

综述

基因组学在椎间盘退变遗传病因学研究中的应用进展

Application progress of genomics in the study of genetic etiology of intervertebral disc degeneration

张立存¹,赵继荣²,陈祁青²,赵宁²,陈文²,徐兵³,张天龙²,杨涛¹,李玮农¹

(1 甘肃中医药大学 730030 甘肃省兰州市;2 甘肃省中医院脊柱骨科 730050 甘肃省兰州市;

3 兰州市第三人民医院中医科 730050 甘肃省兰州市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2021.10.11

中图分类号:681.5,Q347 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2021)-10-0946-05

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration,IDD)是引发一系列脊柱相关疾病的病理基础,颈椎病、腰椎间盘突出症等 IDD 相关疾病已成为全球性公共健康问题,严重影响患者的生活质量并给社会带来沉重的经济负担^[1,2]。研究表明,IDD 是环境、遗传等多种因素综合影响的结果,其发病机制极其复杂,至今尚未完全阐明^[3]。早期观点认为 IDD 是由于随着年龄增大椎间盘衰老引发,然而近年来 IDD 疾患的发病呈现年轻化的趋势^[4]。因此,明确 IDD 的发病机制并寻求科学有效的治疗手段是当前的主要研究方向。研究显示,IDD 具有很强的遗传倾向^[5,6],因此在基因水平寻找其病因及发病机制,已成为国内外研究的热点。近年来高通量测序、高分辨质谱以及计算机综合支撑下的组学技术在生命科学领域发挥越来越重要的作用,其为阐明 IDD 发病的生物学机制提供了全新的思路和方法,弥补了传统遗传学研究的一些不足。在 IDD 研究中,主要通过以全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)、全外显子测序(whole exon sequencing, WES)、DNA 微阵列(DNA microarray)等技术来揭示 IDD 最初阶段的基因表达水平及调控机制,以期在 DNA 层面发现与 IDD 相关的突变基因和位点。在该方法及相关技术的助力下,IDD 遗传学研究取得了飞速的发展,显著加快了 IDD 新靶点的发现。笔者就基因组学相关技术在 IDD 遗传病因学研究中的应用进展予以综述,以期今后 IDD 相关疾患更加深入的研究提供参考。

1 GWAS 在 IDD 研究中的应用

基金项目:国家自然科学基金地区项目(81760877);兰州市人才创新创业专项(2018-RC-99);甘肃省重大项目(2021-003-SFC-0067);国家中医药管理局中医药循证能力建设项目(2019X22X-GK005);国家中医药管理局中医药标准化项目(0610-2040NF020974);甘肃省自然科学基金(17JR5RA051)

第一作者简介:男(1995-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱疾患
电话:15101295713 E-mail:Zhanglicun0304@163.com

通讯作者:赵继荣 E-mail:Zhaojirong0709@163.com

GWAS 通过分析受试对象全基因组范围内的变异位点和序列,从中筛选出与 IDD 相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点,进而推测此位点附近可能的致病基因。1986 年基因组学概念首次提出后 GWAS 便伴随其迅猛发展,且广泛应用于各个学科和不同行业。在脊柱疾患研究领域,国内外研究者利用该项技术发现众多与 IDD 相关的 SNP 位点和差异基因。Videman 等^[7]首次利用 GWAS 对 588 例芬兰男性进行分析研究,结果表明蛋白聚糖 1 (aggrecan1, AGC1) 基因中的 SNP(rs1042631)位点突变与椎间盘突出、椎间盘信号强度改变相关,SNP (rs1516797)位点突变与椎间盘高度降低相关;XI 型胶原蛋白 $\alpha 1$ (collagen11- $\alpha 1$, COL11A1) 基因中的 SNP(rs1463035, rs1337185)位点突变与椎间盘膨出相关。值得注意的是 COL11A1 基因突变与日本摔跤运动员颈椎间盘退变、中国汉族人群腰椎间盘突出在功能上相关并验证成功^[8-10]。Rajasekaran 等^[11]利用 GWAS 进一步发现环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX2) 基因的 rs7575934, 白介素-1F5 (interleukin-1F5, IL1F5) 基因的 rs7575934, 钙调蛋白 1 (Calmodulin-1, CALM1) 基因的 rs3213718 和解聚蛋白样金属蛋白酶-5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs -5, ADAMTS5) 基因的 rs162509, rs2830585 的 SNP 与 IDD 发生显著相关。上述基因多态性在多数亚洲人群中得到证实,尤其 ADAMTS5 基因的 rs2830585 位点突变与亚洲人 IDD 显著相关,却与白种人无相关性,可能说明 rs2830585 基因多态性在 IDD 的发病中存在一定种族特异性^[12]。Jiang 等^[13]利用 GWAS 鉴定出中国人群的腰椎椎管狭窄与 Gasdermin 家族蛋白 (GSDMC) 基因异常表达密切相关,进一步研究发现 GSDMC 附近的两个 SNP 位点 rs6651255 和 rs7833174 与腰椎管狭窄易感性较高。由此 GSDMC mRNA 和蛋白表达水平可作为中国人群腰椎管狭窄症发生或发展的预测性生物标志物,但能否成为诊断性标准基因,还有待进一步在不同人群中验证。Urano 等^[14]利用 GWAS 对已绝经的 622 例日本女性研究显示,透明质酸蛋白聚糖连结蛋白 1

(hyaluronan and proteoglycan link protein -1, HAPLN1) 基因第 2 内含子上一 SNP(rs179851)被发现与椎管狭窄有关,但该项研究仅针对日本已绝经妇女,是否在年轻女性及男性人群中成立,尚待进一步验证。Freidin 等^[15]利用 GWAS 对 IDD 一个独特表型——Modic 改变进行研究,在第 9 号染色体上发现了与 Modic 改变相关的基因蛋白酪氨酸磷酸酶受体 D (protein tyrosine phosphatase receptor delta, PTPRD),其 SNP(rs1934268)位于 B 淋巴瘤- α 11 基因(B-cell lymphoma- α 11, BCL11A)和前 B 细胞白血病同源盒基因 3 (pre-B-cell leukemia homeobox 3, PBX3)转录因子的结合区。

上述研究利用 GWAS 分析 IDD 不同人群、不同种的 SNP,发现众多易感基因位点(表 1),克服了传统遗传学以小样本为主的家系连锁分析研究的不足。但 GWAS 在 IDD 发病机制研究中仍存在一定不足:首先结果具有明显的种族差异,对于不同人种的重复性差,这成为直接导致 IDD 易感基因在全球范围内无法达成共识的一个重要原因;其次 GWAS 发现的多数 SNP 位于非编码区,研究证实该区域不能直接影响蛋白质表达功能,因此 GWAS 发现的多数 SNP 往往缺乏相关基因的功能研究和直接致病证据;最后利用 GWAS 研究时多选取常见变异位点,对罕见变异和结构性变异敏感性较差^[16]。

2 WES 在 IDD 研究中的应用

WES 是利用序列捕获技术将全基因组外显子区域 DNA 捕捉并富集后进行高通量测序的基因组分析方法,该方法弥补了 GWAS 鉴定出与疾病相关的基因位点多是位于内含子区间的不足,是运用最广泛的基因组测序方法之一^[17]。在 IDD 研究中,通常先在 IDD 相关疾患家系中实施测序,从中筛选出 IDD 相关罕见等位基因[小等位基因频率(minor allele frequency, MAF<0.01%)和低频率等位基因(0.01<MAF<0.05)],再通过散发人群验证确定易感基因。Fu 等^[18]采用 WES 对 IDD 相关疾病高发家系患者进行研究,结果发现位于胰岛素样生长因子结合蛋白 6 (insulin-like growth factor binding protein-6, IGFBP6)基因上的 c.T430C(p.S144P)位点显著突变,该突变位点在所研究患者中皆表现为 C/T 型,而在该家系内正常对照者中皆表现为 T 型;进一步研究发现,这些点突变可通过影响细胞核转位活动导致 IGFBP6 基因功能异常使之成为一种导致 IDD 的强效致病基因。Kraatari 等^[19]对芬兰 Modic 改变的两个家系进行 WES 发现,位于硫酸乙酰肝素糖蛋白 2(Heparan sulfate proteoglycans-2, HSPG2)基因编码区的错译突变 p.Glu553Lys 导致 HSPG2 基因外显子插入和缺失突变,致密码子过早地终止,造成 IDD 相关疾患 Modic 改变。Mashayekhi 等^[20]判定聚集蛋白聚糖(aggrecan, AGC1)基因多态性是否与 IDD 疾病有关,通过对伊朗北部人群进行 WES 发现了编码钙调神经磷酸酶相关肌小节蛋白-1 (calcineurin-associated sarcomeric protein-1, CS-1)

结构域的 12 号外显子的作用,结果表明 IDD 患者 AGC1 基因第 12 号外显子的串联重复序列长度较短,也通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)等验证上述结论的合理性。其实早些年芬兰学者 Solovieva 等^[21]就已经发现 AGC1 等位基因 A26 与椎间盘膨出和椎间盘高度降低相关性较高。两年后 Cong 等^[22]也在中国北方汉族腰椎间盘突出症患者人群中成功验证了 AGC1 基因串联重复序列多态性与 IDD 之间的相关性。Hanaei 等^[23]在一项观察性病例对照研究中利用 WES 技术对符合纳排标准的受试者进行研究,结果发现退变椎间盘组织中白介素 4(IL-4)水平显著升高,在血液中也正常;进一步研究发现,位于 IL-4 基因上的错义突变位点 rs2243250、rs2243248、rs2070874 是导致 IDD 发生发展的根源,同时还发现 IL-4 基因上的错义突变位点 rs2243250 可以减轻 IDD 术后疼痛,可见此位点在 IDD 中可发挥双重作用。国内有学者在对汉族腰椎间盘退变和先天性脊柱侧凸相关基因关联分析和致病性的一项大样本随机对照试验研究中发现肥胖相关基因(fat mass and obesity associated, FTO) rs1121980 的 T 等位基因是腰椎间盘退变的风险等位基因,可能成为腰椎间盘退变疾病筛查和预后的生物标志物;进行 WES 发现了位于生长分化因子 3 (growth differentiation factor-3, GDF3) 基因罕见突变位点 c.635 C>T、c.251 G>T、c.751 G>A,经功能实验验证这些突变可通过影响下游 SOX9 的转录激活活性及 GDF3 蛋白本身的剪切成熟^[24],由此可认为 FTO、GDF3 基因是腰椎间盘退变和先天性脊柱侧凸致病性基因。

从上述研究可见,WES 在筛选 IDD 突变基因位点方面更加精准深入,能够掌握突变基因外显子区域情况(表 2),在揭示 IDD 遗传学机制方面发挥了重要作用。但该方法在运用中也暴露出了一定不足之处:首先该方法是基于基因外显子区域 DNA 进行研究,而当前基因外显子发现尚不全面,所以 WES 对目标区域捕获并不完全;其次 WES 仅能提供外显子区域的信息,对结构变异区和非编

表 1 GWAS 在 IDD 研究中的应用

文献作者	国家	差异基因	SNP位点	样本量
Videman等 ^[7]	芬兰	AGC1 COL11A1	rs1042631 rs1516797 rs1463035 rs1337185	588
Rajasekaran等 ^[11]	印度	COX2、 IL1F5 CALM1 ADAMTS5	rs7575934 rs7575934 rs3213718 rs162509 rs2830585	695
Jiang等 ^[13]	中国	GSDMC	rs6651255 rs7833174	400
Urano等 ^[14]	日本	HAPLN1	rs179851	622
Freidin等 ^[15]	芬兰 英国	PTPRD	rs1934268	1829

码区反应具有局限性;最后 WES 在 IDD 的研究中多围绕已经发现的基因座进行展开,在探索新的突变基因方面涉足较少。随着测序技术的不断加深可考虑加强这方面的应用。

3 DNA 微阵列在 IDD 研究中的应用

DNA 微阵列又称基因芯片技术。是人类基因组计划的逐步实施和分子生物学迅猛发展及运用的产物,是融生命科学、光电化学、计算机科学为一体,在传统核酸杂交的基础上发展起来的一项新技术,也是基因组学革命中的前沿性生物技术之一^[25]。目前 DNA 微阵列已在疾病的基因诊断、药物的基因组学研究等领域取得突破性进展。在 21 世纪初,DNA 微阵列技术逐渐用于 IDD 研究领域,通过特制探针与固定在芯片上的众多 cDNA 或寡核苷酸的杂交筛选出 IDD 疾病发生发展中表达上调或下调的致病性关键基因,在 IDD 的遗传病因学研究中发挥着重要作用^[26]。Shao 等^[27]通过 DNA 微阵列技术对钙化与非钙化髓核进行差异表达基因的筛选研究中,在钙化髓核组织中共发现了 132 个差异表达基因,其中上调基因 129 个,下调基因 3 个,硬化蛋白基因(SOST)、Wnt 抑制因子 1 基因(WIF1)和人分泌型卷曲蛋白 4 基因(SFRP4)是名列前三的差异表达基因。但既往有相关研究报道 SOST、WIF1、SFRP4 均参与 Wnt 信号通路来影响髓核组织的合成代谢过程,另外

SOST 可抑制骨细胞的分化^[28],说明髓核组织的钙化可能并非营养不良性钙化而是有骨细胞参与的成骨过程。Kazezian 等^[29]利用 DNA 微阵列技术在退变纤维环组织中筛选出 238 个差异表达基因,选取其中表达失调最明显的 8 个进行分析,发现上调 6 个、下调 2 个,胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGFBP3)、生长分化因子 15(GDF15)和干扰素诱导跨膜蛋白 3(IFIT3)是表达最明显的 3 个基因,研究发现上述基因的差异表达主要参与纤维环细胞增殖和炎症应答等病理生理过程进而促使 IDD 的发生发展。Ji 等用 DNA 微阵列技术比较正常与退变椎间盘的基因表达情况,结果有 243 个基因在退变椎间盘表现为上调,351 个基因表现为下调;其中转录因子激活蛋白-2α(TFAP2A)、特异蛋白 3(SP3)、磷酸化酪氨酸蛋白激酶(FYN)和雄激素受体(AR)基因高表达最为显著^[30]。TFAP2A 主要参与 DNA 复制和脂肪细胞分化,有研究发现敲除 TFAP2A 可使斑马鱼的肌肉萎缩退变,并发生大量白细胞浸润现象^[31]。另外 TFAP2A、SP3 和 AR 可以通过激活血管内皮生长因子通路,促进退变椎间盘血管生成与长入。胡明等^[32]运用 DNA 微阵列技术和生物信息学方法研究人退变椎间盘,结果筛选出 656 个差异表达基因,其中表达上调 298 个,表达下调 358 个,分析发现转化生长因子 β 受体 I(TGF-βI)、成纤维细胞生长因子受体 1、2(FGFR1、FGFR2)等细胞转化因子相关基因呈高表达,表皮生长因子(EGFR)呈低表达,椎间盘细胞的功能及代谢依靠众多的细胞因子共同调节,上述细胞转化因子相关基因的表达变化影响椎间盘细胞成分的改变,导致退变椎间盘组织中 I 型胶原、III 型胶原、V 型胶原相关基因表达显著上调,VI 型胶原、IX 型胶原相关基因表达显著下调,说明在退变椎间盘组织中胶原类型发生很大的变化;另外该研究还发现与凋亡相关基因上皮细胞膜蛋白(EMP-1)表达呈明显的上调,并通过 Northern 印迹等方法进行了验证,提示退变椎间盘细胞在 EMP-1 表达较高的情况下,可能进行超常的凋亡,从而破坏了细胞增殖与凋亡的动态平衡,这可能是 IDD 发生及进展的原因之一。

DNA 微阵列作为后基因组时代的一大利器,在基因表达谱的研究中具有重要价值,凭借其处理大批量样本时检测耗时短、特异性强且不容易发生交叉反应等特点,能在同一实验条件下同时筛选出众多 IDD 相关基因的差异表达(上调或下调)(表 3),通过分析差异基因表达模式来快速了解疾病发生发展状态,这是其他方法所无可比拟

表 2 WES 在 IDD 研究中的应用

文献作者	国家	基因	突变位点	氨基酸序列改变	测序样本量(病例/对照)
Fu 等 ^[18]	中国	IGF-BP6	Chr12:g.53494591 T>C	p.Ser144Pro	4/205
Kraatari 等 ^[19]	芬兰	HSPG2	c.1657 G>A	p.Glu553Lys	7/2
Mashayekhi 等 ^[20]	伊朗	AGC1	N/A	N/A	71/0
Hanaei 等 ^[23]	伊朗 美国	IL-4	c.1943 C>T rs2243250 rs2243248 rs2070874	N/A	76/140
陈佳等 ^[24]	中国	FTO GDF3	rs1121980 c.635 C>T, c.251 G>T, c.751 G>A c.251 G>T	N/A p.Ser212Leu	502/ 497

注:N/A 原文未提供数据或未研究

表 3 DNA 微阵列在 IDD 研究中的应用

文献作者	国家	差异表达基因数	上调	下调	显著差异基因(前三)
Shao 等 ^[27]	中国	132	129	3	SOST、WIF1、SFRP4
Kazezian 等 ^[29]	爱尔兰、加拿大	238(最显著的前 8 个作为研究)	6	2	IGFBP3、GDF15、IFIT3
Ji 等 ^[30]	中国	594	243	351	TFAP2A、SP3、FYN
胡明等 ^[32]	中国	656	298	358	TGF-βI、FGFR1、FGFR2

的。但目前 DNA 微阵列在 IDD 研究领域应用仍然处于初级阶段,其实手段缺乏规范化、数据可靠性和统计分析手段不足,另外 DNA 微阵列本身存在信号噪声、费用昂贵等诸多问题,需不断完善。

4 表观基因组学在 IDD 研究中的应用

表观基因组学是基于靶向甲基化微阵列和亚硫酸氢盐测序技术研究非基因序列改变所致基因表达水平的变化,包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色体重塑和非编码 RNA 调控等,此过程主要通过调控基因转录或翻译,影响其功能和特性^[33]。DNA 甲基化是通过向 DNA 中的胞嘧啶添加甲基部分对 DNA 进行的共价修饰,是确保细胞特异性基因表达和正常发育及组织稳定的重要机制,在基因表达的编程中起着重要作用,包括响应于衰老和环境信号而动态调节基因表达的变化^[34]。研究表明,位于启动子区或第 1 外显子区域的 CpG 岛的甲基化状态对基因表达状态的影响最为显著^[35]。在 DNA 甲基化异常与 IDD 发生发展的相关研究中,Ikuno 等^[36]通过靶向甲基化微阵列和亚硫酸氢盐测序技术对 IDD 患者椎间盘组织进行了全基因组 DNA 甲基化分析,发现了 220 个差异甲基化位点,其中 4 个位点低甲基化,216 个位点高甲基化。通常异常表达基因的启动子区域易发生高甲基化,其转录功能往往受到抑制^[37]。甲基化的发生主要依赖于甲基转移酶,抑制该酶活性可以降低甲基化水平。如 Xu 等^[38]在已发生退变的人髓核样品中测试了四种甲基转移酶 KMT2A、KMT2B、KMT2C 和 KMT2D 的变化,发现在严重变性样品中 KMT2D 显著上调,通过抑制该酶活性可以延缓变性进程;进一步研究发现氧化应激诱导的 ROS 产生可通过增强髓核变性过程中 KMT2D 介导的基质变性相关基因的转录调控来促进髓核变性的过程。

IDD 基因组遗传表观学研究刚刚起步,且局限于以单中心小样本为研究对象的 DNA 甲基化测序方面,其他表观遗传学内容如非编码 RNA 调控和组蛋白修饰等需要未来进一步研究。

5 总结

对 IDD 的研究是有效防治脊柱退行性疾患的基础,对 IDD 基因表达水平及调控机制的深入探究,可以更好地指导临床医师对脊柱疾患的认识。基因组学为 IDD 的发生、发展和治疗提供了全新的研究方向与思路,通过从一定规模研究群体中收集基因组数据资料,结合信息学方法整合数据,从而挖掘出众多 IDD 相关易感位点和基因,更好地从遗传角度理解 IDD 相关疾病的病理生理机制;另外结合非基因序列改变所致基因表达水平变化的表观基因组学,得出 IDD 是遗传易感性下内源性因素作用的病理结果^[39]。但目前基因组学在 IDD 研究中主要侧重于检测椎间盘相关细胞因子易感基因的转录、翻译等过程的变化,而对这些易感基因导致 IDD 发病的分子机制未进行深入研

究。基于目前基因组学相关技术已得出的遗传研究结果,结合网络药理学、材料学,多学科联合进行分子、功能学研究,探索基因组学对退变椎间盘组织的修复和重建作用,为寻找更加快速有效的诊断和治疗方案以及疾病的预后判断提供新的思路将是未来 IDD 研究的重要方向。

6 参考文献

- Lorio M, Kim C, Araghi A, et al. International Society for the Advancement of Spine Surgery Policy 2019: surgical treatment of lumbar disc herniation with radiculopathy [J]. Int J Spine Surg, 2020, 14(1): 1-17.
- Km A, Sc A, Li Z, et al. Mechanisms of endogenous repair failure during intervertebral disc degeneration[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(1): 41-48.
- Dowdell J, Erwin M, Choma T, et al. Intervertebral disk degeneration and repair[J]. Neurosurgery, 2017, 80(3S): S46-S54.
- 孙宏芝, 孙中仪, 林浩, 等. 环状 RNA 与椎间盘退行性变[J]. 中国矫形外科杂志, 2019, 27(24): 2262-2266.
- Williams F, Popham M, Sambrook PN, et al. Progression of lumbar disc degeneration over a decade: a heritability study [J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(7): 1203-1207.
- Oichi T, Taniguchi Y, Oshima Y, et al. Pathomechanism of intervertebral disc degeneration [J]. JOR Spine, 2020, 3(1): e1076.
- Videman T, Saarela J, Kaprio J, et al. Associations of 25 structural, degradative, and inflammatory candidate genes with lumbar disc desiccation, bulging, and height narrowing [J]. Arthritis Rheum, 2010, 60(2): 470-481.
- Wu F, Huang X, Zhang Z, et al. A Meta-analysis assessing the association between COL11A1 and GDF5 genetic variants and intervertebral disc degeneration susceptibility [J]. Spine, 2020, 45(11): E616-E623.
- Koyama K, Nakazato K, Maeda S, et al. Association of COL11A1 4603C/T polymorphism with cervical disc degeneration in collegiate wrestlers [J]. J Sports Med Phys Fitness, 2017, 58(11): 1695-1700.
- Jiang H, Yang Q, Jiang J, et al. Association between COL11A1 (rs1337185) and ADAMTS5 (rs162509) gene polymorphisms and lumbar spine pathologies in Chinese Han population: an observational study[J]. Bmj Open, 2017, 7(5): e015644.
- Rajasekaran S, Kanna RM, Senthil N, et al. Genetic susceptibility of lumbar degenerative disc disease in young Indian adults[J]. Eur Spine J, 2015, 24(9): 1969-1975.
- Wu N, Chen J, Hao L, et al. The involvement of ADAMTS-5 genetic polymorphisms in predisposition and diffusion tensor imaging alterations of lumbar disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2014, 32(5): 686-694.
- Jiang H, Moro A, Liu Y, et al. Two GWAS-identified variants are associated with lumbar spinal stenosis and Gasdermin-C expression in Chinese population[J]. Sci Rep, 2020,

- 10(1): 21069.
14. Urano T, Narusawa K, Shiraki M, et al. Single-nucleotide polymorphism in the hyaluronan and proteoglycan link protein 1 (HAPLN1) gene is associated with spinal osteophyte formation and disc degeneration in Japanese women [J]. *Eur Spine J*, 2011, 20(4): 572-577.
15. Freidin M, Kraatari M, Skarp S, et al. Genome-wide meta-analysis identifies genetic locus on chromosome 9 associated with Modic changes[J]. *J Med Genet*, 2019, 56(7): 420-426.
16. Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(2): 166-176.
17. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases[J]. *Nature*, 2009, 461(7265): 747-753.
18. Fu S, Lei W, Lanlan D, et al. Whole exome sequencing identified a novel IGFBP6 variant in a disc degeneration pedigree[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(10): 580-585.
19. Kraatari M, Skarp S, Jaakko N, et al. A whole exome study identifies novel candidate genes for vertebral bone marrow signal changes(modic changes)[J]. *Spine*, 2016, 42(16): 1201-1206.
20. Mashayekhi F, Shafiee G, Kazemi M, et al. Lumbar disk degeneration disease and aggrecan gene polymorphism in northern iran[J]. *Biochemical Genetics*, 2010, 48(7-8): 684-689.
21. Solovieva S, Noponen N, Männikkö M, et al. Association between the aggrecan gene variable number of tandem repeats polymorphism and intervertebral disc degeneration[J]. *Spine*, 2007, 32(16): 1700-1705.
22. Cong L, Pang H, Xuan D, et al. Association between the expression of Aggrecan and the distribution of Aggrecan gene variable number of tandem repeats with symptomatic lumbar disc herniation[J]. *Spine*, 2010, 35(14): 1371-1376.
23. Hanaei S, Abdollahzade S, Sadr M, et al. The role of interleukin 4 and IL-4RA in intervertebral disc degeneration: investigation of single nucleotide polymorphisms in genes and a systematic review & meta-analysis of IL-4 expression level[J]. *Br J Neurosurg*, 2020, 34(1): 66-71.
24. 陈佳. 腰椎间盘突出和先天性脊柱侧凸相关基因关联分析和致病性研究[D]. 北京协和医学院, 2018.
25. Chiodi E, Marn AM, Geib MT, et al. The role of surface chemistry in the efficacy of protein and DNA microarrays for label-free detection: an overview[J]. *Polymers*, 2021, *Polymers*(Basel), 2021, 13(7): 1026-1046.
26. 于彬, 李新华, 陈兆雄, 等. 基因芯片表达谱在椎间盘退变领域应用的研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2017, 27(7): 652-656.
27. Shao J, Yu M, Jiang L, et al. Sequencing and bioinformatics analysis of the differentially expressed genes in herniated discs with or without calcification[J]. *Mol Med*, 2017, 39(1): 81-90.
28. Yamada A, Iwata T, Yamato M, et al. Diverse functions of secreted frizzled-related proteins in the osteoblastogenesis of human multipotent mesenchymal stromal cells[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(13): 3270-3278.
29. Kazezian Z, Gawri R, Haglund L, et al. Gene expression profiling identifies interferon signalling molecules and IGF-BP3 in human degenerative annulus fibrosus [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15662-15675.
30. Ji SC, Han N, Liu Y, et al. Identification of genes associated with disc degeneration using bioinformatics [J]. *Biotech Histochem*, 2015, 90(5): 353-360.
31. Walters KB, Dodd ME, Mathias JR, et al. Muscle degeneration and leukocyte infiltration caused by mutation of zebrafish *Fad24*[J]. *Dev Dyn*, 2009, 238(1): 86-99.
32. 胡明, 张传森, 陈道运, 等. 人退变椎间盘组织的基因表达谱[J]. *解剖学杂志*, 2004, 27(4): 348-351.
33. Boix CA, James BT, Park YP, et al. Regulatory genomic circuitry of human disease loci by integrative epigenomics[J]. *Nature*, 2021, 590(7845): 300-307.
34. Edwards JR, Yarychivska O, Boulard M, et al. DNA methylation and DNA methyltransferases [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2017, 10(1): 23-33.
35. Schmitz RJ, Lewis ZA, Goll MG. DNA methylation: shared and divergent features across eukaryotes [J]. *Trends Genet*, 2019, 35(11): 818-827.
36. Ikuno A, Akeda K, Takebayashi SI, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation profile identifies differentially methylated loci associated with human intervertebral disc degeneration[J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0222188.
37. Tirado-Magallanes R, Rebbani K, Lim R, et al. Whole genome DNA methylation: beyond genes silencing [J]. *Oncotarget*, 2016, 8(3): 5629-5637.
38. Xu W, Zhang X, Liu G, et al. Oxidative stress abrogates the degradation of KMT2D to promote degeneration in nucleus pulposus [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(10): 165888.
39. Lu YF, Goldstein DB, Angrist M, et al. Personalized medicine and human genetic diversity[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 4(9): a008581.

(收稿日期:2021-06-30 末次修回日期:2021-09-06)

(本文编辑 卢庆霞)