

综述

基于多组学技术的青少年特发性脊柱侧凸病因学研究进展

Research progress on the etiology of adolescent idiopathic scoliosis based on multi-omics analysis

李 滔¹, 杨一卓¹, 宋哈楠¹, 徐 帅², 史伟豪¹, 许玉雄¹, 张 岩¹, 于彦丽¹

(1 首都体育学院体医融合创新中心 100191 北京市; 2 北京大学人民医院脊柱外科 100044 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2024.05.15

中图分类号: R682.3, Q78 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2024)-05-0540-08

青少年特发性脊柱侧凸 (adolescent idiopathic scoliosis, AIS) 是一种以结构性侧凸、轴向旋转和矢状面畸形为特征的三维脊柱畸形, 它是青少年脊柱畸形中最常见的疾病, 全球患病率约为 0.47%~5.2%^[1]。在青春期, AIS 可随患者年龄的增长逐渐加重, 导致生活质量下降, 并给家庭和社会带来巨大的经济负担。因此, 确定 AIS 的病因和病理生理机制是进一步认识本病、及时诊断治疗和科学预防的关键。目前关于 AIS 的病因学研究显示该病发病机制复杂, 可能为多因素如基因遗传、环境、激素、代谢、生物力学、神经因素和不对称生长等多因素共同作用^[2]。然而, 学术界对 AIS 的病因认知未能达成一致。大部分学者认为 AIS 是一种蛋白质分子表达异常且涉及多基因遗传易感位点和多系统致病环节所引发的多种损害效应疾病, 不能仅对单基因或单一蛋白质分子进行病因学研究^[3]。因此, 寻找更为合适的研究方法成为目前亟须解决的问题。

基于基因组学 (genomics)、转录组学 (transcriptomics)、蛋白质组学 (proteomics) 和代谢组学 (metabolomics) 等多个组学领域的研究, 也被称为集成组学、泛组学和跨组学研究, 旨在综合分析和解释多个生物学数据集, 以揭示生物过程的机制, 是一种研究生物体内不同分子相互作用的方法^[4]。多组学技术结合了两种或更多种不同组学研究方法, 对生物样本进行系统性研究, 整合并深入分析各组学数据, 以更全面地理解生物学过程的内在机制^[5]。作为精准医学的新兴前沿, 多组学技术有效地揭示了多种疾病的生理和病理特征, 为疾病治疗提供了全面和可靠的信息^[6]。目前, 多组学技术在揭示疾病的发病机制、实现早期诊断和提供预后判断等方面取得了显著的进展, 并已成功应用于多种系统性疾病的病因分析、患者的易感基因检测、治疗指导、预后评估以及康复等^[7]。笔者就

各种组学技术在 AIS 病因学研究中的应用展开综述, 旨在加深对 AIS 的认识, 为深入研究 AIS 提供经验参考, 并为临床诊疗和康复提供理论依据。

1 多组学技术的发展

组学技术如基因组学、转录组学、代谢组学、蛋白质组学和表观基因组学等现已成为解决众多生物学问题的有效手段 (表 1)。因此, 借助多组学技术, 可用于绘制疾病发生网络的各个维度, 发现新靶点, 从而有助于揭示疾病相关的调控分子网络和治疗机制^[8]。

基因组学技术, 如全外显子测序 (whole exome sequencing, WES) 和全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS), 专注于遗传变异的识别和遗传标记的发现, 多用于研究重要复杂疾病与性状的易感位点和相关基因^[9]。表观组学 (epigenomics)^[10]则关注 DNA 甲基化和组蛋白修饰等表观遗传学变化与各种疾病发生发展的关系。

转录组测序技术 (bulk transcriptome) 在探索复杂疾病的发病机理及诊断标志物方面取得了大量进展。单细胞转录组测序技术 (single-cell RNA sequencing, scRNA-seq) 融合了高通量组学技术和传统的单细胞研究手段, 同时解决了通量和分辨率的问题^[11]。近几年, 该技术广泛应用于心血管疾病、糖尿病、肿瘤、神经精神疾病、肝脏疾病、肌骨组织疾病、自身免疫等各类疾病的研究中^[12]。空间转录组技术 (spatial transcriptomics, ST)^[13]充分利用了传统原位技术和组学技术的优势, 巧妙地将显微成像和测序技术结合在一起, 不仅可以获得基因表达数据, 还能最大程度地保留样本的空间位置信息, 使得研究人员能够发现更多有价值的结果 (图 1)。随着空间转录组技术的不断发展, 相关衍生技术如空间蛋白组和空间代谢组等已广泛应用于多个领域。如利用全基因组空间转录组学揭示了阿尔兹海默病患者脑部的细胞调控网络, 利用空间代谢组学研究肿瘤的发生机制和早期诊断等^[14]。

蛋白质组学 (proteomics) 揭示了不同蛋白质的功能和相互作用, 作为基因组学和转录组学的补充, 其在医学领

基金项目: 北京市社会科学基金项目 (23YTC051)

第一作者简介: 女 (2001-), 在读硕士研究生, 研究方向: 多组学、体医融合

电话: (010)82099195 E-mail: mx7799286@163.com

通讯作者: 于彦丽 E-mail: yuyanli@cupes.edu.cn

域具有深远的影响,包括寻找潜在的疾病生物标志物和药物靶点以及疾病的诊断、监测和治疗等方面^[5]。蛋白质组学在癌症、阿尔茨海默病、骨关节疾病等人类重大疾病的临床诊断和治疗方面具有广泛前景^[6]。

代谢组学(metabolomics)致力于全面研究生物体中各种代谢物,以完整描述生物体生理和病理过程中的代谢状态,有助于揭示疾病和代谢途径之间尚未检测到的生物学机制^[7]。例如,代谢组学可用于筛选炎症性疾病的早期生物标志物、研究药物的不良反应以及分析机体受外界刺激前后内源性小分子代谢物的动态变化等^[8]。

单一组学数据通常只能提供关于疾病某个方面的差异性信息,难以全面解释疾病的复杂病因。因此,为了深入了解疾病的起因和进展过程,以便找到预防、检测和治疗的手段,需要进行多组学研究,综合不同类型的组学数据。在不到十年的时间里,该领域经历了巨大的技术变革,通过单细胞层面的基因组、转录组、蛋白质组和代谢组的联合分析^[9],人们对细胞生物学、发育生物学、生理学和疾病发病机制有了重要的新见解。

2 组学技术在 AIS 中的应用和研究进展

AIS 形成具有复杂的内部因素和外部因素,解剖结构、激素水平、肌肉骨骼非正常发育、基因遗传和环境的作用均为潜在的风险因素。目前,研究人员通过各种组学技术对不同组织进行分析(图 2),从而对 AIS 相关病因进行了深入的研究和探讨。

2.1 基因组技术在 AIS 中的应用

2.1.1 单核苷酸多态性在 AIS 中的应用 近些年的研究表明,AIS 与遗传因素有关,易感基因主要为 LBX1、GPR126、BNC2、SPRY4 等,但大部分易感基因都与种族有关,不同种族对各个易感基因的验证结果不尽相同,这使得与 AIS 有关的易感基因难以全覆盖^[10]。Luo 等^[21]认为 AIS 的发病机制与基因 LBX1 密切相关,且这一结论适用于多种族人群。研究表明,基因 GPR126 与 AIS 之间也存在相关性:刘刚^[23]利用双荧光素酶实验检测基因 GPR126 的 14 处 SNP 位点时,第一次对北方汉族人群的基因进行研究。该实验提取了患者和对照组外周血样本的全基因组 DNA,对候选基因的 SNP 进行分型,发现了基因 GPR126 与 AIS 风险有关的 3 个等位基因,且其中的 2 个等位基因可调控转录过程。

此外,还可利用 PUMC 分型发现基因组学与 AIS 的相关性。吴增玉^[24]首次以 97 例 AIS 患者和 100 例健康对照组为研究对象,来验证基因 SPRY4 与 AIS 的关系。实验发现调控生长发育的基因 SPRY4 在 AIS 患者骨髓间充质干细胞(MSCs)中的表达水平显著下调,且该基因的分布与 PUMC 分型有关;SPRY4 的表达缺失时,可影响 MSCs 向成骨细胞分化的进程,从而影响骨骼发育。然而,一些基因虽已被证明与 AIS 有关,但目前并无确切的结论可以说明何种基因分型会影响 AIS 在汉族人群中出现的概率。为了得到相关遗传多态性的确切表型,Liu 等^[25]筛选了 480 例汉族 AIS 患者和 800 余例对照样本,分别对基因 PAX1

表 1 不同组学技术的特征对比

	基因组学	转录组学	蛋白质组学	代谢组学
定义	通过大量样本的基因测序和分析,研究基因的结构、功能、进化、定位和编辑等,解释基因与生物体之间的关系	在整体水平研究细胞中所有基因转录水平及转录调控规律。	研究生物体内所有蛋白质的组成、结构、功能以及相互作用。	通过对生物体内的众多代谢物进行综合研究,来分析代谢物与生理病理变化之间的关系
研究对象	基因的序列、结构、功能、进化等	mRNA 和非编码 RNA 等	蛋白质组成、结构、功能和相互作用等	小分子化合物如代谢产物、代谢中间体等
方法	全外显子测序、全基因组关联分析、表观遗传学分析、基因型阵列等	普通转录组测序技术、单细胞测序技术、基于探针的阵列等	双荧光素酶标记法、蛋白电泳技术、多维液相色谱法、液相色谱-电喷雾串联质谱分析等	质谱分析(液相色谱串联质谱法、气相色谱)
优点	低成本、高通量,能发现许多未知问题;获取致病基因的全部遗传信息	解决了通量和分辨率的问题,加深对细胞、组织结构和功能的理解	高效性、检测动态范围广、定量精确、灵敏度高、重复性好、可以减小样品损耗,检查蛋白质和核酸的整体相互作用	可同时量化分析多种小分子类型,代谢物水平可被视为生物体对遗传和生理环境的最终反应
缺点	多途径、多基因诱导的病理过程与基因分子层面物质的客观标准难以统一,研究区域较局限	翻译后修饰导致数据不足;转录组的变化不能显示“最终产物”模式的变化,不能完全解释大量疾病的病理生理状况	缺乏赖氨酸的蛋白无法被标记;费用昂贵;翻译后修饰导致产生的结果不同;敏感性较低,线粒体蛋白无法准确定位,无法对蛋白质进行定量检测和差异表达分析	数据复杂、存在肽的共洗脱、扫描和灵敏度限制
研究目的	研究疾病的遗传基因、易感位点、突变类型、遗传标记等,解释基因与疾病之间的关系	研究疾病的分子机制,寻找疾病标志物,评估药物效果,以及了解疾病的潜在治疗靶点。	发现疾病潜在生物标志物和药物靶点,以及疾病的诊断、监测和治疗等	揭示疾病和代谢途径之间的生物学机制,代谢组学与建模相结合已被广泛用于研究代谢物通量
应用案例	遗传性疾病、癌症、消化道疾病、血液病和脑部疾病等	心血管病、糖尿病、肿瘤等	癌症、早发性痴呆、骨关节疾病等	炎症性疾病

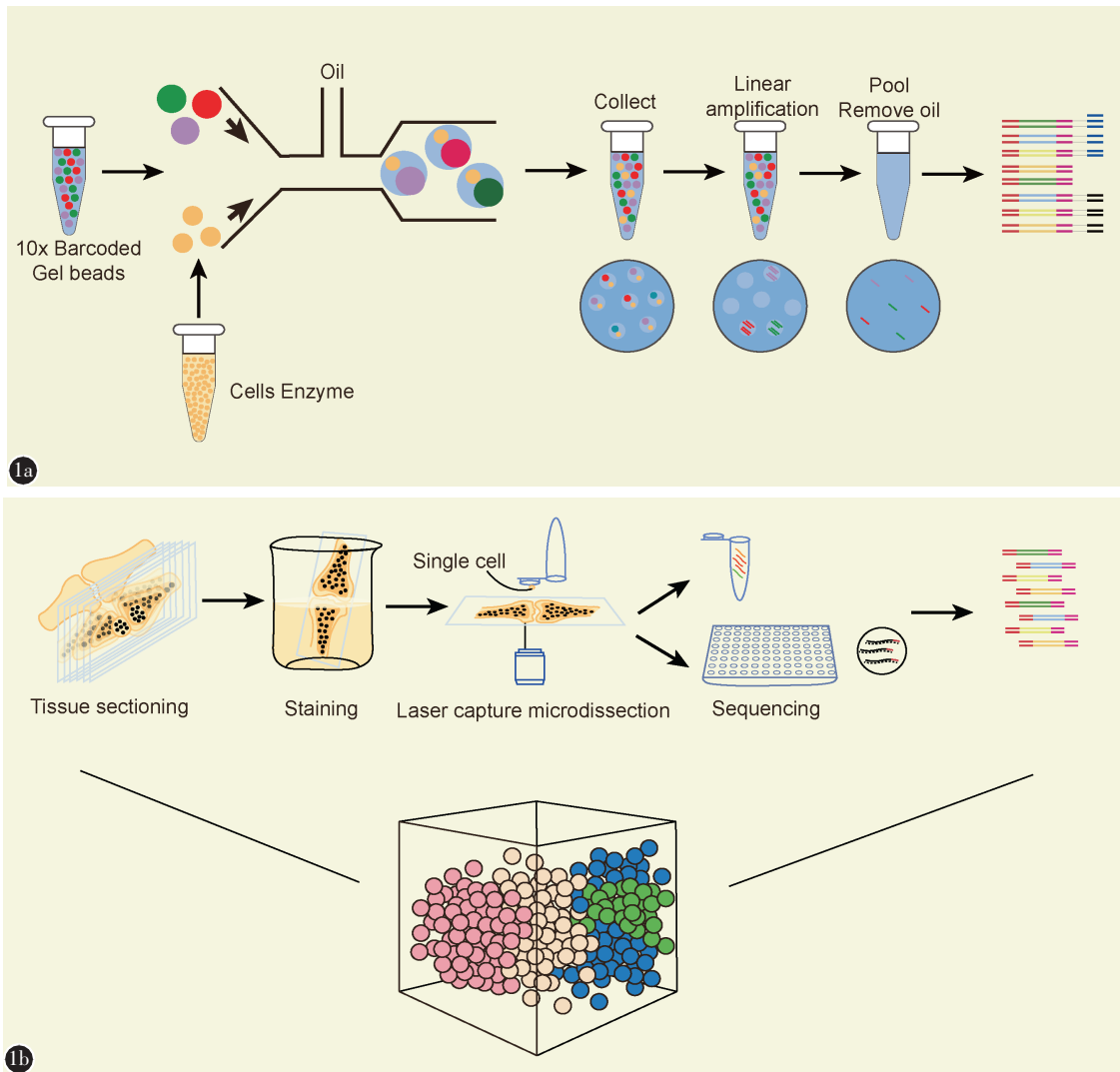


图 1 a 单细胞转录组测序 b 空间转录组测序。

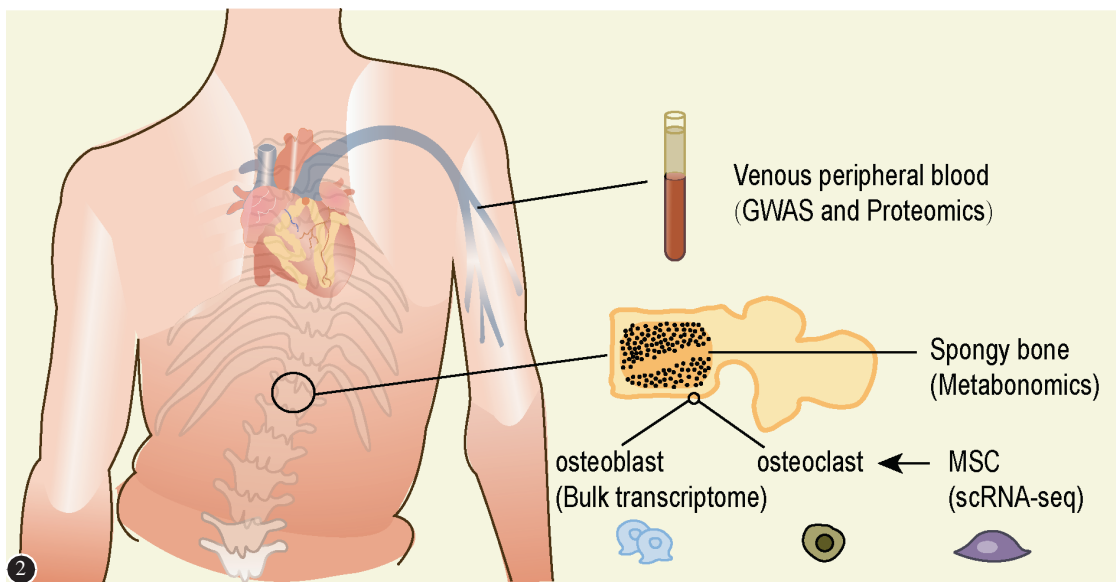


图 2 多组学技术应用于 AIS 时的取材成分。

的 5 个 SNP 位点进行分型,结果发现了与 AIS 密切相关的新易感位点:rs17861031 和 rs6137473,这进一步证实了 AIS 与遗传高度相关,也为后续针对 AIS 的病因学研究提供了依据。

2.1.2 外显子测序在 AIS 中的应用 通过全外显子测序,研究人员能够筛选出与 AIS 相关的罕见基因变异,确定 AIS 的易感基因。Wu 等在 965 例 AIS 患者和 976 名健康对照中对 CHD7 变异进行基因分型,将 96 例 AIS 患者进行全外显子组测序,同时评估 AIS 患者与腰椎间盘突出症患者椎旁肌的基因表达,发现 CDH7 中的 rs121434341 变异与 AIS 的发生和发展密切相关^[26]。此外,外显子测序技术还可用于确认 AIS 更多的易感位点。Wang 等^[27]对 195 例 AIS 患者进行了全外显子测序,敲除与 AIS 有关的两个动力相关蛋白的编码基因 DNAAF1 和 ZMYND10 后,成年斑马鱼出现了脊柱侧凸。因此,该实验结果表明破坏动力蛋白相关因子可能增强 AIS 的易感性。

近日,香港大学和香港中文大学的学者们联合在 Journal of Clinical Investigation 杂志上在线发表研究^[28]论文,该研究通过结合全基因组和全外显子测序,从多个 AIS 病人家系和不同种族来源的大量散发病例中,发现了与 AIS 遗传相关的新基因 SLC6A9,该基因编码甘氨酸转运蛋白(glycine transporter 1, GLYT1),且该基因突变会导致 AIS。研究团队利用斑马鱼作为疾病模型,检测了 SLC6A9 基因的不同突变如何影响中枢神经系统中甘氨酸浓度,发现甘氨酸浓度升高会抑制神经元活动,破坏中枢模式发生器(central pattern generator, CPG)控制的左右体轴周期性平衡,导致单侧神经元活动高于另一侧,这与 AIS 患者中发现的左右侧脊旁肌肌张力不平衡的现象一致。此外研究发现 CPG 发育缺陷会导致斑马鱼出现脊柱侧弯,用 GlyRs 拮抗剂或甘氨酸中和剂,可以显著降低斑马鱼动物模型的脊柱侧弯程度。此项研究提出 CPG 失调诱发 AIS 的全新理论,也为 AIS 早期诊断和干预提供了新的方向。

2.1.3 全基因组关联分析在 AIS 中的应用 目前有许多研究利用 GWAS 技术,通过分析实验对象的血液和软骨组织,鉴定与 AIS 相关的基因和位点。Ogura 等^[29]利用 GWAS 技术和全基因组关联分析技术对 2109 例受试者和 11140 例正常对照进行研究,鉴定出了 AIS 易感基因 BNC2,该基因的第三个内含子中含有最显著相关 SNPs (rs10738445)可以调控 BNC2 的转录活性,从而增加 AIS 发病的可能性。Khanshour 等^[30]利用 GWAS 技术首次对日本和美国的多个个人群进行对照实验并发现了 3 个联合影响 AIS 的新位点(CDH13, SOX6 和 ABO),这进一步完善了 AIS 的遗传信息。Makki 等^[31]通过 GWAS 分析人和小鼠的肋软骨组织,验证了先前已经报道过的两个基因位点(ADGRG6 和 BNC2)及其与 AIS 进展的联系,证明 AIS 的驱动因素之一是非编码序列中核苷酸的变异。Dai 等^[32]在对 AIS 女性患者和健康对照组进行 GWAS 分析后,又发现了位于 BOC 基因和 SEC16B 基因附近的两个易感位

点,但二者在 AIS 发病机制中发挥的作用仍有待进一步研究。近十年来,学者们利用 GWAS 已发现众多 AIS 易感位点和相关基因,包括 rs11190870、rs625039、rs11598564 等易感位点^[33]以及 FAT3、PITX1、GPR126、CDH13、ABO、SOX6、MIR4300HG、PAX1、SOCS3、IGF1 等相关基因^[34],这些发现为 AIS 病因学的深入研究提供了基础。

2.1.4 表观组学在 AIS 中的应用 表观组学在某种程度上可以解释 AIS 的发生机制、预测 AIS 进展程度。Wang 等对重度 AIS 患者、轻度 AIS 患者和健康人群各 5 例的血浆样本进行 miRNA 测序后得到三者的 miRNA 表达谱,发现重度 AIS 患者体内 miR-151a-3p 表达明显高于对照^[35]。由此可见,miR-151a-3p 可能会通过影响骨稳态来促进 AIS 的进展,这为 AIS 病理和发生机制的研究奠定基础。Meng 等^[36]通过比较两对曲线进展不一致的同卵双胞胎在 CpG 位点的基因组序列和甲基化状态,发现虽然在基因组层面上不存在显著差异,但位点 cg01374129 的甲基化程度降低与曲线的进展有关。因此,该位点有可能成为判断 AIS 的生物标志物。Mao 等^[37]通过分析 AIS 患者和健康人群各 50 例 DNA 样本,发现 COMP(软骨寡聚基质蛋白)的基因启动子甲基化与 AIS 的易感性和预后情况相关,因此可作为 AIS 患者治疗后效果的判断指标。

迄今为止,AIS 的个性化或精准医疗主要取决于基因组学的研究,Christen^[38]预测在未来将会有超越基因组学的技术,用于预测疾病的发展、提供精准的个性化治疗方案、扩展人们对疾病机制的理解,并协助开发出更有效的治疗方法。

2.2 转录组技术在 AIS 中的应用

2.2.1 普通转录组测序在 AIS 中的应用 Makki 等^[39]利用 RNA-seq 和染色质免疫沉淀法,发现了小鼠和人类组织中与 AIS 相关的新基因及活性调控元件的表达,确定了 AIS 的病因和治疗的新靶点。越来越多的研究表明 miRNA 与 AIS 疾病的发生和发展密切相关。Zhang 等^[40]通过 AIS 患者和健康人群的骨活检和原代成骨细胞来监测 miRNA 对 AIS 患者骨细胞功能的影响,结果发现 AIS 患者血液中的 miR-145 通过调控 CTNB1 基因在骨细胞和原代成骨细胞中过表达而推动 AIS 的进展,但 β -连环蛋白(β -catenin)基因的转录活性及表达下调又能恢复 AIS 患者的骨细胞功能。该实验首次证实了 miRNA/ β -连环蛋白信号通路在 AIS 患者骨细胞中的生物学作用,这将为后续 AIS 预后生物标志物的深入研究和治疗的靶点选择提供科学依据。关于长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)与 AIS 的研究较少,仅有部分研究能通过 RNA-Seq 技术获得 AIS 患者的 lncRNA 和 mRNA 表达谱。鲁扬虎^[41]通过测试健康女性和 AIS 女性患者各 5 例的外周血 lncRNA-mRNA 表达谱,首次发现 AIS 患者体内 lncRNA 和 mRNA 的表达明显区别于正常组,且差异性表达最显著的几个 lncRNA 在 AIS 的某些病理变化中发挥重要作用,该结果为女性易感 AIS 的病因提供了病理机制。

2.2.2 单细胞转录组测序技术在 AIS 中的应用 Yang 等筛选了 3 例分别经手术和保守治疗的 AIS 患者, 利用 scRNA-seq 技术比较二组患者脊柱松质骨细胞在发育过程中的差异, 发现保守治疗的 AIS 患者存在间充质干细胞和软骨细胞分化障碍的增加, 研究人员又通过细胞内和细胞间的信号通路分析, 提出 AIS 患者骨细胞分化障碍的潜在免疫机制^[42]。这一研究开创了在单细胞测序技术基础上构建 AIS 骨骼细胞分化发育图谱的先河, 为深入研究 AIS 发病机制和后续的病因学研究提供了重要的依据, 同时也为脊柱侧凸的早期诊断和治疗提供了全新的思路。有研究表明, AIS 患者凹侧肌肉干/祖细胞 1 型雌激素受体 (ESR1) 表达水平下调导致的成肌分化障碍是 AIS 发生发展的重要因素, 这也是近年来 AIS 病因学机制研究领域的重要突破之一。Shao 等^[43]利用单细胞转录组测序技术, 构建了 AIS 患者两侧椎旁肌单细胞转录组图谱, 发现凹侧肌肉干细胞存在 ESR1 表达水平的下调和成肌分化功能的抑制。又通过小分子干预, ESR1 过表达/敲低、肌肉干细胞特异性 ESR1 基因敲除小鼠等一系列实验明确 ESR1 通过 AKT/CREB/MYH 信号通路调控肌肉干细胞的分化, 且经雷洛昔芬 (raloxifene) 规律地作用于 AIS 动物模型后, 可以恢复 ESR1 信号进而缓解脊柱侧弯的进展。由此可见, 肌肉失衡可能是诱导 AIS 的原因之一, 雷洛昔芬可能成为治疗 AIS 的新手段, 有待继续深入研究。

2.2.3 空间转录组测序技术在 AIS 中的应用 骨骼和肌肉及其附属组织构成了复杂的结构, 空间转录组学技术在研究骨骼肌肉非正常发育对 AIS 病因形成过程具有独特的优势。目前, 对于复杂的肌肉骨骼结构, 如头盖骨和关节等部位, 通过应用空间转录组学技术, 对病患组织与健康组织之间进行差异分析, 从而检测发现更多的分子信息, 弥补了传统技术的不足^[44]。这有助于在病理区域发现共表达分子, 识别该区域中富集的细胞类型和病理途径。尽管目前尚未见报道利用空间转录组学技术来对 AIS 的病因学进行研究, 但这一技术被认为在未来的研究中将成为一个重要的研究领域。ST 将有助于更全面地理解 AIS 发病机制, 尤其是涉及骨骼肌肉和相关组织的异常发育, 从而为未来的疾病研究提供新的洞见。

2.3 蛋白质组学技术在 AIS 中的应用

蛋白质组学技术可用于分析 AIS 的病因和发病机制。Zhuang 等^[45]将 6 例 AIS 患者和 6 例非 AIS 的下肢骨折患者作为研究对象, 在提取骨髓后利用蛋白质组技术分析了两组人群的骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs) 差异, 结果在 AIS 患者的蛋白质组中共检测出 5 个与骨骼生长发育有关的异常蛋白, 提示 AIS 成骨减少可能是由于骨髓间充质干细胞的成骨能力减退。Zhu 等^[46]利用蛋白质组学对 5953 例 AIS 患者和 8137 例对照组进行分析后, 首次证实了 AIS 患者体内 Wnt/ β -catenin 信号通路中 β -catenin、TNIK 和 LBX1 的不对称表达, 为 AIS 发病机制的研究提供了新线索。Ra-

jasekaran 等^[47]分别对 3 例 AIS 患者脊柱侧凸型椎间盘 (SD) 与脑死亡患者的正常椎间盘 (ND) 进行蛋白质组检测, 结果发现与 ND 相比, 在 SD 组中维持细胞外基质结构以及参与转录和 DNA 修复的蛋白表达水平均下调, 而炎症蛋白和氧化应激反应蛋白表达水平上调。因此推断 AIS 是由多因素诱导的疾病, 且与蛋白质组的异常表达有关。

Cobb 角是测量侧凸曲度的方法之一, 可用于评估脊柱侧凸的严重程度。在一项关于蛋白质组与 Cobb 角相关性的研究中, 通过比较不同程度 AIS 患者与健康人群的血浆蛋白, 观察到 AIS 组患者的纤维蛋白、纤维蛋白原和钙调蛋白等蛋白的表达明显发生变化, 且用这些蛋白的变化与 Cobb 角之间建立的回归模型符合预期的假设^[48]。由此可见, 一些蛋白质既可作为 AIS 的潜在生物标志物, 又与脊柱侧凸的严重程度相关联。在另一项研究中, 同样是研究蛋白质组学与 Cobb 角的关系, Makino 等^[49]通过二维荧光差异凝胶电泳 (2D-DIGE), 对 20 名符合实验纳入标准的对照组和 61 例胸腰椎/腰椎曲度 AIS 患者进行蛋白质组分析后, 发现维生素 D 结合蛋白 (vitamin D binding protein, DBP) 的变化最显著, 并且与胸腰椎/腰椎曲度的 Cobb 角呈正相关。这项研究表明 DBP 以及多种凝血相关蛋白 (如凝血因子 VIII) 可能在 AIS 的发病机制中发挥作用。

此外, 通过分析肌肉相关蛋白的表达水平与 Cobb 角之间的关系, 可以评估 AIS 患者的曲线严重程度是否进展到手术的临界点。Wang 等^[50]对初次筛查时 Cobb 角达到 20° 且小于 30° 的实验对象提取了血浆样本, 通过 6 年的随访, 将骨骼已经成熟的实验对象分为进展组 (Cobb $\geq 45^\circ$) 和非进展组 (Cobb $< 6^\circ$), 同时选取健康对照组, 对三组实验对象血浆样本进行蛋白质组分析。结果发现与肌肉活动有关的 18 个差异表达蛋白在进展组中的表达均升高, 且 α -肌动蛋白在进展组和非进展组中均发生了变化, 这一结果充分证明 AIS 患者的肌肉活动相关蛋白水平与病情发展密切相关, 通过检测这些蛋白的表达水平, 能够为患者进行手术的时间点提供合理的建议, 有利于早期诊断和疾病进展的预测。

2.4 代谢组学技术在 AIS 中的应用

骨代谢异常促使了 AIS 的发生和进展。自 1986 年以来, 多名学者通过分析维生素 D (vitamin D, VD) 和骨代谢的关系后表示, 作为核心调控因子的维生素 D 含量降低及其受体的多态性可能会使体内的成骨细胞和破骨细胞比例失衡, 骨密度降低, 从而引起骨质疏松, 增加 AIS 的患病风险^[51]。Cheng 等^[52]通过动物模型和病例对照研究, 对 161 名 AIS 患者的 Wnt16 信号通路进行分析, 发现 AIS 患者的骨密度和 Wnt16 的水平虽然下降, 但通过高剂量的 VD 饮食可抑制骨质的流失, 提示 AIS 患者的 Wnt16 水平可能在一定程度上受到高剂量 VD 的控制, 从而影响 AIS 的进展。为了更深入地了解 AIS 患者的代谢特征, 特别是为了解释患病女孩身高更高、身体质量指数 (BMI) 和骨密度 (BMD) 更低的现象, Normand 等^[53]进行了一项研究, 比较了

19名 AIS 女孩和 19 名健康对照者的人体测量学和骨密度等代谢特征,结果显示脂肪因子可能与 AIS 的发展或进展有关。尽管这一结论还需要更大规模的研究来验证,但它为脂质组学的深入研究提供了理论基础。

血浆代谢产物能作为生物标志物,帮助 AIS 进行早期诊断。Xiao 等^[54]利用问卷调查和 Meta 分析的方式,在排除了其他类型的脊柱侧弯患者的基础上,通过检测所有参与实验的 12~18 岁 AIS 患者的临床指标和血浆成分后发现,AIS 患者的机体会激活与其相关的代谢途径,且血浆代谢产物的浓度(N-乙酰天冬氨酸等)出现不同程度的上升或下降,说明这些血浆代谢产物可能为 AIS 的诊断和治疗提供新的见解。

脂质组学(lipidomics)是代谢组学的一个分支,目前尚未有关于 AIS 病因学脂质组学研究。然而,已有大量研究通过这项技术来探索与 AIS 的临床检查指标相关的问题,这为 AIS 相关研究提供了实际参考价值。Sun 等^[55]利用 UPLC/QTOF-MS 方法分析了 30 例 AIS 患者和 44 例健康受试者的血清代谢物变化,发现 AIS 患者体内的 7 个差异代谢物中,脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)和激素敏感性脂肪酶(HSL)表达升高,提示患者的脂质代谢增加可能是导致 AIS 的病因之一,该结论同时也为 AIS 的临床诊断提供重要的线索。

组学技术的应用为 AIS 的诊断提供了新的思路和方法。AIS 的诊断主要依赖临床症状、影像学资料,但病程早期患者通常无明显症状和异常影像学表现,一定程度上限制了 AIS 的早期诊断^[56]。通过组学技术对生物标志物进行监测,能够定量、动态、无创地反映脊柱生长发育的变化,有助于在出现临床症状前对 AIS 进行早期诊断。

3 多组学技术联合分析在 AIS 中的应用

3.1 蛋白质组联合宏基因组在 AIS 中的应用

在检测 AIS 患者的肠道菌群的成分时,Shen 等^[57]通过 rRNA 测序技术和蛋白质组技术分析 51 例 AIS 患者和 34 例健康对照体内肠道菌群与血浆蛋白质组的变化。结果发现 AIS 患者的肠道菌群和血浆蛋白质均与健康组的结构存在差异,其中粪便普氏菌属的丰度与 AIS 患者的 Cobb 角呈正相关,且粪便普雷沃氏菌与 AIS 患者血浆中的纤连蛋白 1(fibronectin 1, FN1)表达呈正相关。这对于今后继续探索 AIS 的发病机制提供了理论基础。

3.2 蛋白质组联合代谢组在 AIS 中的应用

为了探索 AIS 患者与健康人群之间是否存在能量代谢相关差异蛋白,并探讨这些差异蛋白的表达是否与临床参数有关,是否受 AIS 易感基因 LBX1 的调节,Wang 等^[58]利用蛋白质组学和代谢组学技术,对 15 例 AIS 女性患者和 50 例女性健康对照者的血浆成分进行分析。结果发现 AIS 进展组中半乳糖代谢和糖酵解途径失调,且有 4 种差异蛋白的表达与 LBX1 呈负相关,说明 LBX1 可能是通过调节与能量代谢相关基因的表达进而在 AIS 中发挥作用

中。该结果为 AIS 的病因学和发病机制的研究提供了新的理论基础。此外,血浆蛋白质组学和代谢组学研究为建立 AIS 发病/进展预测模型提供了新的候选生物标志物。

4 总结与展望

多组学联合分析可以减少由单一组学分析带来的假阳性结果,更有利于研究疾病发生和发展过程中的生物学调控机制^[59]。近年来,基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学的新发现使得研究 AIS 机体的分子特征以及对环境刺激的反应模式成为可能,加速了我们对 AIS 复杂病因及其发生与进展的理解。然而,AIS 的病因学研究仍未达到理想状态,利用多组学技术探究 AIS 的相关文献数量有限,单一组学研究仍然占据主导地位。因此需要更多的综合数据来阐明引起 AIS 的调节机制,如单细胞测序技术联合蛋白组、代谢组或空间转录组,空间转录组联合空间蛋白组、数字空间多组学分析系统(digital spatial profiler, DSP)的病因学分析等。AIS 的多组学研究使我们对该病的预防和治疗充满希望,有助于建立 AIS 早期预警系统,并实施个体化的干预和治疗。

5 参考文献

1. Manzoni C, Kia DA, Vandrovicova J, et al. Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2018, 19(2): 286-302.
2. Marya S, Tambe AD, Millner PA, et al. Adolescent idiopathic scoliosis: a review of aetiological theories of a multifactorial disease[J]. *Bone Joint J*, 2022, 104-b(8): 915-921.
3. 尹若峰. 青少年特发性脊柱侧凸椎间盘软骨终板蛋白质组研究[D]. 中国协和医科大学, 2009.
4. Krassowski M, Das V, Sahu SK, et al. State of the field in multi-omics research: from computational needs to data mining and sharing[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 610798.
5. Karczewski KJ, Snyder MP. Integrative omics for health and disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(5): 299-310.
6. Rahim M, Collins M, September A. Genes and musculoskeletal soft-tissue injuries[J]. *Med Sport Sci*, 2016, 61: 68-91.
7. Hasin Y, Seldin M, Lusis A. Multi-omics approaches to disease[J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 83.
8. Feng S, Li J, Tian J, et al. Application of single-cell and spatial omics in musculoskeletal disorder research [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2271.
9. Prokop JW, May T, Strong K, et al. Genome sequencing in the clinic: the past, present, and future of genomic medicine [J]. *Physiol Genomics*, 2018, 50(8): 563-579.
10. Preissl S, Gaulton KJ, Ren B. Characterizing cis-regulatory elements using single-cell epigenomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2023, 24(1): 21-43.
11. Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell[J]. *Nat Methods*, 2009,

- 6(5): 377–382.
12. Wang L, Liu Y, Dai Y, et al. Single-cell RNA-seq analysis reveals BHLHE40-driven pro-tumour neutrophils with hyper-activated glycolysis in pancreatic tumour microenvironment[J]. *Gut*, 2023, 72(5): 958–971.
 13. 孙月秋, 于年祚, 张俊虎. 空间转录组学研究进展及其应用[J]. *分子科学学报*: 1–14.
 14. Chen WT, Lu A, Craessaerts K, et al. Spatial transcriptomics and in situ sequencing to study alzheimer's disease[J]. *Cell*, 2020, 182(4): 976–991.
 15. Cui M, Cheng C, Zhang L. High-throughput proteomics: a methodological mini-review[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(11): 1170–1181.
 16. Xu JY, Zhang C, Wang X, et al. Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma [J]. *Cell*, 2020, 182(1): 245–261.
 17. Schmidt DR, Patel R, Kirsch DG, et al. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(4): 333–358.
 18. Fontana RJ. Pathogenesis of idiosyncratic drug-induced liver injury and clinical perspectives [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(4): 914–928.
 19. Wang S, Sun ST, Zhang XY, et al. The evolution of single-cell rna sequencing technology and application: progress and perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2943.
 20. 朱婷, 周敬滨, 徐昕. 组学技术在前交叉韧带损伤研究中的应用[J]. *体育科学*, 2021, 41(3): 84–90.
 21. 李洋. 青少年特发性脊柱侧凸易感基因验证及序贯矫形技术治疗复杂脊柱畸形的临床研究[D]. 南京大学, 2021.
 22. Luo M, Zhang Y, Huang S, et al. The susceptibility and potential functions of the *lhx1* gene in adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 11: 614984.
 23. 刘刚. GPR126 在青少年特发性脊柱侧凸中基因多态性及 PUMC 分型关联性研究[D]. 北京协和医学院, 2017.
 24. 吴增玉, 张跃川, 彭越, 等. *SPRY4* 遗传多态性与中国汉族人群青少年特发性脊柱侧凸相关: 一项单中心回顾性研究[J]. *协和医学杂志*, 2023, 14(3): 553–558.
 25. Liu G, Liu S, Li X, et al. Genetic polymorphisms of *PAX1* are functionally associated with different PUMC types of adolescent idiopathic scoliosis in a northern Chinese Han population[J]. *Gene*, 2019, 688: 215–220.
 26. Wu Z, Dai Z, Yuwen W, et al. Genetic variants of *CHD7* are associated with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Spine*, 2021, 46(11): E618–E624.
 27. Wang Y, Liu Z, Yang G, et al. Coding variants coupled with rapid modeling in zebrafish implicate dynein genes, *dnaaf1* and *zmynd10*, as adolescent idiopathic scoliosis candidate genes[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 582255.
 28. Wang X, Yue M, Cheung JPY, et al. Impaired glycine neurotransmission causes adolescent idiopathic scoliosis[J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(2): e168783.
 29. Ogura Y, Kou I, Miura S, et al. A functional SNP in *BNC2* is associated with adolescent idiopathic scoliosis [J]. *The American Journal of Human Genetics*, 2015, 97(2): 337–342.
 30. Khanshour AM, Kou I, Fan Y, et al. Genome-wide meta-analysis and replication studies in multiple ethnicities identify novel adolescent idiopathic scoliosis susceptibility loci[J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(22): 3986–3998.
 31. Makki N, Zhao J, Liu Z, et al. Genomic characterization of the adolescent idiopathic scoliosis-associated transcriptome and regulome[J]. *Hum Mol Genet*, 2021, 29(22): 3606–3615.
 32. Dai Z, Wang Y, Wu Z, et al. Female-Specific Susceptibility Locus in *BOC* and *SEC16B* are Associated with Adolescent Idiopathic Scoliosis[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2021, 46(22): E1178–e1184.
 33. Jiang H, Qiu X, Dai J, et al. Association of rs11190870 near *LBX1* with adolescent idiopathic scoliosis susceptibility in a Han Chinese population[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(2): 282–286.
 34. Nada D, Julien C, Papillon-Cavanagh S, et al. Identification of *FAT3* as a new candidate gene for adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 12298.
 35. Wang Y, Zhang H, Yang G, et al. Dysregulated bone metabolism is related to high expression of miR-151a-3p in severe adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 4243015.
 36. Meng Y, Lin T, Liang S, et al. Value of DNA methylation in predicting curve progression in patients with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 489–496.
 37. Mao SH, Qian BP, Shi B, et al. Quantitative evaluation of the relationship between *COMP* promoter methylation and the susceptibility and curve progression of adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(2): 272–277.
 38. Christen P. Moving beyond the genome with computer modeling[J]. *Personalized Medicine*, 2018, 15(3): 145–148.
 39. Makki N, Zhao J, Liu Z, et al. Genomic characterization of the adolescent idiopathic scoliosis-associated transcriptome and regulome[J]. *Human Molecular Genetics*, 2020, 29(22): 3606–3615.
 40. Zhang J, Chen H, Leung RKK, et al. Aberrant miR-145-5p/ β -catenin signal impairs osteocyte function in adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Faseb j*, 2018: fj201800281.
 41. 鲁扬虎. 青少年特发性脊柱侧弯相关长链非编码 RNA 筛选及临床意义[D]. 第二军医大学, 2016.
 42. Yang Y, Yang M, Shi D, et al. Single-cell RNA Seq reveals cellular landscape-specific characteristics and potential etiologies for adolescent idiopathic scoliosis [J]. *JOR Spine*, 2021, 4(4): e1184.
 43. Shao X, Fu X, Yang J, et al. The asymmetrical *ESR1* signaling in muscle progenitor cells determines the progression of adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Cell Discov*, 2023, 9(1): 44.

44. Bhamidipati K, Wei K. Precision medicine in rheumatoid arthritis[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2022, 36(1): 101742.
45. Zhuang Q, Li J, Wu Z, et al. Differential proteome analysis of bone marrow mesenchymal stem cells from adolescent idiopathic scoliosis patients [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (4): e18834.
46. Zhu Z, Xu L, Leung-Sang Tang N, et al. Genome-wide association study identifies novel susceptible loci and highlights Wnt/beta-catenin pathway in the development of adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26 (8): 1577-1583.
47. Rajasekaran S, Tangavel C, Anand K, et al. Can scoliotic discs be controls for molecular studies in intervertebral disc research: insights from proteomics[J]. *Global Spine J*, 2022, 12(4): 598-609.
48. Wang Q, Wang C, Liu J, et al. Plasma proteomics analysis of adolescent idiopathic scoliosis patients revealed by Quadrupole-Orbitrap mass spectrometry [J]. *PROTEOMICS-Clinical Applications*, 2021, 15(4).
49. Makino H, Seki S, Kitajima I, et al. Differential proteome analysis in adolescent idiopathic scoliosis patients with thoracolumbar/lumbar curvatures[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 247.
50. Wang Y, Chen H, Zhang J, et al. Potential muscle-related biomarkers in predicting curve progression to the surgical threshold in adolescent idiopathic scoliosis—a pilot proteomic study comparing four non-progressive vs. four progressive patients vs. a control cohort[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(21).
51. 孙良文, 黄肖群, 黄杰. 维生素 D 及其受体在青少年骨代谢中的作用及对青少年特发性脊柱侧凸患者影响的研究进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2017, 27(11): 1041-1044.
52. Cheng KL, Li QQ, Wang Y, et al. Lower WNT16 expression in patients with adolescent idiopathic scoliosis – potential link to lower bone mass in AIS [J]. *Stud Health Technol Inform*, 2021, 280: 23-28.
53. Normand E, Franco A, Alos N, et al. Circulatory adipokines and incretins in adolescent idiopathic scoliosis: a pilot study [J]. *Children(Basel)*, 2022, 9(11).
54. Xiao L, Yang G, Zhang H, et al. Nontargeted metabolomic analysis of plasma metabolite changes in patients with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Mediators of Inflammation*, 2021, 2021: 1-11.
55. Sun ZJ, Jia HM, Qiu GX, et al. Identification of candidate diagnostic biomarkers for adolescent idiopathic scoliosis using UPLC/QTOF-MS analysis: a first report of lipid metabolism profiles[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22274.
56. 梁靖怡, 莫蕙, 张晓辉, 等. 女性青少年特发性脊柱侧弯与其中医体质类型的相关性分析 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2022, 30(6): 30-34.
57. Shen N, Chen N, Zhou X, et al. Alterations of the gut microbiome and plasma proteome in Chinese patients with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Bone*, 2019, 120: 364-370.
58. Wang Y, Li M, Chan CO, et al. Biological effect of dysregulated LBX1 on adolescent idiopathic scoliosis through modulating muscle carbohydrate metabolism [J]. *Spine J*, 2022, 22(9): 1551-1565.
59. Vandereyken K, Sifrim A, Thienpont B, et al. Methods and applications for single-cell and spatial multi-omics[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2023, 24(8): 494-515.

(收稿日期:2023-11-30 末次修回日期:2024-04-11)

(本文编辑 彭向峰)