膜正常或依稀蓝色, 一般无牙本质发育不全, 中度到重度骨脆性, 脊柱侧弯, 髌内翻, “鱼鳞状”板层骨; 类骨质增加, 类骨质增多症, 干骺端球状, 渐进性严重或中等程度畸形, 伴有大疱性表皮松解, 多发关节挛缩可伴发或是缺少	<i>FKBP10</i>	610968	607063
XII	中度	AR	身材矮小, 面部不对称, 听力正常, 无蓝巩膜, 小口畸形, 小颌畸形, 腭弓高萌芽晚, 无牙本质发育不全, 多发骨折、周身性骨质疏松症, 轻度骨畸形, 脊柱轻微侧弯, 运动迟缓	<i>OSX</i>	613849	606633
XIII	严重或致死	AR	身材矮小, 三角脸, 无听力障碍, 淡蓝巩膜, 牙本质发育不全, 鸡胸, 产前骨折, 脊柱侧后凸畸形, Silience III 或 IV 型, 尺桡骨、肱骨成角畸形, 膝关节活动受限, 肘与腕关节以及指关节过伸, 手指纤细, 掌骨相对较短(蜘蛛状指/趾), 缺少骨塑形	<i>BMP1</i>	614856	112264

续表 1

亚型	严重程度	遗传方式	临床表现	致病基因	表型 /MIM 号	基因 /MIM 号
XIV	轻度或重度	AR	轻度或中度身材矮小, 牙齿、听力与巩膜正常, 骨折与骨质疏松严重程度不等, 肌张力下降	<i>TMEM38B</i>	615066	611236
XV	严重	AR	身材矮小, 正常或淡蓝巩膜, 牙本质发育不全, 部分患者有自闭症、眼睑下垂、智力发育障碍等症状, 颅骨异常, 上肢或下肢过长, 肌张力下降	<i>WNT1</i>	615220	164820
OI-Bruck	严重	AR	身材矮小, 漏斗胸, 马蹄足, 翼状胬肉, 成骨不全病并伴随大关节痉挛	<i>PLOD2</i>	609220	601865
未分型	中度	AR	有的会宫内死亡, 头颅骨软, 方颅, 串珠状肋骨, 管状骨形状似手风琴, 多发骨折	<i>CREB3L1</i>	-	611236

AD: 常染色体显性遗传; AR: 常染色体隐性遗传.

虽然成骨不全以 I 型胶原蛋白结构基因 *COL1A1*、*COL1A2* 突变的常染色体显性遗传为主, 但是, 越来越多的非胶原蛋白结构基因突变的发现

丰富了成骨不全亚型, 使得非 I 型胶原蛋白所致的成骨不全表型更加多样化, 也使得成骨不全致病的分子机制更加复杂化(图 1).

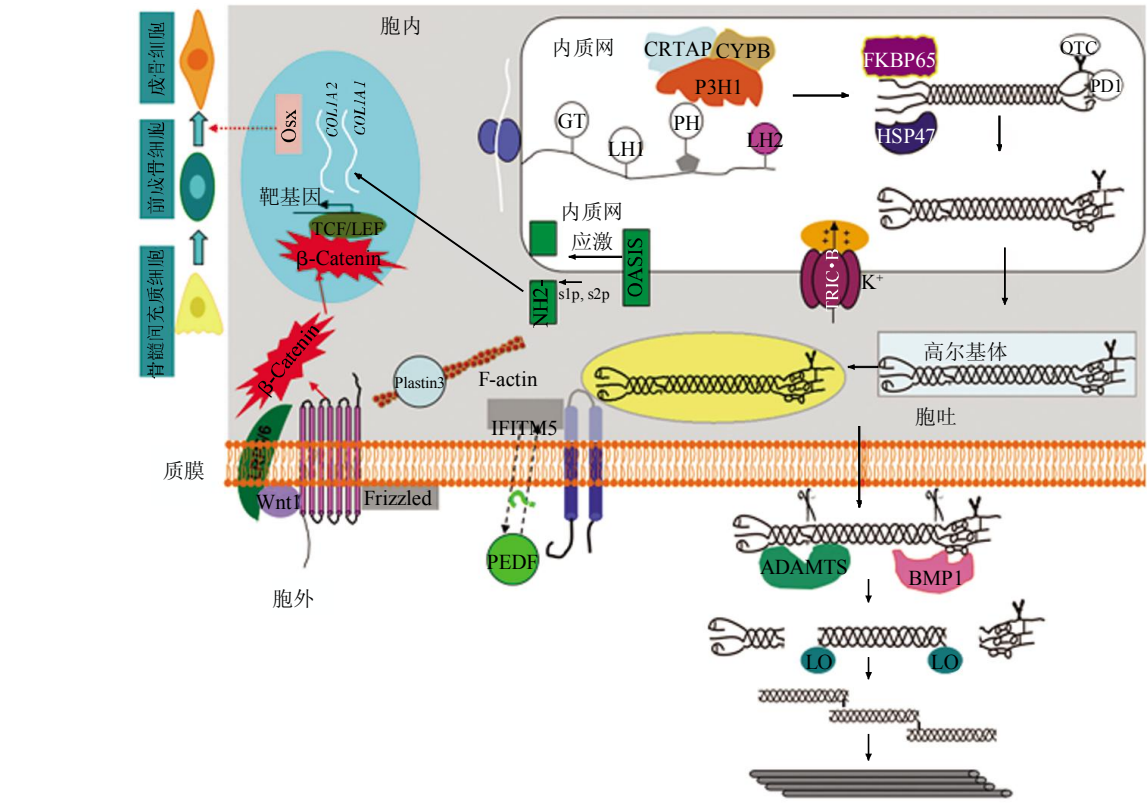


图 1 成骨不全致病基因及分子机制

Fig. 1 The molecular mechanisms of OI

2 成骨不全分子致病机制的复杂性

2.1 常染色体显性遗传突变

2.1.1 I 型胶原蛋白结构基因突变

I 型胶原蛋白结构基因 *COL1A1* 或 *COL1A2* 基因突变导致 I 型胶原合成数量减少或是构象变化^[1],

其翻译所形成的异常前 $\alpha 1$ 链或前 $\alpha 2$ 链通过内质网相关的蛋白酶体降解途径 (endoplasmic reticulum-associated proteasomal degradation, ERAD) 被降解. 形成的有异常三螺旋结构的前 I 型胶原蛋白可以分泌到细胞外基质中, 影响胶原纤维的正常结构, 骨基质的形成以及成骨细胞与破骨细胞、细

胞与细胞外基质的相互作用等^[12]。而滞留于细胞内未分泌出的异常前 I 型胶原蛋白分子在细胞内进行降解, 具体降解机制尚不清楚^[13]。I 型胶原蛋白结构基因所对应的突变上千种, 其基因型与临床表型的相关性分析亦有报道, 但尚无基于大规模数据的中国人群的分析。

成骨不全 I 型胶原蛋白结构基因中以 *COL1A1* 与 *COL1A2* 基因突变有移码突变、剪接突变、点突变、插入、缺失与重复等。一般而言, 终止密码子提前形成所致的无义突变、移码突变、RNA 剪接位点突变所对应的成骨不全患者个体临床症状较轻, 通常为 I 型。这些突变通过无义突变介导的 mRNA 降解 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 途径识别并降解开放阅读框中含有提前终止密码的 mRNA, 致使翻译后的肽链缩短, I 型胶原合成量数量减少。在错义突变中, 主要以甘氨酸被其他氨基酸替换为主, 这种替代通常会引起胶原蛋白三螺旋区域空间构象的变化。所对应的临床表型一般为较 I 型患者严重的 II~IV 型。在甘氨酸替代中, 又以甘氨酸被丝氨酸替代为主^[14]。甘氨酸的其他替代类型所占比率较少, 一般半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸等替代甘氨酸通常会对应着稍严重的临床表型。

绝大多数 I 型胶原蛋白结构基因突变发生在三螺旋区域, 而极少数发生在氨基端与羧基端前肽及端肽区。羧基端前肽区突变所对应的成骨不全患者通常有较高的骨密度^[14-15]。而位于氨基端锚定区域的突变 (三螺旋区前 85~90 个氨基酸) 患者通常会同时伴有埃莱尔-当洛综合症, 这类患者除了有蓝巩膜以及频繁骨折等特征外, 其皮肤光滑且易于拉伸, 易发生瘀伤, 关节部位活动能力强。该区域的突变通常会影响到氨基端蛋白酶对前胶原蛋白的剪切, 从而导致交联障碍, 前胶原蛋白相对胶原蛋白更加稳定^[16]。对于三螺旋区域而言, 在 *COL1A1* 以及 *COL1A2* 基因区均发现突变所对应的临床表型较严重的突变致死区^[14]。当然, 这些部位的突变还要综合突变类型以及被替代的氨基酸等多种因素进行综合考虑。

2.1.2 IFITM5 基因突变

IFITM5 基因在成骨细胞中特异表达, 具有骨矿化功能^[17]。V 型成骨不全是由于 *IFITM5* 基因 5'-UTR 区-14 位点错义突变而引起启动子提前启动, 在正常的读码框架前引入了 5 个氨基酸, 其具体的致病机制目前尚不清楚^[18-19]。该基因定点突变

与其典型表型, 即骨间膜钙化以及巨大骨瘤形成间的联系目前尚无进展, 是否是由于定点突变而导致该基因获得性功能变化? 除了 UTR 定点突变引起 V 型成骨不全外, *IFITM5* 基因编码区的突变陆续在非 V 型成骨不全患者中有报道^[20-21]。该基因定点突变与编码区突变导致两种截然不同的临床表型与基因型, 深入的体内外研究可能会进一步阐释其机制。

2.2 常染色体隐性遗传突变

常染色体隐性遗传的成骨不全患者比率很少, 但是涉及到的致病基因种类繁多, 与 I 型胶原蛋白代谢密切相关, 涉及到胶原翻译后修饰过程、胶原折叠装配及分泌过程异常、成骨细胞分化、转录因子、钙离子通道、Wnt 信号通路等, 且可能涉及到骨发育的诸多方面。

2.2.1 I 型胶原翻译后的异常修饰

LEPRE1 与 *PPIB* 编码的 P3H1、CYPB 蛋白质与 CRTAP 等共同结合形成脯氨酰 3-羟化复合物 (prolyl 3-hydroxylation complex), 对前胶原 $\alpha 1(I)$ 的三螺旋区的 Pro 986 残基进行羟化修饰, 但是该复合物组分的突变如何导致胶原脯氨酰羟化异常的机理尚有待进一步研究^[22]。除了定点羟化修饰外, 该复合物同时具有肽基脯氨酰异构酶以及分子伴侣的功能。复合物中的每一成分可能都独立行使其功能^[23]。研究者发现一些位点的 *PPIB* 基因突变, 并未改变前胶原 $\alpha 1(I)$ 的 Pro986 羟化水平, 而是引起胶原链识别的延迟以及 I 型胶原蛋白三体的形成与分泌^[23]。*CRTAP* 基因的突变, Pro986 羟化水平下降, CRTAP 蛋白质含量下降。而胶原蛋白的分泌正常, 但是沉积在细胞外基质的胶原蛋白含量明显下降。这预示着 CRTAP 在细胞外基质中尚未发现的潜在作用^[24]。

PLOD2 基因编码的赖氨酸羟化酶 (lysyl hydroxylase, LH2) 通过羟化前胶原蛋白端肽区的赖氨酸羟化而影响胶原蛋白分子间共价交链的形成与稳定^[10]。*FKBP10* 基因编码的 FKBP65 蛋白质属于肽基脯氨酰顺/反异构酶 (PPIase) 家族。有趣的是, *FKBP10* 基因所导致的临床表型与 *PLOD2* 相似, 均具有先天性挛缩现象。同时胶原蛋白端肽端赖氨酸羟化不足, 其原因可能为 LH2 作为顺反式异构酶的底物错误折叠所致^[25]。但是, 在我们前期的研究结果中, 发现一成骨不全患者存在挛缩表型, 而其受累的弟弟却不存在该表型, *PLOD2* 与 *FKBP10* 基因检测均未发现突变。这种个体表型差异的存在及

LH2 与 FKBP65 间的关系尚有待于进一步研究。

2.2.2 胶原蛋白的分子伴侣

FKBP65 除具有肽基脯氨酰异构酶的活性外, 同 *SERPINH1* 编码的 HSP47 一样, 具有分子伴侣功能, 它们在前胶原蛋白三螺旋结构的正确折叠中必不可少。HSP47 在内质网中短暂与前胶原结合, 然后在内质网与高尔基体之间的区域裂解。当 HSP47 被降解后, I 型前胶原从内质网向高尔基体的转运速度加快, 从高尔基体向胞外分泌速率变慢^[26]。虽然胶原分泌速度减慢, 但是总胶原量以及胶原翻译后修饰正常。FKBP65 以及 HSP47 是如何维持胶原蛋白的稳定尚不清楚。

2.2.3 I 型胶原蛋白羧基端前肽剪切酶缺陷

BMP1(bone morphogenetic protein 1)作为类金属蛋白酶类, 能够剪切 I 型前胶原蛋白羧基端前肽。与 *COL1A1*、*COL1A2* 基因羧基端前肽突变一样^[15, 27], 该基因突变所对应的患者存在高骨密度。其原因可能为前肽区的剪切延迟, 破坏了胶原纤维的组装。前胶原蛋白羧基端蛋白酶增强子 PCPE (procollagen C-proteinase enhancer)通过与 I 型胶原蛋白羧基端前肽结合而增强 BMP1 酶活性^[28]。前肽区剪切的延迟, 是否是因为 *BMP1* 突变导致与之结合的 PCPE 减弱, 而致使其活性降低还有待于进一步探索。*BMP1* 基因的突变可能会导致其剪切加工赖氨酰氧化酶 LOX 酶原的作用减弱, 致胶原纤维分子间以及分子内的交联反应受阻^[29]。这些都可能是 *BMP1* 基因突变导致成骨不全的机制。

2.2.4 成骨细胞与破骨细胞分化异常及转录因子

SP7 基因编码的 Osterix (OSX)是一种骨特异性转录因子, 在成骨细胞的分化和骨的形成中起重要作用^[30]。在 *Brtl* 小鼠模型中, OSX 的表达明显下降^[31]。同时, OSX 能直接结合到小鼠成骨细胞 *COL1A1* 基因的启动子, 并对其转录起上调作用^[32]。

VI 型致病基因 *SERPINF1*^[33]编码的色素上皮诱导因子 PEDF 属于分泌型糖蛋白, 它在成骨细胞、软骨细胞和破骨细胞中均有表达, 有促进骨保护素成熟的作用; 同时起到破骨细胞分化抑制因子的作用, 削弱 RANKL 依赖的破骨细胞增殖与骨吸收活性^[34]。低血清 PEDF 已作为该亚型的诊断指标^[35]。鉴于 *SERPINF1* 基因突变或者对双磷酸盐药物治疗效果欠佳, 针对 RANKL 的抑制剂 denosumab 目前用于该亚型病人的治疗获得了很好的骨吸收逆转^[36]。我们检测到来自近亲婚配父母的两个儿女中 *SERPINF1* 基因突变, 兄妹二人均经过长达 2 年之

久的双磷酸盐药物治疗, 但是骨密度改善不明显。故对于成骨不全患者致病基因的检测及其致病机制的研究, 对临床的个体化药物治疗意义重大。

最近在典型的 VI 型成骨不全中, 并未检测到 *SERPINF1* 基因突变, 而是 *IFITM5c*. 119C>T (Ser40Leu) 突变, 但是其突变并未引起 *IFITM5* mRNA 与蛋白质水平的变化。相反, *SERPINF1* 的表达水平以及 PEDF 蛋白质的水平在成骨细胞中均下降。而在 V 型成骨不全中, *SERPINF1* 与 PEDF 的表达均上升^[37]。这预示着 *SERPINF1* 与 *IFITM5* 基因间, 以及它们与胶原蛋白间潜在的直接或间接相互作用。

CREB3L1 基因编码的 OASIS 属于 CREB/ATF 家族成员, 为内质网应激相关的跨膜转录因子。在内质网应激状况下, HMG-CoA 还原酶的降解产物 HRD1 与 OASIS 解聚, 释放稳定的 OASIS 至细胞核内, 进而通过 *COL1A1* 启动子区未折叠蛋白反应原件样序列而激活 *COL1A1* 的转录, 增强成骨细胞分化过程中胶原纤维的表达及胞外骨基质的分泌^[38-39]。*CREB3L1* 基因敲除小鼠表现出严重的骨质疏松症状, 骨基质中前 I 型胶原蛋白含量降低, 在皮肤中数量正常^[39]。但是 *CREB3L1* 基因突变在一土耳其成骨不全患者中前 I 型胶原蛋白与成熟胶原蛋白其数量与质量都正常^[8]。该基因在成骨不全中的作用是否是通过转录因子活性亦或是其他途径而发挥作用, 尚有待进一步研究。

2.2.5 钙离子通道

TEME38B 基因编码的 TRIC(trimeric intracellular action)属于跨内质网膜蛋白, TRIC 通道参与行使细胞内钙离子释放的功能。带正电荷的 K^+ 通过该通道进入内质网, 进而保证 II 型兰尼碱受体 RyP2 介导 Ca^{2+} 释放出内质网。而 TRIC 通道缺损的实验鼠心肌细胞与骨骼肌的内质网均不能正常释放 Ca^{2+} , Ca^{2+} 过量堆积致心肌缺损^[40-41]。该基因突变的患者出现成骨不全患者表型严重, 有频繁骨折以及严重的骨质疏松表现^[42-43], 其机制尚不清楚。

2.2.6 Wnt 信号通路分子

WNT1 基因突变导致 XV 成骨不全患者数为 13 人^[44-46], 是从 I 型胶原蛋白结构基因均未发生突变的 IV 型成骨不全中经外显子测序而发现的新致病基因。该基因最初作为原癌基因而被发现, 它是在胚胎发育以及肿瘤形成过程中起重要作用的分泌性糖蛋白。该基因敲除小鼠的动物模型表明其与中枢神经系统的发育密切相关。在已知报道的 *WNT1* 突

变的成骨不全患者中, 1 例有神经系统病变. 在我们新发现的 4 例 *WNT1* 基因突变的成骨不全患者中, 均不存在神经系统病变与自闭症状, 但是患者多存在运动功能发育迟缓等症状. Wnt 参与的信号通路包括经典的 Wnt/ β -catenin 途径以及非经典的 Wnt/PCP (planar cell polarity signaling pathway) 与 Wnt/ Ca^{2+} 途径. 体外功能研究实验表明, 该基因突变干扰激活经典的 *LRP5* 介导的 Wnt/ β -catenin 信号通路与成骨细胞的矿化, 且突变体的 mRNA 与蛋白质表达均比野生型低^[46]. 但是在泛自闭症障碍疾病中, *WNT1* (Ser88Arg) 突变同样引起 *WNT1* 基因的高表达以及 Wnt 信号通路的激活^[47]. 经典与非经典的 Wnt 信号通路在成骨不全中的致病分子机制尚有待进一步深入研究.

2.2.7 PLS 基因

2013 年 10 月, *PLS3* 基因突变在 X-连锁的骨质疏松患者中发现, 在 95 个可能为成骨不全 I 型且 *COL1A1*、*COL1A2* 未发生突变的个体中, 有 5 个患者存在 *PLS3* rs140121121 变异. *PLS3* 敲除的斑马鱼出现颅面骨、尾骨及轴性骨发育畸形. 而体外输入人 *PLS3* mRNA 后可逆转畸形. 这预示着该基因可能是骨发育的调控子, 该基因突变导致破骨细胞应力感应的降低, 进而使得骨塑建和骨重建异常^[9].

3 结 语

综上所述, 成骨不全的致病基因及其种类、致病机制极其复杂, 不同亚型间与致病基因间的关系及其与 I 型胶原蛋白结构基因间的关系尚有待进一步探索^[37]. 部分非经典的常染色体隐性遗传致病基因突变并未引起前胶原 α 链的翻译后修饰、前胶原蛋白的分泌、加工等前胶原蛋白的合成代谢异常. 越来越多样本的常染色体隐性遗传成骨不全患者的发现及非胶原致病基因突变的识别, 与后续基因功能的研究, 对于成骨不全的致病机制研究极为重要. 同时, 越来越多的数据证明, 双磷酸盐药物对携带常染色体隐性遗传基因的成骨不全患者, 其治疗效果相比 I 型胶原蛋白基因突变的患者要差, 骨密度增加不明显. 故对致病基因相关致病机制的研究, 对于指导成骨不全患者临床用药以及潜在的药物开发都意义重大.

参 考 文 献

[1] Sillence D O, Senn A, Danks D M. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*, 1979, **16**(2): 101-116

[2] Glorieux F H. Osteogenesis imperfecta. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008; **22**(1): 85-100

[3] Glorieux F H, Rauch F, Plotkin H, *et al.* Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. *J Bone Miner Res*, 2000, **15**(9): 1650-1658

[4] Glorieux F H, Ward L M, Rauch F, *et al.* Osteogenesis imperfecta type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. *J Bone Miner Res*, 2002, **17**(1): 30-38

[5] Ward L M, Rauch F, Travers R, *et al.* Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease. *Bone*, 2002, **31**(1): 12-18

[6] Marini J C, Blissett A R. New genes in bone development: what's new in osteogenesis imperfecta. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, **98**(8): 3095-3103

[7] Eyre D R, Weis M A. Bone collagen: new clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int*, 2013, **93**(4): 338-347

[8] Symoens S, Malfait F, D'Hondt S, *et al.* Deficiency for the ER-stress transducer OASIS causes severe recessive osteogenesis imperfecta in humans. *Orphanet J Rare Dis*, 2013, **8**: 154(DOI: 10.1186/1750-1172-8-154)

[9] van Dijk F S, Zillikens M C, Micha D, *et al.* *PLS3* mutations in X-linked osteoporosis with fractures. *N Engl J Med*, 2013, **369**(16): 1529-1536

[10] Ha-Vinh R, Alanay Y, Bank R A, *et al.* Phenotypic and molecular characterization of Bruck syndrome (osteogenesis imperfecta with contractures of the large joints) caused by a recessive mutation in *PLOD2*. *American journal of medical genetics. Part A*, 2004, **131**(2): 115-120

[11] Marini J C, Forlino A, Cabral W A, *et al.* Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum Mutat*, 2007, **28**(3): 209-221

[12] Forlino A, Cabral W A, Barnes A M, *et al.* New perspectives on osteogenesis imperfecta. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, **7**(9): 540-557

[13] Forlino A, Kuznetsova N V, Marini J C, *et al.* Selective retention and degradation of molecules with a single mutant $\alpha 1(I)$ chain in the *Brl IV* mouse model of OI. *Matrix Biol*, 2007, **26**(8): 604-614

[14] Lu Y, Ren X, Wang Y, *et al.* Mutational and structural characteristics of four novel heterozygous C-propeptide mutations in the $\text{pro}\alpha 1(I)$ collagen gene in Chinese osteogenesis imperfecta patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014, **80**(4): 524-531

[15] Lindahl K, Barnes A M, Fratzl-Zelman N, *et al.* *COL1C* C-propeptide cleavage site mutations cause high bone mass osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat*, 2011, **32**(6): 598-609

[16] Cabral W A, Makareeva E, Colige A, *et al.* Mutations near amino end of $\alpha 1(I)$ collagen cause combined osteogenesis imperfecta/Ehlers-Danlos syndrome by interference with N-propeptide processing. *J Biol Chem*, 2005, **280**(19): 19259-19269

[17] Moffatt P, Gaumont M H, Salois P, *et al.* *Bril*: a novel bone-specific modulator of mineralization. *Journal of bone and*

- mineral research: the official. Journal of the American Society for Bone and Mineral Research, 2008, **23**(9): 1497–1508
- [18] Cho T J, Lee K E, Lee S K, *et al.* A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V. *Am J Hum Genet*, 2012, **91**(2): 343–348
- [19] Semler O, Garbes L, Keupp K, *et al.* A mutation in the 5'-UTR of IFITM5 creates an in-frame start codon and causes autosomal-dominant osteogenesis imperfecta type V with hyperplastic callus. *Am J Hum Genet*, 2012, **91**(2): 349–357
- [20] Guillen-Navarro E, Ballesta-Martinez M J, Valencia M, *et al.* Two mutations in IFITM5 causing distinct forms of osteogenesis imperfecta. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 2014, **164A**(5): 1136–1142
- [21] Hoyer-Kuhn H, Semler O, Garbes L, *et al.* A non-classical IFITM5 mutation located in the coding region causes severe osteogenesis imperfecta with prenatal onset. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2014, **29**(6): 1387–1391
- [22] Morello R, Bertin T K, Chen Y, *et al.* CRTAP is required for prolyl 3-hydroxylation and mutations cause recessive osteogenesis imperfecta. *Cell*, 2006, **127**(2): 291–304
- [23] Pyott S M, Schwarze U, Christiansen H E, *et al.* Mutations in PPIB (cyclophilin B) delay type I procollagen chain association and result in perinatal lethal to moderate osteogenesis imperfecta phenotypes. *Hum Mol Genet*, 2011, **20**(8): 1595–1609
- [24] Valli M, Barnes A M, Gallanti A, *et al.* Deficiency of CRTAP in non-lethal recessive osteogenesis imperfecta reduces collagen deposition into matrix. *Clin Genet*, 2012, **82**(5): 453–459
- [25] Schwarze U, Cundy T, Pyott S M, *et al.* Mutations in FKBP10, which result in Bruck syndrome and recessive forms of osteogenesis imperfecta, inhibit the hydroxylation of telopeptide lysines in bone collagen. *Human Molecular Genetics*, 2013, **22**(1): 1–17
- [26] Ishida Y, Kubota H, Yamamoto A, *et al.* Type I collagen in Hsp47-null cells is aggregated in endoplasmic reticulum and deficient in N-propeptide processing and fibrillogenesis. *Mol Biol Cell*, 2006, **17**(5): 2346–2355
- [27] Lu Y, Ren X, Wang Y, *et al.* Mutational and structural characteristics of four novel heterozygous C-propeptide mutations in the pro α 1(I) collagen gene in Chinese osteogenesis imperfecta patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014, **80**(4): 524–531
- [28] Bourhis J M, Vadon-Le Goff S, Afrache H, *et al.* Procollagen C-proteinase enhancer grasps the stalk of the C-propeptide trimer to boost collagen precursor maturation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(16): 6394–6399
- [29] Maruhashi T, Kii I, Saito M, *et al.* Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. *J Biol Chem*, 2010, **285**(17): 13294–13303
- [30] Lapunzina P, Aglan M, Temtamy S, *et al.* Identification of a frameshift mutation in Osterix in a patient with recessive osteogenesis imperfecta. *American Journal of Human Genetics*, 2010, **87**(1): 110–114
- [31] Gioia R, Panaroni C, Besio R, *et al.* Impaired osteoblastogenesis in a murine model of dominant osteogenesis imperfecta: a new target for osteogenesis imperfecta pharmacological therapy. *Stem Cells*, 2012, **30**(7): 1465–1476
- [32] Ortuno M J, Susperregui A R, Artigas N, *et al.* Osterix induces Col1a1 gene expression through binding to Sp1 sites in the bone enhancer and proximal promoter regions. *Bone*, 2013, **52**(2): 548–556
- [33] Becker J, Semler O, Gilissen C, *et al.* Exome sequencing identifies truncating mutations in human SERPINF1 in autosomal-recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*, 2011, **88**(3): 362–371
- [34] Akiyama T, Dass C R, Shinoda Y, *et al.* PEDF regulates osteoclasts via osteoprotegerin and RANKL. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **391**(1): 789–794
- [35] Rauch F, Husseini A, Roughley P, *et al.* Lack of circulating pigment epithelium-derived factor is a marker of osteogenesis imperfecta type VI. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, **97**(8): E1550–E1556
- [36] Semler O, Netzer C, Hoyer-Kuhn H, *et al.* First use of the RANKL antibody denosumab in osteogenesis imperfecta type VI. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2012, **12**(3): 183–188
- [37] Farber C R, Reich A, Barnes A M, *et al.* A novel IFITM5 mutation in severe atypical osteogenesis imperfecta type VI impairs osteoblast production of pigment epithelium-derived factor. *J Bone Miner Res*, 2014, **29**(6): 1402–1411
- [38] Kondo S, Hino S I, Saito A, *et al.* Activation of OASIS family, ER stress transducers, is dependent on its stabilization. *Cell Death Differ*, 2012, **19**(12): 1939–1949
- [39] Murakami T, Saito A, Hino S, *et al.* Signalling mediated by the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS is involved in bone formation. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(10): 1205–1211
- [40] Yazawa M, Ferrante C, Feng J, *et al.* TRIC channels are essential for Ca²⁺ handling in intracellular stores. *Nature*, 2007, **448**(7149): 78–82
- [41] Zhao X, Yamazaki D, Park K H, *et al.* Ca²⁺ overload and sarcoplasmic reticulum instability in tric-a null skeletal muscle. *J Biol Chem*, 2010, **285**(48): 37370–37376
- [42] Volodarsky M, Markus B, Cohen I, *et al.* A deletion mutation in TMEM38B associated with autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat*, 2013, **34**(4): 582–586
- [43] Shaheen R, Alazami A M, Alshammari M J, *et al.* Study of autosomal recessive osteogenesis imperfecta in Arabia reveals a novel locus defined by TMEM38B mutation. *J Med Genet*, 2012, **49**(10): 630–635
- [44] Pyott S M, Tran T T, Leistriz D F, *et al.* WNT1 mutations in families affected by moderately severe and progressive recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*, 2013, **92**(4): 590–597
- [45] Fahiminiya S, Majewski J, Mort J, *et al.* Mutations in WNT1 are a cause of osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*, 2013, **50**(5): 345–348
- [46] Laine C M, Joeng K S, Campeau P M, *et al.* WNT1 mutations in early-onset osteoporosis and osteogenesis imperfecta. *The New England Journal of Medicine*, 2013, **368**(19): 1809–1816
- [47] Martin P M, Yang X, Robin N, *et al.* A rare WNT1 missense variant overrepresented in ASD leads to increased Wnt signal pathway activation. *Transl Psychiatry*, 2013, **3**: e301

Molecular Mechanisms of Osteogenesis Imperfecta*

LU Yan-Qin^{1,2)**}, REN Xiu-Zhi³⁾, WANG Yan-Zhou⁴⁾, HAN Jin-Xiang^{1,2)}

⁽¹⁾ Key Laboratory for Rare & Uncommon Diseases of Shandong Province, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China;

⁽²⁾ School of Medical and Life Sciences, University of Jinan—Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250200, China;

⁽³⁾ The People's Hospital of Wuqing District, Tianjin 301700, China;

⁽⁴⁾ Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China)

Abstract Osteogenesis imperfecta (OI) is a group of rare genetic connective tissue diseases with clinical heterogeneity and genetic heterogeneity. Till now, fifteen subtypes of OI has been identified. Autosomal dominant OI is the primary inheritance pattern, and it is caused by mutations in the *COL1A1* or *COL1A2* genes that encode the $\alpha 1$ and $\alpha 2$. Recessively inherited forms of OI are rare and are caused by mutations in many different genes, which related with post-transcriptional modification, defects of collagen's chaperons and C-propeptide cleavage enzyme, osteoblast/osteocyte differentiation and transcript factor, Ca^{2+} channel as well as Wnt signaling molecules. The pathogenic genes and mechanisms to dominant and recessive OI are useful for gene detection and individual therapy of OI patients.

Key words osteogenesis imperfecta, type I collagen, autosomal dominant inheritance, autosomal recessive inheritance, molecular mechanisms

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0108

* This work was supported by grants from The Development of Medical Science and Technology Project of Shandong Province (2013WS0374), International Cooperation Project for the Department of Science & Technology of Shandong Province(2014GH02).

**Corresponding author.

Tel: 86-531-82919611, E-mail: yanqinlu@yahoo.com

Received: August 11, 2014 Accepted: March 18, 2015