

# IX 型胶原基因与骨肌系统疾病相关性的研究现状

董睿<sup>1</sup>, 吴运瑶<sup>2</sup>, 方亮<sup>1</sup>, 应俊<sup>1</sup>, 张磊<sup>1</sup>, 许世兵<sup>1</sup>, 王萍儿<sup>1,3,4</sup>, 金红婷<sup>1,3,4</sup>, 肖鲁伟<sup>1,3,4</sup>, 童培建<sup>1,3,4</sup>

(1. 浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330046; 3. 浙江省骨伤研究所, 浙江 杭州 310053; 4. 浙江中医药大学附属第一医院, 浙江 杭州 310006)

**【摘要】** IX 型胶原作为关节软骨的一个重要组成部分, 对骨与软骨稳态起着重要的调控作用。该基因变异或缺失会引起这个稳态失衡从而导致相应骨关节结构发育异常, 导致多发性骨骺发育不全。解剖结构的变异随之而来的是相应功能单位的生物学性能改变, 结合由基因异常引起的微环境改变, 在反复应力的作用下会出现骨关节炎、椎间盘退行性变等一系列骨关节退行性变, 此外, IX 型胶原的缺乏还影响关节软骨、椎间盘组织损伤的修复。然而, 与 IX 型胶原基因相关的骨肌系统疾病不仅限于此, 还有许多疾病报道较少, 证据相对不足, 有待进一步深入研究。明确该基因与这些疾病的关系不仅可以提供有效的诊断方法, 更能为后续的治疗开辟新的道路。

**【关键词】** 胶原 IX 型; 基因; 软骨; 综述

图分类号: R681

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2019.01.021

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Research status of correlation between type IX collagen gene and musculoskeletal diseases** DONG Rui, WU Yun-yao, FANG Liang, YING Jun, ZHANG Lei, XU Shi-bing, WANG Ping-er, JIN Hong-ting, XIAO Lu-wei, and TONG Pei-jian\*. \*The First College of Clinical Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

**ABSTRACT** As an important component of articular cartilage, type IX collagen plays an important role in regulating homeostasis of bone and cartilage. The mutation or deletion of gene could disequilibrate homeostasis leads to deformity of corresponding bone and joint, and finally causes multiple epiphyseal dysplasia. Moreover, anatomic variation also leads to biomechanics change of corresponding functional unit, combine with micro-environment change caused by change of genes, osteoarthritis and disc degeneration were occurred under the function of stress over and over again. In addition, lack of type IX collagen could effect repair of articular cartilage, intervertebral disc tissue injury. However, musculoskeletal diseases related with type IX collagen has so much not limited this, the reports about it is less for lack of evidence, and need further work to study. Clear relationship of type IX collagen and its disease could provide an effective diagnostic method, and develop a new pathway for follow-up treatment.

**KEYWORDS** Collagen type IX; Genes; Cartilage; Review

胶原(collagens)是哺乳动物透明软骨中含量最多的一类蛋白, 占据软骨干重的 2/3, 它在软骨的细胞外基质中与多种非胶原成分组合形成复杂的超分子结构, 在维持软骨的形态及机械特性中发挥着不可替代的作用。软骨中超分子结构一旦被破坏将直接影响它的机械稳定性, 从而引起骨骼发育不良等一系列胶原相关的疾病<sup>[1]</sup>。IX 型胶原(collagen IX, 以下简称 CoL 9)是软骨的一个重要成分, 它是隶属于

拥有三螺旋中断结构、纤维相关胶原蛋白家族(fibrillar-associated collagens with interrupted triple helices, FACIT)的一种异型胶原, 同时具有蛋白聚糖和胶原蛋白的特性。胎儿时期它占关节软骨胶原总量中的 10%, 而这一数值随着关节软骨的成熟逐渐降低, 到成年时仅为 1%<sup>[2]</sup>。CoL 9 主要分布于软骨纤维的表面, 是软骨中纤维与其他基质之间连接的桥梁, 它是由 3 条独立的通过链间二硫键相结合的  $\alpha$  多肽链组成, 而这 3 条  $\alpha$  链分别被 CoL 9 $\alpha$ 1、CoL 9 $\alpha$ 2、CoL 9 $\alpha$ 3 基因编码, 每条  $\alpha$  链均含有 3 个胶原区域(collagenous domain, COL)CoL 1、CoL 2、CoL 3 及 3 个非胶原区域(non-collagenous domain, NC)NC1、NC2、NC3。其中  $\alpha$ 1 链还包含软骨特异性非胶原区域(NC4)。IX 型胶原通过 CoL 2 区域与 II 型胶原共价连接, 而 NC3 区域则发挥着铰链般的作用, 它使得另外 2 个带 N' 端结构的区域(CoL 3 与 NC4)远离纤

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81774332);浙江省科技厅十二五重大专项(编号:2014C13G2120082);浙江省中医药管理局重点项目(编号:2018ZZ011);浙江省中医药管理局面上项目(编号:2018ZA034)

Found program:Supported by National Natural Science Foundation (No. 81774332)

通讯作者:童培建 E-mail:tongpeijian@163.com

Corresponding author:TONG Pei-Jian E-mail:tongpeijian@163.com

维表面。这些功能区域各司其职,促成了 CoL 9 与其他基质分子间的相互作用,一旦出现这些区域的缺失或变异将引起一系列骨肌系统的异常并导致疾病的发生。

## 1 骨性关节炎

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是累及各滑膜关节的最常见退行性病变,尤以膝关节多见,截止目前至少有 1.12 亿国人受累于此<sup>[3]</sup>。其影像学表现为关节间隙变窄、软骨退变合并软骨下骨硬化、关节边缘骨赘形成等,这一系列的异常改变最终导致关节慢性疼痛及活动障碍,严重影响人们的日常活动。CoL 9 与 OA 的关系密切,它不仅与 II 型胶原、XI 型胶原构成软骨纤维支架结构,更负责调控关节软骨的纤维直径,由此可知 CoL 9 出现异常必然会导致软骨结构的破坏<sup>[4]</sup>。

$\alpha 1$  链是 CoL 9 基因中最长的多肽链,它的缺失将导致 CoL9 基因失效。Hu 等<sup>[5]</sup>指出 CoL 9 $\alpha 1$  基因敲除小鼠会自发的出现软骨退变的表型。Imagawa 等<sup>[6]</sup>在 OA 患者软骨细胞内发现 CoL 9 $\alpha 1$  启动子区域有 6 个位点处于高甲基化状态,而这种高甲基化状态引起 CoL 9 $\alpha 1$  表达降低,从而推测这可能是导致 OA 发生的一个原因。与其他组织不同的是, $\alpha 1$  链中含有软骨特异性的 NC4 功能区域,许多学者认为该区域的存在不是偶然,它可能对软骨的稳态起到一定的影响。Parsons 等<sup>[7]</sup>通过免疫共沉淀等技术证实了 CoL 9 通过 NC4 功能区域与纤维连接蛋白相互作用,从而维持软骨基质的完整性,过表达该功能区域将导致 OA 的发生。此外,NC4 还可抑制补体 C3、C4 的释放从而保护关节软骨<sup>[8]</sup>。除却软骨退变,炎症也与 OA 的发病息息相关。早期 OA 即可出现滑膜炎的征象,且滑膜细胞、软骨细胞以及骨细胞均能释放白介素-1(interleukin-1, IL-1),前列腺素-2 (prostaglandin-2, PG2), 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 等炎性介质。有研究指出 CoL 9 能够刺激人体相应细胞分泌 PG2、IL-1, 这些炎性介质能够诱发或者加重软骨的破坏<sup>[9]</sup>。然而,CoL 9 不仅关乎 OA 的发病,还参与 OA 软骨破坏区的修复。OA 晚期出现关节软骨破坏的同时,机体通过新生纤维软骨替代破坏区透明软骨的缺失,试图恢复关节软骨的完整性从而挽救关节软骨负重区的机械性能,而纤维软骨的形成则需要 CoL 9 蛋白的参与。Koelling 等<sup>[10]</sup>对比不同程度 OA 患者的关节负重区软骨中 CoL 9 蛋白含量时发现,CoL 9 蛋白含量与患病的严重程度呈正相关,该发现也间接反映了软骨修复与患病的程度呈正相关。

胶原是构成软骨内纤维支架的重要成分,其中

各胶原纤维按特定的比例存在以维持关节软骨的特性。CoL 9 的含量虽相对较少,但却不可或缺。CoL 9 减少或该基因部分功能区域异常将导致软骨纤维的结构异常,继而出现软骨退变。CoL 9 不仅仅关乎软骨的结构,还可以调控关节的内环境,对部分免疫、炎症因子皆有一定的影响。此外,CoL 9 还参与形成纤维软骨,在关节内出现软骨破坏时起到修复缺损的作用。由此可知,CoL 9 通过多方面参与 OA 的发生发展,在该疾病中的有着举足轻重的地位。

## 2 椎间盘退行性变

椎间盘退行性变 (disc degenerative disease, DDD) 是引起下腰痛的常见原因,不仅严重危害公众的健康,更是给患者带来了巨大的经济负担。CoL 9 是纤维环与髓核当中一个不可或缺的成分,因此它在椎间盘相关疾病当中的作用不言而喻。出生时,CoL 9 缺失会影响软骨终板中细胞的形成,髓核体积缩小,其它细胞外基质蛋白的表达水平和分布情况会受到严重影响,这些结构的改变使得软骨组织出现退变趋势<sup>[11]</sup>。随着年龄增大,CoL 9 缺失会导致椎间盘更早的发生退变,并出现显著的环状裂缝。CoL 9 缺失会影响椎体和椎间盘早期的发育、结构以及生物力学特性,随着年龄的增大逐渐出现严重的退行性变<sup>[12-13]</sup>。

早在 1999 年,Annunen 等<sup>[14]</sup>通过基因测序证实 CoL 9 $\alpha 2$  与芬兰人 DDD 的相关性,研究指出该基因  $\alpha 2$  链第 19 号外显子第 2 个色氨酸位点(tryptophan 2, Trp2)突变将会直接提高椎间盘退行性变的发病率,考虑到该位点位于 CoL 2 区域,而 CoL 2 区域与 II 型胶原共价连接,则该区域的突变可能影响 II 型胶原的表达从而导致 DDD。磁共振也证实该突变的患者较正常人而言存在更严重的椎间盘及椎体终板退变<sup>[15]</sup>。此后,CoL 9 基因与 DDD 的关系备受世界各地学者的关注,Wrocklage 等<sup>[16]</sup>在上述芬兰人群基因突变的基础上观察德国人相同位点突变与 DDD 的关系,研究发现该突变会减少组织内胶原的交联,导致椎间盘失稳而引起退变。相同的观点在印度人群<sup>[17]</sup>及中国人群<sup>[18]</sup>中亦被证实。然而,基因的突变不仅与人种有关,还受环境等诸多因素的影响,同样的变异在不同地域所引起的后果也不尽相同。Seki 等<sup>[19]</sup>发现 Trp 2 突变在日本人群中普遍存在,提示其与椎间盘疾病无明显相关性。较 Trp 2 位点突变而言,Paassilta 等<sup>[20]</sup>则认为 CoL 9 $\alpha 3$  链上第 3 个色氨酸位点(tryptophan 3, Trp 3)突变与椎间盘疾病的关系更为密切。该位点突变不仅增加 DDD 的患病风险,还决定了该疾病的严重程度<sup>[21]</sup>。此外,CoL 9 还关乎椎间盘突出术后的复发。王兴盛等<sup>[22]</sup>对比髓核摘

除术后复发与无复发的患者发现, CoL 9 $\alpha$ 2 基因 rs12077871 位点变异与术后复发率正相关。秦集斌等<sup>[23]</sup>同样发现  $\alpha$ 2 链第 19 号外显子 326 位密码子 Gln/Gln 纯合突变的患者术后有较高的早期复发倾向。CoL 9 不仅参与 DDD 的发病, 在椎间盘生长发育过程中及损伤修复中也起着重要作用。生长期时随着椎间盘内各组织的成熟、细胞外基质的不断重塑, CoL 9 含量可逐渐减少甚至消失。而当椎间盘受损时, 机体则会分泌 CoL 9 蛋白对其进行损伤修复<sup>[24]</sup>。

纤维环主要由纤维软骨组成, 而 CoL 9 则是纤维软骨的重要成分, 因此其对于 DDD 的作用就不言而喻。CoL 9 缺乏可使纤维环破裂, 并出现椎体终板软骨细胞退变、髓核变小等椎间盘内组织的发育异常, 上述异常给 DDD 的发病提供了解剖基础。另一方面, CoL 9 的异常还可使椎体体积变小、骨密度增高, 这些改变会降低椎体弹性模量及抗压能力, 相比正常的椎体而言, 这种异常发育的椎体吸收应力的能力相对减弱。多余的力量只能依靠纤维环、髓核发生更大程度的形变来抵消, 长此以往, 这些组织会因承受过大的负荷而加速退变。此外, CoL 9 在椎间盘组织中的另一个功能与其在关节软骨中类似, 椎间盘受损时机体也试图挽救其生物学特性, 组织的修复亦需要 CoL 9 参与, 这也是 CoL 9 与椎间盘术后复发率升高有关, 该基因相应位点变异导致蛋白表达异常, 致使手术破坏的纤维环修复缓慢, 结构稳定性差, 最终导致复发。

### 3 多发性骨骺发育不良

多发性骨骺发育不良(multiple epiphyseal dysplasia, MED) 是各种原因导致的骨骺延迟或者不规则骨化从而继发一系列症状的骨肌系统疾病。本病是常染色体显性遗传疾病, 因此发病趋势多为家族性。通过对多个发病家族的研究提示本病的遗传致病基因主要有: 软骨寡聚基质蛋白(cartilage oligomeric matrix protein, COMP), CoL 9 $\alpha$ 1, CoL 9 $\alpha$ 2, CoL 9 $\alpha$ 3 和母系蛋白(matrilin-3, MATN3)。

CoL 9 各功能区的 N 氨基末端与可溶性生长因子、基质金属蛋白酶抑制剂及细胞外基质蛋白相链接, 该基因变异可使这些物质被基质降解酶降解。CoL 9 亦可直接或间接地作用于软骨细胞膜受体, 向细胞提供周围基质物理特性等相关信息, 使软骨细胞对环境的变化作出适当调整, CoL 9 异常使得这一反馈失调, 进而导致骨软骨稳态的失衡。Briggs 等<sup>[25]</sup>利用连锁分析发现 1 个 MED 家族中存在 CoL 9 $\alpha$ 2 基因变异, 这是当时继 COMP 后报道的第 2 个 MED 的致病基因。Spayde 等<sup>[26]</sup>也认为  $\alpha$ 2 链 CoL 3 区域 3 号外显子遗漏亦与 MED 发病相关。CoL 9 $\alpha$ 3 是人们

发现的第 3 个 MED 致病基因, 该基因突变与  $\alpha$ 2 链突变的患者在疾病表型上大致相同, 不同的是它们更容易侵犯髋关节<sup>[27]</sup>。无独有偶, Jeong 等<sup>[28]</sup>也指出 CoL 9 $\alpha$ 3 与 MED 相关, 发现同 1 家族 3 例 MED 患者存在因 CoL 9 $\alpha$ 3 基因 3 号外显子跳跃所致的 CoL 3 区域中 12 个氨基酸缺失。Czarny-Ratajczuk 等<sup>[29]</sup>首次报道了该疾病与 CoL 9 $\alpha$ 1 相关, 并连锁分析 41 例 MED 例患者发现其中同 1 个家族的 2 例患者存在因  $\alpha$ 1 链第 8 外显子 IVS8+3 剪切供体位点 T 碱基嵌插导致的外显子遗漏。迄今为止, CoL 9 的 3 个  $\alpha$  链都已被证实与 MED 发病有关, 虽然报道的基因突变形式各不相同, 但殊途同归。结合众多的临床报道不难看出, CoL 9 突变引起 MED 的结论毋庸置疑, 倒是不同地域间 CoL 9 突变型 MED 所占的比例有所不同, 在日本这项数值可达 16%<sup>[30]</sup>, 另一项多中心联合调查则提示 CoL 9 型 MED 占总数的 10%<sup>[31]</sup>。

MED 在临床上由于症状的差异被分为多种不同类型, 有意思的是不同基因诱发的 MED 类型也不一样。例如 COMP 突变引起的 MED 临床症状较明显, CoL 9 突变引起的症状就相对较轻, 对此, 部分学者甚至怀疑 CoL 9 作为 MED 的致病基因的准确性, 认为 CoL 9 可能不是 MED 的直接致病基因, 而是通过影响其他致病基因而发病。在众多关于 CoL 9 转基因小鼠的研究中并无涉及 MED 的研究, CoL 9 也的确与 COMP 共价链接, CoL 9 的突变可间接影响 COMP 的表达从而引起 MED。笔者认为虽然不同基因突变致病的症状的严重程度不同, 都能引发 MED 却是不争的事实, 大量临床研究均已证实, 在此也无须赘述。但是关于 CoL 9 诱发 MED 的具体机制探讨相对较少, 归其原因可能有以下几点: (1) MED 的动物模型很难实现。(2) 在人类层面探讨机制的可行性差。(3) 临床中诊断出 MED 已错过了研究机制的最佳时机。若能克服上述困难, 明确 CoL 9 致病的具体机制将更有力的解答上述学者的疑惑。

### 4 其他骨肌系统疾病

Jackson 等<sup>[34]</sup>发现 2 个 CoL 9 $\alpha$ 2 突变的家族不仅患有 MED, 还伴有剥脱性骨软骨炎(osteochondritis dissecans, OCD), 揭示该基因与 OCD 的相关性。但后续却没有相关的报道, 尚需更多临床证据支撑。Jäälinoja 等<sup>[35]</sup>在早期类风湿性关节炎患者血清中检测到高表达的 CoL 9 蛋白, 指出 CoL 9 可能对该疾病有一定的诊断价值。CoL 9 $\alpha$ 1 基因还与儿童大骨节病的严重程度有关<sup>[36]</sup>, rs6910140 位点携带等位基因 C 能够降低儿童大骨节病的发病易感性, 相反, 在 rs1135056 位点携带等位基因 C 则会增加患病风

险<sup>[37]</sup>。此外, CoL 9 $\alpha$ 1 还参与调控软骨内成骨及骨代谢的平衡, 该基因表达升高可能会引起单纯性马蹄内翻足, 缺乏时则不仅影响骨折的愈合<sup>[38]</sup>, 还可使机体出现自发的骨吸收从而导致骨质骨量减少、破坏骨矿物平衡, 最终可导致骨质疏松。但上述疾病的相关报道均相对较少, 证据不足, 可靠性指的商榷。

## 5 展望

人体是一个有机整体, 一个基因的异常将会引起一系列的连锁反应。CoL 9 的缺失会影响多种蛋白表达量的降低, 如 COMP、MATN-3、MATN-4、黏蛋白聚糖(epiphygan), 血栓粘素-4(thrombospondin-4)等。同时, 机体会通过多种途径产生一定的补偿效应, CoL 9 缺乏时也不例外, 机体会产生更多的纤维连接蛋白、VII型胶原及转化生长因子 $\beta$ 诱导蛋白以试图弥补由 CoL 9 异常引起的紊乱。

CoL 9 是关节软骨内的一个重要成分, 不仅关乎软骨的稳态, 还参与软骨内化骨的过程, 考虑到全身骨骼大多数皆经历软骨内化骨的过程而趋向成熟, 因此该基因异常会引起一系列骨肌系统疾患。就目前而言临床报道相对较多, 关系较明确的 OA、DDD 与 MED 3 种疾病。OA 是一个由多种因素调控的疾病, 遗传并不是其主要致病因素, 因此容易被忽略, 但其他 OA 的致病因素却与遗传息息相关的, 例如肥胖、性别等。OA 的难点不仅在于其病程的不可逆, 还在于早期诊断困难, 许多学者尝试着寻求新的方法以期早期诊断 OA, 避免因疾病的进一步进展造成不可逆的局面, 深入探讨并明确 CoL 9 与 OA 的相关性及具体机制可在解释 OA 发病机制的同时为该疾病提供有效的诊治措施。MED 是一种常染色体显性遗传疾病, 主要由于基因变异导致疾病的发生。虽然已经报道的致病基因相对较多, 且 CoL 9 在该疾病的中作用仍不可替代, 但由于诸多困难, 导致该基因致病的具体机制尚无定论。相信随着研究的不断深入, 开发出可靠的 MED 动物模型将有助于加深对该疾病的认识。DDD 属于退行性疾病, CoL 9 基因异常不仅导致椎间盘周围相应组织结构紊乱、生物力学性能下降从而加速退变进程, 还影响椎间盘的损伤修复, 与其术后再复发密切相关。不同于 OA 及 MED, CoL 9 诱发 DDD 的相关机制研究则相对较多, 阐释的也较清晰, 但多数机制探讨均处于小动物水平, 并未在大动物及人类层面进一步验证, 希望在不久的将来这一空白能够被填补。明确机制之后必将着手治疗, 目前 DDD 的治疗无论是保守还是手术治疗疗效均欠佳, 保守治疗只能缓解症状, 手术治疗则存在术后并发症及复发概率, 从基因层面治疗 DDD 将会给临床医生及患者一个新的希望。其余 CoL 9

与骨肌系统疾病相关研究多处在动物水平或者报道案例相对较少, 尚需进一步证实。相信随着基因测序技术的更新、相关报道持续增多、人类对自身了解的不断深入, 许多骨肌系统疾病可以通过表观遗传学及基因层面寻求突破。寻找有效的基因靶点不仅能够解释疾病的病因病理, 提供早期诊断手段, 更能为后续的基因治疗提供有力证据。

## 参考文献

- [1] Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision [J]. *Am J Med Genet A*, 2011, 155A(5): 943-968.
- [2] Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier J, et al. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions [J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008, 22(2): 351-384.
- [3] Tang X, Wang S, Zhan S, et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in China: results from the China health and retirement longitudinal study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(3): 648-653.
- [4] Firner S, Zaucke F, Michael J, et al. Extracellular distribution of collagen II and periferibrillar adapter proteins in healthy and osteoarthritic human knee joint cartilage [J]. *J Histochem Cytochem*, 2017, 65(10): 593-606.
- [5] Hu K, Xu L, Cao L, et al. Pathogenesis of osteoarthritis-like changes in the joints of mice deficient in type IX collagen [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(9): 2891-2900.
- [6] Imagawa K, de Andrés MC, Hashimoto K, et al. Association of reduced type IX collagen gene expression in human osteoarthritic chondrocytes with epigenetic silencing by DNA hypermethylation [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(11): 3040-3051.
- [7] Parsons P, Gilbert J, Vaughan-Thomas A, et al. Type IX collagen interacts with fibronectin providing an important molecular bridge in articular cartilage [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(40): 34986-34997.
- [8] Kalchishkova N, Fürst CM, Heinegård D, et al. NC4 Domain of cartilage-specific collagen IX inhibits complement directly due to attenuation of membrane attack formation and indirectly through binding and enhancing activity of complement inhibitors C4B-binding protein and factor H [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 27915-27926.
- [9] Dayer JM, Ricard-Blum S, Kaufmann MT, et al. Type IX collagen is a potent inducer of PGE2 and interleukin 1 production by human monocyte macrophages [J]. *FEBS Lett*, 1986, 198(2): 208-212.
- [10] Koelling S, Kruegel J, Klinger M, et al. Collagen IX in weight-bearing areas of human articular cartilage in late stages of osteoarthritis [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2008, 128(12): 1453-1459.
- [11] Kamper M, Paulsson M, Zaucke F. Absence of collagen IX accelerates hypertrophic differentiation in the embryonic mouse spine through a disturbance of the Ihh-PTHrP feedback loop [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 367(2): 359-367.
- [12] Kamper M, Hamann N, Prein C, et al. Early changes in morphology, bone mineral density and matrix composition of vertebrae lead to disc degeneration in aged collagen IX<sup>-/-</sup> mice [J]. *Matrix Biol*, 2016, 49: 132-143.
- [13] Kamper M. Absence of collagen IX accelerates hypertrophic differentiation in the embryonic mouse spine through a disturbance of the Ihh-PTHrP feedback loop [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 367(2):

- 359367.
- [14] Annunen S, Paassilta P, Lohiniva J, et al. An allele of CoL 9A2 associated with intervertebral disc disease[J]. *Science*, 1999, 285(5426):409–412.
- [15] Karppinen J, Pääkkö E, Räänä S, et al. Magnetic resonance imaging findings in relation to the CoL 9A2 tryptophan allele among patients with sciatica[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002, 27(1):78–83.
- [16] Wrocklage C, Wassmann H, Paulus W. CoL 9A2 allelotypes in intervertebral disc disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279(2):398–400.
- [17] Rathod TN, Chandanwale AS, Gujrathi S, et al. Association between single nucleotide polymorphism in collagen IX and intervertebral disc disease in the Indian population[J]. *Indian J Orthop*, 2012, 46(4):420–426.
- [18] Meng T, Ren Q, Wang JM, et al. Association between CoL 9A2 Gln326Arg mutations and the development of intervertebral disc disease in a Chinese population[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(4).
- [19] Seki S, Kawaguchi Y, Mori M, et al. Association study of CoL 9A2 with lumbar disc disease in the Japanese population[J]. *J Hum Genet*, 2006, 51(12):1063–1067.
- [20] Paassilta P, Lohiniva J, Göring HH, et al. Identification of a novel common genetic risk factor for lumbar disk disease[J]. *JAMA*, 2001, 285(14):1843–1849.
- [21] Toktas ZO, Eksi MS, Yilmaz B, et al. Association of collagen I, IX and vitamin D receptor gene polymorphisms with radiological severity of intervertebral disc degeneration in Southern European Ancestor[J]. *Eur Spine J*, 2015, 24(11):2432–2441.
- [22] 王兴盛, 王想福, 赵宁, 等. 甘肃汉族人群 CoL 9A2 基因多态性与腰椎间盘突出症术后复发的相关性研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(11):7–10.  
WANG XS, WANG XF, ZHAO N, et al. Correlation research of CoL 9A2 gene polymorphism in Gansu han population and postoperative recurrence of lumbar disc herniation[J]. *Zhongguo Zhong Yi Gu Shang Ke Za Zhi*, 2017, 25(11):7–10. Chinese.
- [23] 秦集斌, 宋洁富, 荆志振, 等. 手术治疗腰椎间盘突出症的术后早期复发率与 CoL 9A2 基因多态性相关性研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2017, 19(5):1–5.  
QIN JB, SONG JF, JING ZZ, et al. Correlation study between early recurrence after operation of lumbar disc herniation and gene polymorphism of CoL 9A2[J]. *Zhongguo Xian Dai Yi Yao Za Zhi*, 2017, 19(5):1–5. Chinese.
- [24] Zhu Y, Wu JJ, Weis MA, et al. Type IX collagen neo-deposition in degenerative discs of surgical patients whether genotyped plus or minus for CoL 9 risk alleles[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(24):2031–2038.
- [25] Briggs MD, Choi H, Warman ML, et al. Genetic mapping of a locus for multiple epiphyseal dysplasia (EDM2) to a region of chromosome 1 containing a type IX collagen gene[J]. *Am J Hum Genet*, 1994, 55(4):678–684.
- [26] Spayde EC, Joshi AP, Wilcox WR, et al. Exon skipping mutation in the CoL 9A2 gene in a family with multiple epiphyseal dysplasia[J]. *Matrix Biol*, 2000, 19(2):121–128.
- [27] Paassilta P, Lohiniva J, Annunen S, et al. CoL 9A3: A third locus for multiple epiphyseal dysplasia[J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64(4):1036–1044.
- [28] Jeong C, Lee JY, Kim J, et al. Novel CoL 9A3 mutation in a family diagnosed with multiple epiphyseal dysplasia: a case report [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15:371.
- [29] Czarny-Ratajczak M, Lohiniva J, Rogala P, et al. A mutation in CoL 9A1 causes multiple epiphyseal dysplasia; further evidence for locus heterogeneity[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(5):969–980.
- [30] Itoh T, Shirahama S, Nakashima E, et al. Comprehensive screening of multiple epiphyseal dysplasia mutations in Japanese population[J]. *Am J Med Genet A*, 2006, 140(12):1280–1284.
- [31] Jackson GC, Mittaz-Crettol L, Taylor JA, et al. Pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia: a 7-year comprehensive analysis of the known disease genes identify novel and recurrent mutations and provides an accurate assessment of their relative contribution[J]. *Hum Mutat*, 2012, 33(1):144–157.
- [32] Lin WD, Chou IC, Wang CH, et al. Novel mutations in the cartilage oligomeric matrix protein gene identified in two Taiwanese patients with pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia[J]. *Pediatr Neonatol*, 2018, 59(4):412–414.
- [33] Sakamoto Y, Yamamoto T, Kajino Y, et al. Multiple epiphyseal dysplasia mimicking osteoarthritis due to acetabular dysplasia: A report of a familial case with a COMP mutation[J]. *J Orthop Sci*, 2017, 22(5):967–971.
- [34] Jackson GC, Marcus-Soekarman D, Stolte-Dijkstra I, et al. Type IX collagen gene mutations can result in multiple epiphyseal dysplasia that is associated with osteochondritis dissecans and a mild myopathy[J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(4):863–869.
- [35] Jääliñoja J, Nissilä M, Kauppi MJ, et al. Serum antibodies against intact human collagen IX are elevated at onset of rheumatoid arthritis but are not related to development of erosions[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(5):745–751.
- [36] Shi X, Zhang F, Lv A, et al. CoL 9A1 gene polymorphism is associated with Kashin-Beck disease in a northwest Chinese Han population[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0120365.
- [37] 史晓薇, 郭雄. CoL 9A1 基因多态性与儿童大骨节病的关联分析[J]. *中国妇幼保健研究*, 2016, 27(5):556–557, 646.  
SHI XW, GUO X. Association study of polymorphism of CoL 9A1 gene and the risk of Kashin-Beck disease in children[J]. *Zhongguo Fu You Jian Kang Yan Jiu*, 2016, 27(5):556–557, 646. Chinese.
- [38] Opolka A, Ratzinger S, Schubert T, et al. Collagen IX is indispensable for timely maturation of cartilage during fracture repair in mice[J]. *Matrix Biol*, 2007, 26(2):85–95.

(收稿日期:2018-01-30 本文编辑:李宜)