

石骨症发病机制及相关基因研究进展

田园¹ 季卫锋² 朱周玮¹ 沈景²

[关键词] 石骨症;发病机制;基因;研究进展

[中图分类号] R681 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2021)06-0085-04

石骨症(Osteopetrosis, OP)别名泛发性脆性骨质硬化症、硬化性骨增生性骨病、大理石骨病、粉笔样骨等,是一种病因不明、由于破骨细胞异常分化导致其数量不足和/或功能缺陷,出现以骨质吸收障碍为主要病变的具有遗传倾向的代谢性骨病。本文主要从石骨症的发病机制及相关基因展开论述。

1 病因与发病机制

石骨症最早是由德国放射学家 Albers Schonberg 在 1904 年首次报道,故命名为“Albers Schonberg 病”。1926 年,因其骨骼硬化似石被命名为“石骨症”。石骨症临床较为罕见,据流行病学调查,此病在北美发病率仅 $1/(5 \times 10^5)$,在我国尚缺乏准确的发病率数据^[1-2]。

该病病因不明,可能与遗传相关,目前研究认为石骨症主要与破骨细胞分化异常有关。生理情况下,骨主要通过成骨细胞的骨形成与破骨细胞的骨吸收之间的动态平衡来维持正常的骨密度,即骨稳态。病理情况下,当破骨细胞分化异常,导致其数量减少和/或功能障碍,以致骨吸收减弱,两种细胞失衡,即骨稳态破坏,随之骨密度增加,表现为骨质硬化,即石骨症。

石骨症的发病机制可从生物化学层面及基因层面来认识。

1.1 生物化学层面

在生物化学层面,石骨症是因 H^+ 浓度不足(缺乏碳酸酐酶 II 或质子 ATP 酶)或溶酶体酶缺乏,骨质中的有机质与无机质无法降解或降解不足,骨吸收障碍所致。

骨由有机质和无机质共同构成。生理情况下,破骨细胞执行骨吸收功能需要以下两个条件:1)酸性内环境,即内环境中保证足够浓度的 H^+ ,以溶解骨中碱

性磷酸钙等无机质;2)溶酶体酶,如组织蛋白酶 K (Cathepsin K)、基质金属蛋白酶 9 (Matrix Metalloproteinase 9, MMP9)等,以降解骨内胶原纤维束和粘多糖蛋白等有机质。

对于酸性内环境, H^+ 浓度受以下两个因素的调节:1)碳酸酐酶 II (Carbonic Anhydrase II, CA II):生理情况下,体内的 CO_2 需在碳酸酐酶 II 的催化下才能与 H_2O 充分结合形成 H_2CO_3 ,随之解离出可溶解骨无机质的 H^+ 。2)质子 ATP 酶:质子 ATP 酶存在于破骨细胞囊泡中,该酶可在氯离子通道蛋白 7 (Chloride Channel 7, CLCN 7)协助下,利用 ATP 水解产生的能量泵送 H^+ , H^+ 与 Cl^- 共同进入破骨细胞囊泡中,随之囊泡释放 H^+ 溶解骨中无机质。此外,质子 ATP 酶亦可通过招募类似于分泌溶酶体的小 GTP 酶来调节囊泡的膜运输,参与 H^+ 的分泌。病理情况下,若机体缺乏 CA II 或质子 ATP 酶,将导致 H^+ 浓度下调,酸性内环境不能维持,导致破骨细胞骨吸收障碍^[3-6]。

1.2 基因分子层面

研究表明约有 11 种基因与石骨症相关,不同类型石骨症突变基因不同。临床上石骨症常见的突变基因是 TCIRG1 基因、SNX10 基因与 CLCN7 基因。

1)TCIRG1 基因:临床研究发现近 50% 石骨症患者 TCIRG1 基因突变。TCIRG1 基因位于 11q 13.2,此基因主要转录翻译质子 ATP 酶的 a3 亚基。a3 亚基是质子 ATP 酶发挥生理作用的结构基础。正如生物化学层面所述,质子 ATP 酶可利用水解 ATP 产生的能量向分泌性溶酶体中转运 H^+ ,随之该溶酶体转运至破骨细胞表面,与细胞膜融合,形成皱褶后分泌 H^+ ,使皱褶和骨组织间液体酸化,以促进骨组织吸收。TCIRG1 基因突变后,a3 亚基蛋白合成障碍,质子 ATP 酶丧失转运 H^+ 的功能,内环境酸化障碍,骨质吸收受阻^[7]。

2)SNX10 基因与 CLCN7 基因:SNX10 基因与

基金项目:国家自然科学基金项目(81974576)

¹ 浙江中医药大学第一临床医学院(杭州,310053)

² 浙江省中医院

CLCN7 基因也是相对常见的突变基因。SNX10 基因中的 PX 结构域与磷酸肌醇结合后,可将蛋白质锚定至内体(内体,即膜包裹的囊泡结构)膜上,通过蛋白质-膜蛋白质复合物及蛋白质-膜脂质中介进行囊泡内 H^+ 的转运^[8]。CLCN7 基因位于 16p13.3,编码氯离子通道蛋白 7,其主要功能是将破骨细胞中的 Cl^- 转运至细胞囊泡,并与 H^+ 共同形成溶骨所需的酸性内环境^[9]。因此,若 SNX10 基因与 CLCN7 基因突变均通过影响内环境酸化导致溶骨障碍。

值得注意的是,CLCN7 与 TCIRG1 基因突变可导致两种不同类型的石骨症,即恶性常染色体隐性遗传石骨症(Autosomal Recessive Osteosclerosis, ARO)与常染色体显性遗传石骨症(Autosomal Dominant Osteolithiasis, ADO),两者预后不同。研究发现,通过扩大氯离子通道蛋白 7 基因突变谱分析突变位点与临床表型间的相关性发现,氯离子通道蛋白 7 基因的杂合突变,可从无临床症状至骨髓造血功能衰竭,甚至危及生命,杂合突变形式越复杂,氯离子通道功能越受限,以致表型变异,预后不同^[10]。此有待进一步研究。

2 临床表现与分型

石骨症根据不同的分型依据有以下几种不同的临床分型。

1)根据遗传方式分:(1)常染色体隐性遗传石骨症(Autosomal Recessive Osteosclerosis, ARO);(2)常染色体显性遗传石骨症(Autosomal Dominant Osteolithiasis, ADO);(3)X 染色体连锁遗传石骨症(X-Linked Hereditary Osteosclerosis XLO)。

2)根据临床表现及预后分:(1)恶性石骨症;(2)中间性石骨症;(3)良性石骨症。

3)根据发病早晚、进展快慢和硬化程度:(1)恶性常染色体隐性遗传石骨症;(2)中间型常染色体隐性遗传石骨症;(3)常染色体显性遗传石骨症。

目前更为合理的分型方式是由国际骨骼协会所提出的分型方式(具体参见表 1):1)恶性常染色体隐性遗传石骨症,包括经典型常染色体隐性遗传石骨症、神经性常染色体隐性遗传石骨症和伴肾小管酸中毒常染色体隐性遗传石骨症;2)X 染色体连锁遗传石骨症;3)中间型常染色体隐性遗传石骨症;4)常染色体显性遗传石骨症,包括 I ~ III 型^[11-13]。

3 基于发病机制与相关基因的诊断与治疗

3.1 基因测序

当石骨症临床诊断明确后,可行基因分子诊断,以明确其分型,以决定治疗策略。目前,国际推荐的基因检测步骤:1)检测 TCIRG1 和 SNX10 基因;2)若未发现该两种基因突变,检测 CLCN7 基因;3)若伴神经性改变,行 OSTM1 基因检测;4)若以上基因均未发现突

变,再行其他基因检测^[7]。当然,也可通过全外显子测序一次性筛查已知石骨症的致病突变基因^[14]。

3.2 针对病因、发病机制的治疗

石骨症目前病因不明,故无针对病因治疗的有效手段。

据其发病机制,可采用造血干细胞移植(Hematopoietic Stem Cell Transplantation, HSCT)治疗石骨症。石骨症主要是由于破骨细胞数目减少或功能缺陷所致。破骨细胞来源于造血干细胞。基于以上认识,可采用造血干细胞移植增加破骨细胞分化,增加骨吸收来治疗石骨症。研究表明,造血干细胞移植是目前石骨症唯一有效的治疗方法。

但并非所有类型石骨症均可通过造血干细胞移植治疗获得满意疗效。造血干细胞移植治疗经典型常染色体隐性遗传石骨症,往往能取得良好的疗效;对伴肾小管酸中毒常染色体隐性遗传石骨症,造血干细胞移植可能改善石骨症症状,但对已发生肾实质性损害是无法逆转的,因此,必要时需肾脏支持治疗;对中间型常染色体隐性遗传石骨症,造血干细胞移植疗效欠佳;对神经性常染色体隐性遗传石骨症则基本无效。

造血干细胞移植疗效受主要组织相容性复合物是否相合、年龄以及基因突变类型的影响。

造血干细胞移植疗效受主要组织相容性复合物(Major Histocompatibility Complexes, MHC)是否相合的影响。据供受体间的关系分自体、同基因、异基因造血干细胞移植三种类型;据供受体间人类白细胞抗原(Human Leucocyte Antigen, HLA)配型分 HLA 相合同胞、HLA 相合非亲缘、亲缘 HLA 不全相合/半相合移植三种类型。不同移植方式成功率不同。Orchard 等^[15]报道了 193 例接受造血干细胞移植治疗的常染色体隐性遗传石骨症患者,其中接受 HLA 相配移植的 5 a 和 10 a 生存率均达 62%,其他移植方式仅为 42% 和 39%。

年龄也是影响造血干细胞移植疗效的重要因素。年龄越大,骨骼异常及继发实质性神经、肾脏损伤,移植效果越差。因此,对治疗时机的选择,推荐尽早移植。有研究表明在发病半年甚至 3 个月内行造血干细胞移植治疗可获得更好的预后。当然,造血干细胞移植也有其并发症,如感染、排异反应及高钙血症等^[16]。

基因突变类型也影响造血干细胞移植疗效。对 TCIRG1、SNX10、RANK、NEMO 及不伴神经病变的氯离子通道蛋白 7 及碳酸酐酶 II 基因突变所致常染色体隐性遗传石骨症建议造血干细胞移植;对于伴肾小管酸中毒、神经性常染色体隐性遗传石骨症不推荐造血干细胞移植;OSTM1 及 RANKL 基因突变目前造

表 1 石骨症国际骨骼协会分型与各型特点

类型	亚型	症状特点	影像学特点
恶性常染色体隐性遗传石骨症	经典型	发病人群为婴幼儿,并发病多,因骨髓功能障碍继发感染、贫血、肝脾肿大、出血等。预后差,多为 10 岁前死亡。	X 线:中轴骨骨密度增高,“骨中骨”现象。四肢干骺端增宽处:一浓淡交替横带影。
	神经性	发病率:极为罕见。发病人群:胎儿,预后差,存活率低。 特点:骨骼畸形、发育缓慢,血液、神经系统异常。	脑 MRI:髓鞘发育延迟、弥漫性进展性皮质及皮质下萎缩。
	伴肾小管酸中毒	发病人群:儿童,病程缓慢,预后一般。 特点:肾小管酸中毒、脑钙化。	脑 CT:脑钙化。
X 染色体连锁遗传石骨症		流行病学:罕见。 特点:无汗性外胚层发育不良、淋巴水肿;多合并免疫缺陷。	
中间型常染色体隐性遗传石骨症		发病人群:儿童,病程缓慢,恶性程度较低。 特点:症状轻微,骨髓炎、口腔疾病、身材矮小、轻度贫血。	X 线:颅骨增厚硬化、骨折。
常染色体显性遗传石骨症	I 型	轻度弥漫性骨硬化。 骨密度增高:颅骨钙化、下颌骨增大、上颌骨性突出。	X 线:颅骨钙化、下颌骨增大、上颌骨性突出。
	II 型	椎骨终板硬化,呈“夹心饼干样”。骨盆和掌跖骨:“骨中骨”现象;长骨易骨折;颅底易硬化;血清酸性磷酸酶↑、CK-BB↑。 少见:颅神经压迫,听力、视力减退	X 线:椎骨终板硬化,呈“夹心饼干样”。骨盆和掌跖骨:“骨中骨”现象。 长骨骨折;颅底硬化。
	III 型	离心性:远端骨骨硬化,如四肢骨、颅骨。	X 线:远端骨硬化。

血干细胞移植治疗多无效^[17]。

对存在移植禁忌的患者,可采用大剂量骨化三醇和 γ -干扰素减缓疾病的进展,但临床效果还存在争议。Alam Imranul 等^[18]研究表明,对于骨化三醇,任何剂量均不能改善表型,高剂量骨化三醇则甚至可进一步增加骨量。

3.3 针对突变基因的治疗

目前基因疗法尚未应用于临床,但近年来有通过动物实验针对突变基因对石骨症进行基因治疗。约 50% 患者 TCIRG1 基因发生突变。Ilana Moscatelli 等^[19]实验研究表明,可通过携带 TCIRG1 基因的慢病毒载体对恶性常染色体隐性遗传石骨症小鼠的 CD34+ 细胞转导,在体外恢复破骨细胞的功能。约 70% 常染色体显性遗传石骨症 II 型是 CLCN7 基因突变所致。Maurizi Antonio 等^[20]通过特异的 siRNA 治疗 CLCN7 基因突变的常染色体显性遗传石骨症 II 型小鼠,发现小鼠骨吸收增加,骨小梁减少,佐证破骨细胞功能的恢复。

参考文献

[1] DONG L J, HE W, HUO S C, et al. The failure experience of complex total hip arthroplasty in osteopetrosis: case re-

port and literature review[J]. International journal of clinical and experimental medicine, 2015, 8(9): 14727-14731.

[2] CHERRY S, AGRAWAL K, FOGELMAN I, et al. Osteopetrosis: radiological & radionuclide imaging [J]. Indian Journal of Nuclear Medicine, 2015, 30(1): 55-58.

[3] KASPER D, PLANELLS-CASES R, FUHRMANN J C, et al. Loss of the chloride channel ClC-7 leads to lysosomal storage disease and neurodegeneration[J]. The EMBO Journal, 2005, 24(5): 1079-1091.

[4] FUTAI M, SUN-WADA G H, WADA Y, et al. Vacuolar-type ATPase: a proton pump to lysosomal trafficking[J]. Physical and Biological Sciences, 2019, 95(6): 261-277.

[5] MATSUMOTO N, DAIDO S, SUN-WADA G H, et al. Diversity of proton pumps in osteoclasts: V-ATPase with a3 and d2 isoforms is a major form in osteoclasts[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2014, 1837(6): 744-749.

[6] MATSUMOTO N, SEKIYA M, TOHYAMA K, et al. Essential role of the a3 isoform of V-ATPase in secretory lysosome trafficking via Rab7 recruitment[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 6701.

[7] SOBACCHI C, SCHULZ A, COXON F P, et al. Osteopetrosis: genetics treatment and new insights into osteoclast function[J]. Nat Rev Endocrinol, 2013, 9(9): 522-536.

- [8] 周绪昌,曹红,邹军,等. SNX10 基因突变对常染色体隐性骨质疏松症及其并发症的影响[J]. 生命科学, 2019, 31(6):596-601.
- [9] 宋玉文,徐晓杰,吕芳,等. CLCN7 基因突变致常染色体显性遗传性骨硬化症:1 例家系研究[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(4):328-335.
- [10] ZHANG X Y, WEI Z Y, HE J, et al. Novel mutations of CLCN7 cause autosomal dominant osteopetrosis type II (ADO II) and intermediate autosomal recessive osteopetrosis (ARO) in seven Chinese families[J]. Postgraduate Medicine, 2017, 129(8):934-942.
- [11] EKICI M A, CIKLA U, BAUER A, et al. Osteopetrosis and Chiari type malformation: a rare association [J]. J Surg Case Rep, 2015, 10: rjv084.
- [12] XIE L, DING F, JIAO J, et al. Total hip and knee arthroplasty in a patient with osteopetrosis: a case report and review of the literature [J]. BMC Musculoskeletal Disorders, 2015, 16: 259-263.
- [13] SHARMA S S, SARAVANAN C, SATHYABAMA V, et al. Osteopetrosis of the mandible masquerading as tubercular osteomyelitis [J]. BMJ Case Rep, 2013; bcr2012007487.
- [14] 欧明林,薛雯,邹同祥,等. 应用全外显子组测序技术筛查罕见石骨症致病基因[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(1):10-13.
- [15] ORCHARD P J, FASTH A L, LE RADEMACHER J, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for infantile osteopetrosis [J]. Blood, 2015, 126(2):270-276.
- [16] KULPIYA A, MAHACHOKLERTWATTANA P, PAKAKASAMA S, et al. Hypercalcemia and altered biochemical bone markers in post-bone marrow transplantation osteopetrosis: a case report and literature review [J]. Pediatric Transplantation, 2012, 16(5):140-145.
- [17] PALAGANO E, MENALE C, SOBACCHI C, et al. Genetics of osteopetrosis [J]. Curr Osteoporos Rep, 2018, 16(1):13-25.
- [18] IMRANUL A, GRAY A K, ACTON D, et al. Interferon gamma, but not calcitriol improves the osteopetrotic phenotypes in ADO2 mice [J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2015, 30(11):2005-2013.
- [19] MOSCATELLI I, LÖFVALL H, THUDIUM C S, et al. Targeting NSG mice engrafting cells with a clinically applicable lentiviral vector corrects osteoclasts in infantile malignant osteopetrosis [J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(8):938-949.
- [20] MAURIZI A, CAPULLI M, PATEL R, et al. RNA interference therapy for autosomal dominant osteopetrosis type 2: towards the preclinical development [J]. Bone, 2018, 110:343-354.

(收稿日期:2020-10-01)

(上接第 84 页)

- [6] 谢娇,吴安林,杨程,等. 论中医经筋学说与筋膜链理论的关联性[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(4):113-114.
- [7] 程少丹,王拥军,莫文,等. 施杞运用六经辨证治疗颈椎病探微[J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(4):1-3.
- [8] 叶秀兰,谢兴文,李宁,等. 从肝、脾、肾论治颈椎病-施杞教授治疗颈椎病学术思想之一[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2005, 13(4):46-47.
- [9] 胡志俊,唐占英,叶秀兰,等. 调衡筋骨法在骨伤康复中的应用与研究[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(8):1-4.
- [10] 马丹军,孙秀娟,唐红. “少阳为枢”之解[J]. 山东中医药大学学报, 2012, 36(6):477-479.
- [11] 王拥军,梁倩倩,唐德志,等. 施杞防治慢性筋骨病学术思想与研究[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(4):1-4.
- [12] 徐阳平. 王胜利主任医师骨伤科学术思想和临床经验管窥[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2012, 20(3):59-60.
- [13] 朱亚亮,马勇,周奎龙. 诸方受教授伤科学术思想初探[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(8):70-71.

(收稿日期:2020-07-12)