

Journal für
Mineralstoffwechsel
Zeitschrift für Knochen- und Gelenkerkrankungen
Orthopädie • Osteologie • Rheumatologie

**Osteoporose und Genetik des
Knochenstoffwechsels**

Obermayer-Pietsch B

Journal für Mineralstoffwechsel

2002; 9 (1), 7-12

Homepage:

**[www.kup.at/
mineralstoffwechsel](http://www.kup.at/mineralstoffwechsel)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Indexed in SCOPUS/EMBASE/Excerpta Medica
www.kup.at/mineralstoffwechsel

ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT
FÜR KNOCHEN UND MINERALSTOFFWECHSEL
ÖGKM

Offizielles Organ der
Österreichischen Gesellschaft
zur Erforschung des Knochens
und Mineralstoffwechsels



Österreichische Gesellschaft
für Orthopädie und
Orthopädische Chirurgie



Österreichische
Gesellschaft
für Rheumatologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. b. b. GZ02Z031108M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

OSTEOPOROSE UND GENETIK DES KNOCHENSTOFFWECHSELS

Summary

Osteoporosis exhibits a substantial genetic component. Several approaches provide us with new insights into molecular pathophysiology of bone and bone metabolism. 'Gene mapping' and the relation to phenotypic expression is a very complex but promising approach supported by recent progress in the human genome project. Several genetic loci such as the low-density lipoproteins 5 gene have been recently identified. Candidate genes such as hormonal receptor, cytokine, and collagen genes are being analysed including complex gene-gene and gene-environment interactions and will be important for future functional analysis of bone disorders. Mutations in the collagen

genes are important for some rare diseases such as the osteoporosis-pseudoglioma syndrome or osteogenesis imperfecta but possibly also for frequent disturbances of connective tissues as reported for congenital hip dysplasia which may affect about 10 % of the female Caucasian population. In these patients low bone mineral density at the hip is associated with increased joint laxity and disturbances of bone and collagen metabolism and may be explained by changes in the collagen I alpha 1 gene. In conclusion, we are looking forward to important new insights into skeletal pathophysiology that will contribute to new terms of diagnosis and treatment in our patients.

genetischer Mechanismen des Knochenstoffwechsels haben in jüngster Vergangenheit einige wichtige Zugangswege eröffnet:

Zum einen sind dies die systematische Durchleuchtung des gesamten menschlichen Genoms nach Genloci, die mit Knochendichte und anderen wichtigen Meßgrößen assoziiert sind („positioneller Ansatz“). Wesentlich dazu beigetragen hat die Entwicklung des Human Genome Projects (HUGO), das heute u. a. einen raschen Zugriff auf bekannte Sequenzen und damit auch den bisher bekannten funktionellen Hintergrund knochenrelevanter Genorte erlaubt. Diese aufwendige Analyse wird allerdings kompliziert durch die im Lauf der Lebensphasen durchaus unterschiedliche Genexpression und durch Gensequenzen, die neben zahlreichen bereits dokumentierten Genen noch ohne funktionelle Zuordnung sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Osteoporose ist in hohem Maß genetisch determiniert. Neue Wege der molekularbiologischen Forschung haben sich in den letzten Jahren auf diesem Gebiet etabliert. „Gene mapping“ mit polymorphen genetischen Markern auf der Suche nach Phänotyp-assoziierten Genen ist ein aufwendiges, aber vielversprechendes Verfahren und wird durch die Erkenntnisse des Human Genome Projects beschleunigt. So wurde jüngst u. a. das Low-density Lipoprotein 5-Gen als wichtig für den Knochenstoffwechsel identifiziert. Kandidatengene wie Hormonrezeptor-, Cytokin- oder Kollagen-Gene werden hinsichtlich ihrer Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen untersucht und erlauben neue funktionelle Einsichten in Erkrankungen des Knochenstoffwechsels. Mutationen der Kollagen-Gene sind bei einigen seltenen Erkrankungen, wie dem Osteoporose-Pseudogliom-Syndrom oder der Osteogenesis imperfecta gefunden worden, könnten aber auch für häu-

fige Varianten von Bindegewebsstörungen wie der congenitalen Hüftdysplasie verantwortlich sein, die etwa 10 % der weiblichen kaukasischen Bevölkerung in unterschiedlichem Ausmaß betrifft. Osteoporose am Schenkelhals und erhöhte Gelenk laxizität sowie andere generalisierte Veränderungen des Knochen- und Kollagenstoffwechsels können hier möglicherweise ebenfalls durch Störungen des Kollagen I alpha 1-Gens erklärt werden. In Summe können wir zahlreiche neue Einsichten in die Pathophysiologie des Skelettsystems erwarten, die uns auch neue Zugangswege für Diagnostik und Therapie unserer Patienten ermöglichen werden.

Ein weiterer Ansatz zur Eingrenzung von wichtigen, die Eigenschaften von Knochen und Bindegewebe beeinflussenden Faktoren sind Gene, die aufgrund des bisherigen Wissens bereits mit dem Knochenstoffwechsel in Verbindung gebracht wurden. Häufig kann über den bekannten Wirkungsmechanismus dieser Kandidatengene bereits eine Interpretation der funktionellen Störungen bei Mutationsträgern erarbeitet werden.

Ein neuer Ansatz ist die systematische Untersuchung von Genen, die biomechanische Reaktionen des Knochens in eine molekularbiologisch nachvollziehbare Genexpression übersetzen. Bisher sind einige interessante in vitro-Experimente dazu durchgeführt worden.

Der ursprünglich älteste Zugangsweg ist ein „funktioneller“, wo aus der Kenntnis pathologischer Stoffwechselprodukte molekularbiologische Informationen abgeleitet werden, die dann zur Identifikation des zugrundeliegenden Gendefektes führen können. Auch dabei beschleunigt die Aufklä-

EINLEITUNG

Die Knochendichte als wesentlicher Prädiktor von Knochenfrakturen ist wie viele andere Eigenschaften von Knochen und Bindegewebe in hohem Maß genetisch determiniert. Neue Entwicklungen auf dem weiten Feld

zung der menschlichen Gensequenz die Suche nach den beteiligten Genabschnitten.

Alle diese Zugangswege sind für die gesamte Medizin außerordentlich wichtig und sollen am Beispiel einiger Modelle aus der Osteoporose- und Knochenstoffwechselforschung dargestellt werden.

GENE FÜR HOHE KNOCHENMASSE

Vor einigen Jahren fiel in Waltham, MA, USA, eine Familie auf, die eine zumindest fünffach über den normalen Z-Score erhöhte Knochendichte aufwies, was auch bei uns im klinischen Alltag gelegentlich beobachtet wird. Trotz mehrerer schwerer Unfälle hatte keines der Familienmitglieder je einen Knochenbruch erlitten. Die zugrunde liegenden genetischen Determinanten wurde durch Linkage-Analyse mittels polymorpher genetischer Marker zunächst auf das Chromosom 11q12-13 festgelegt, das den höchsten LOD-Score („logarithm of the odds“, statistische Wahrscheinlichkeit der Assoziation von Genlocus und untersuchtem Merkmal) in Zusammenhang mit dem Phänotyp der erhöhten Knochenmasse aufwies (HBM, high bone mass). Durch systematische Suche nach Mutationen in dieser Region, die mit dem HBM-Phänotyp segregierten, wurde ein Aminosäureaustausch in einer Unter-einheit des Low-density-Lipoproteins 5 (LRP5) entdeckt. Nach der Analyse von über 1000 Individuen scheint diese Mutation ausschließlich bei Personen mit HBM aufzutreten und wurde bei in situ-Hybridisierung auch in der Remodeling-Zone langer Röhrenknochen gefunden [1]. Fast zeitgleich ist von der Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group aus einem völlig anderen Forschungsbereich ein Bericht über eine Verbindung von LRP5-Mutationen mit Knochenwachstum und Augenentwicklung publiziert worden ([2], siehe auch Abschnitt Bindegewebe).

Damit können möglicherweise Patienten mit niedriger Knochenmasse neue diagnostische und therapeutische Optionen eröffnet werden.

Auf der Suche nach Genen für niedrige Knochenmasse beschäftigen sich zahlreiche Gruppen mit der oben erwähnten QTL-Analyse („quantitative trait linkage“) von großen Osteoporose-Familien oder Zweier- und Dreiergruppen betroffener Personen, um Osteoporose-relevante Gene zu identifizieren. Statistisch interessante LOD-Scores von über 2 und damit Gen-Regionen von hoher Assoziation mit Osteoporose sind u.a. auf den Chromosomen 1q, 4, 5q, 6p, 11q, 17 und 19 gefunden worden [3] – also an vielen Stellen des Genoms. Dieser „positionelle“ Ansatz könnte in Zukunft einige Überraschungen bringen, wenn Gene identifiziert werden, die bisher nicht mit dem Knochenstoffwechsel in Verbindung gebracht worden sind. Alternativ kann neben dieser ‚ungezielten‘ Suche ein „gene mapping“ auch für Kandidatengene (s. u.) durchgeführt werden, wie es u. a. für den PTH-Rezeptor publiziert worden ist [4].

KANDIDATENGENE FÜR DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL

Seit Mitte der 90er Jahre wird intensiv an der Aufklärung von Genen gearbeitet, die den Knochenstoffwechsel beeinflussen. Eine Reihe von endo- und apokrinen Faktoren kommt hier in Betracht („Kandidatengene“). Von den bisher am meisten untersuchten Genen stehen u.a. das kontroversiell diskutierte Vitamin D-Rezeptor-Gen (VDR) und das Östrogenrezeptor alpha-Gen hervor, zu denen bisher die meisten Publikationen vorliegen [5, 6]. Viele dieser Genvarianten scheinen einem starken Einfluß von Umweltfaktoren zu unterliegen und sind daher im Kontext von Ernährung, Zusatzkrankungen und Lebensphasen zu interpretieren [7–9]. Zusam-

menhänge mit Entzündungsfaktoren und Cytokin-mediierten Mechanismen des Knochenstoffwechsels, wie u. a. Polymorphismen des TGF-beta1-Gens und des VDR [10, 11], eröffnen neue Perspektiven in der Bewertung von lokalen Regulatoren, auch wenn die berechneten Effekte für jeden einzelnen Genotyp bei gesunden Personen relativ gering sein sollten. Neuere Studien beschäftigen sich u. a. mit einem vielversprechenden Genlocus aus der Kollagenfamilie, dem Kollagen I alpha 1-Gen (Abb. 1) [12]. Hier wurden Assoziationen einzelner Genotypen sowohl zu Frakturinzidenz als auch zu biomechanischen und funktionellen Eigenschaften des Knorpelgewebes identifiziert und in vitro nachgewiesen [13]. Geschlechtsspezifische Unterschiede genetischer Determinanten der Osteoporose werden u. a. in Polymorphismen von IGF-I und Aromatase-Genen vermutet [14].

Insgesamt geht die Entwicklung innerhalb der Analyse der Kandidatengene zur Zeit in eine Bewertung von Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen, die eine große Herausforderung an wissenschaftliche Studien hinsichtlich Probandenzahl, technischer Durchführung und statistischer Methoden [15] darstellt. Hier werden die Mikroarray-Technologie und andere neue Automatisierungen molekularbiologischer Untersuchungen, die einen „High-throughput“, einen großen Durchlauf an Proben und simultan ablaufenden Gentests ermöglichen, unser Verständnis von den Zusammenhängen im Knochenstoffwechsel wesentlich erweitern.

BIOMECHANISCHE EIGENSCHAFTEN UND GENETIK

Rezente in vitro-Versuche und Untersuchungen an Knockout-Mäusen über die Umsetzung von physikalischen und biomechanischen Reizen am Knochen eröffnen eine neue experimentelle Dimension. So lösen Schock-

wellen an Knochenmarkszellen über eine Induktion von TGF-beta ebenso Knochenneubildung aus [16], wie das Fehlen von Prostaglandin E2 in EP1- und EP2-knock-out Mäusen die Adaptation des Knochens auf mechanische Stimuli vermindert [17]. Im Jänner 2002 sind weitere Daten über eine Superoxid-medierte Wirkung auf Osteoprogenitorzellen über den core binding factor 1 (CBFA1) und eine modulierte Osteocalcin-Expression erschienen [16], die Einblicke in die komplexe Interaktion von Genkaskaden nach biomechanischer Stimulation des Knochens geben. Damit können bisher bereits klinisch bekannte Phänomene besser interpretiert und in diagnostische und therapeutische Maßnahmen umgesetzt werden.

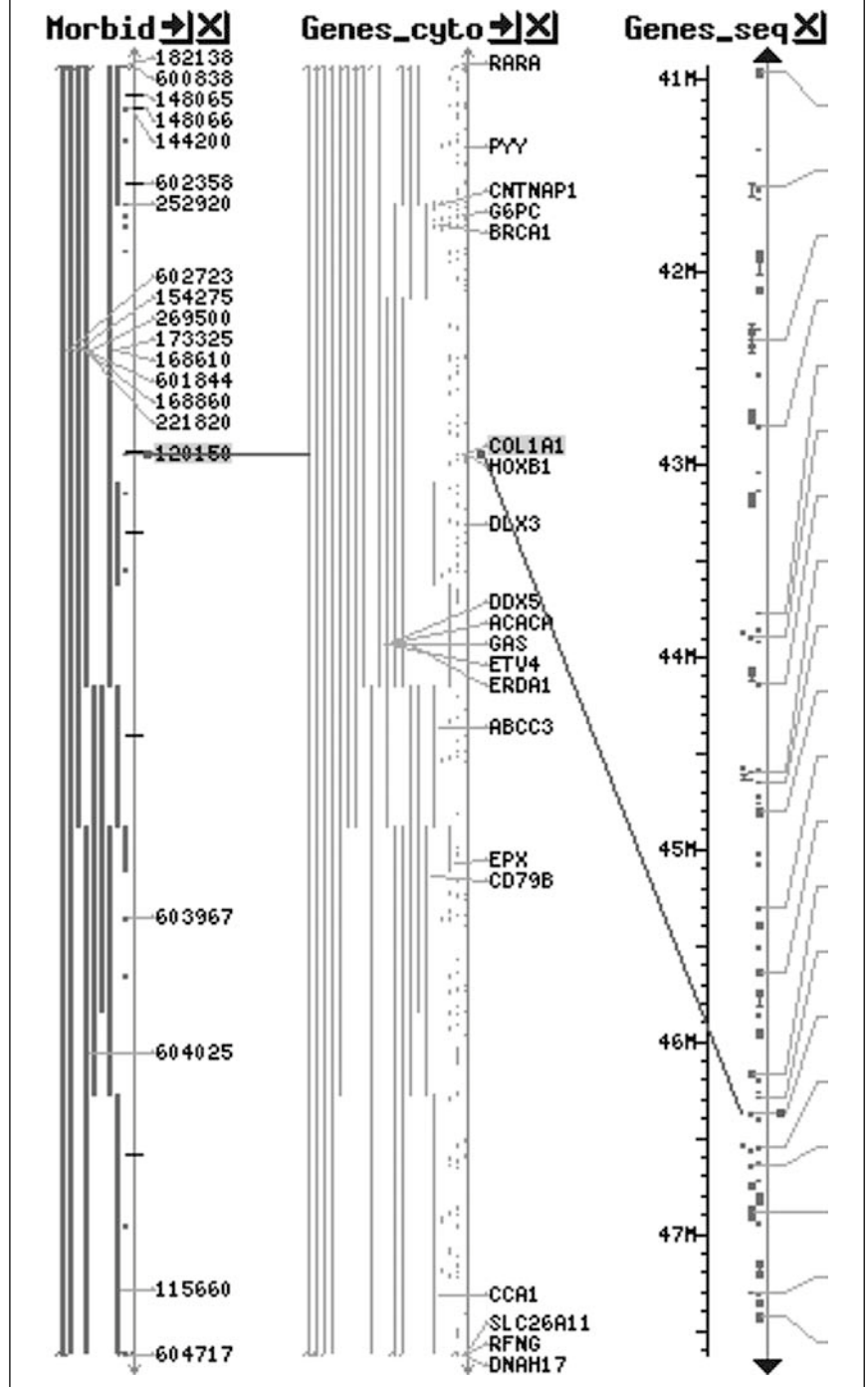
KOLLAGEN, BINDEGEWEBE UND OSTEOPOROSE

Gene, die für den Kollagenstoffwechsel wichtig sind, konnten in jüngster Vergangenheit anhand von seltenen Krankheitsbildern wie des Osteoporose-Pseudogliom-Syndroms [18] und der Osteogenesis imperfecta [19] näher analysiert werden. Beide Forschungsgebiete werden anlässlich des Osteologie-Kongresses in Graz ausführlich diskutiert.

Ein von klinischen Beobachtungen ausgehender Ansatz ist Gegenstand unserer eigenen Untersuchungen an adulten Patienten mit angeborener Hüftdysplasie (CHD). Diese häufigste skeletäre Fehlbildung mit einer Inzidenz von 7–13 % in Mitteleuropa geht mit einer signifikant verminderten Knochendichte an der Hüfte und einem damit möglicherweise deutlich gesteigerten Hüftfrakturrisiko einher [20]. Eine genetische Anamnese wurde mehrfach epidemiologisch angenommen [21], bisher konnte allerdings kein Genlocus identifiziert werden.

Auffallend war schon in der Vergangenheit [22] eine Häufung von Her-

Abbildung 1: Ausschnitt aus Genlocus für Collagen I alpha 1 Gen am Chromosom 17q21.31
(Quelle: National Center of Biotechnology Information (NCBI) public databases – GenBank, Accession Number 120150)



nien und eine erhöhte Gelenkslaxizität bei diesen Patienten, die wir an einem Kollektiv von 150 erwachsenen Patientinnen mit CHD neben Knochendichte (LWS, Hüften) und Ultraschallmessungen (Radius, Finger und Calcaneus) und einer eingehenden biochemischen Knochenstoffwechsel-Charakterisierung im Vergleich zu 249 knochengesunden altersgleichen Frauen überprüften. Letztere umfaßte u. a. Osteocalcin (OC), Serum Crosslaps (CTX), N-terminales Typ I Prokollagen (PINP) und andere Kollagenprodukte, sowie Osteoprotegerin (OPG) und Parameter des Vitamin D-Stoffwechsels.

Es fand sich neuerlich eine signifikante Erniedrigung der Knochendichte am Schenkelhals (neck, ward) gegenüber dem Kontrollkollektiv ($p = 0,01$ bzw. $0,04$). Der Knochenstoffwechsel war bei Patientinnen mit CHD gesteigert (OC, $p = 0,0001$; CTX, $p = 0,03$), die PINP-Werte signifikant erhöht ($p = 0,03$). Signifikant gesteigert waren Gelenkslaxizität ($p = 0,02$) und das Auftreten von Hernien ($p = 0,009$) und peripheren Knochenbrüchen ($p = 0,03$) bei CHD-Patientinnen.

Von den bisher untersuchten Genloci fand sich keine auffallende Änderung der Genotypenfrequenz u. a. des Kollagen I alpha1-Sp1-Polymorphismus bei CHD-Patienten. Träger des Genotyps „s“ zeigten allerdings signifikant höhere CCD-Winkel am Schenkelhals, höhere Gelenkslaxizität, niedrigere Geburtsgröße, niedrigere PINP- und erhöhte OPG-Spiegel.

In Zusammenfassung der vorliegenden präliminären Ergebnisse erscheint die kongenitale Hüftdysplasie als Veränderung des gesamten Knochen- und Kollagenstoffwechsels auch im Erwachsenenalter, die möglicherweise fast jede zehnte Frau in Österreich in unterschiedlichem Ausmaß betrifft. Die klinischen Veränderungen mit erhöhter Bindegewebslaxizität und die biochemischen Veränderungen deuten auf eine Störung des Kollagen-

stoffwechsels hin. Erste Ergebnisse von Genloci des Kollagen I alpha1-Gens, dem quantitativ wichtigsten Kollagen, unterstützen diese Hypothese und werden durch derzeit laufende Analysen überprüft.

AUSBLICK

Mit der ständig wachsenden Flut an Publikationen über Genetik von Osteoporose und Knochenstoffwechsel wächst auch unsere Kenntnis von Zusammenhängen der Knochenbiologie bei Gesunden und Kranken. Die zukünftige Anwendung dieses Wissens ist sowohl eine wissenschaftlich-medizinische als auch eine ethische Herausforderung. In jedem Fall werden davon in den nächsten Jahren entscheidende Impulse für Erkrankungsvorhersage, Diagnose, Prognose und Therapie von Knochenkrankungen zu erwarten sein.

Damit verbunden sind Fragen der Gewinnung und Weitergabe genetischer Informationen, die die Gesellschaft und jeden Einzelnen vor komplexe Probleme stellen. Da zahlreiche genetische Marker u. a. Einfluß auf die Knochenspitzenmasse haben und durch Umweltfaktoren beeinflusst werden können, stellt sich die Frage nach einer Früherkennung in der Wachstumsphase, die für eine sehr spät manifestierende multifaktorielle Erkrankung wie die Osteoporose auf gesellschaftliche Kontroversen stoßen könnte. In einer zunehmend älter werdenden Bevölkerung ist ein fundierter Zugang zu neuen Diagnose- und Therapiestrategien jedoch aus sozioökonomischer und vor allem menschlicher Sicht in jedem Fall von großer Bedeutung.

Literatur:

1. Little RD, Carulli JP, Del Mastro RG et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 11–9.

2. Gong Y, Slee RB, Warman ML et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001; 107: 513–23.
3. Devoto M, Specchia C, Li HH et al. Variance component linkage analysis indicates a QTL for femoral neck bone mineral density on chromosome 1p36. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 2447–52.
4. Duncan EL, Brown MA, Sinsheimer J, et al. Suggestive linkage of the parathyroid receptor type 1 to osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1993–9.
5. Rizzoli R, Bonjour JP, Ferrari SL. Osteoporosis, genetics and hormones. *J Mol Endocrinol* 2001; 26: 79–94.
6. Hobson EE and Ralston SH. Role of genetic factors in the pathophysiology and management of osteoporosis. *Clinical Endocrinol* 2001; 54: 1–9.
7. Obermayer-Pietsch B, Frühauf G, Chararas K et al. Association of the vitamin D-receptor genotype „BB“ with low bone density in hyperthyroidism. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1950–5.
8. Krall EA, Parry P, Lichter JB, Dawson-Hughes B. Vitamin D receptor alleles and rates of bone loss: influences of years since menopause and calcium intake. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 978–84.
9. Chen HY, Chen WC, Tsai HD et al. Relation of the estrogen receptor alpha gene microsatellite polymorphism to bone mineral density and the susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Chinese women in Taiwan. *Maturitas* 2001; 40: 143–50.
10. Yamada Y. Association of polymorphisms of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 765–71.
11. Obermayer-Pietsch B, Lange U, Tauber G et al. Association of *FokI*-polymorphisms of the vitamin D receptor Gene with bone density and inflammatory activity of patients with ankylosing spondylitis. *J Bone Miner Res*; submitted 2002.
12. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, et al. Relation of alleles of the collagen type I α 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal woman. *N Engl J Med* 1998, 338: 1016–21.
13. Mann V, Hobson EE, Li B, et al. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001; 107: 899–907.
14. Gennari L, Brandi ML. Genetics of male osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2001; 69: 200–4.
15. Devlin B, Roeder K, Bacanu S. Unbiased methods for population-based association studies. *Genetic Epidemiol* 2001; 21: 273–84.
16. Wang FS, Wang CJ, Sheen-Chen SM, et al. Superoxide mediates shock wave induction of ERK-dependent osteogenic transcription factor (CBFA1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors. *J Biol Chem* 2002; Jan 09 (in Druck).
17. Jin G, Sah RL, Li YS, et al. Biomechanical regulation of matrix metalloproteinase-9 in

cultured chondrocytes. J Orthop Res. 2000; 18: 899–908.

18. Gong Y, Vikkula M, Warman ML et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome, a disorder affecting skeletal strength and vision, is assigned to chromosome region 11q12-13. Am J Hum Genet 1996; 59: 146–51.

19. Horwitz EM, Prockop DJ, Gordon PL et al. Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfecta. Blood 2001; 97: 1227–31.

20. Obermayer-Pietsch BM, Walter D, Kotschan S et al. Congenital hip dysplasia and

bone mineral density of the hip – a new risk factor for osteoporotic fracture? J Bone Miner Res 2000; 15: 1678–82.

21. Sollazzo V, Bertolani G, Calzolari E et al. A two-locus model for non-syndromic congenital dysplasia of the hip (CDH). Ann Hum Genet 2000; 64: 51–9.

22. Wynne-Davies R. Acetabular dysplasia and familial joint laxity: two etiological factors in congenital dislocation of the hip. A review of 589 patients and their families. J Bone Joint Surg Br 1970; 52: 704–16.

Korrespondenzadresse:

Univ.-Prof.

*Dr. med. Barbara Obermayer-Pietsch
Klin. Abteilung für Endokrinologie
und Nuklearmedizin*

*Molekularbiologisches Labor und
§68-Einrichtung zur Durchführung von
Genanalysen und Genetikambulanz
Medizinische Universitätsklinik
A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 15
Email: barbara.obermayer@uni-graz.at*

ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR MINERALSTOFFWECHSEL

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(mindestens 4 Ausgaben) zum
Preis von € 36,- (Stand 1.1.2011)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
A-3003 Gablitz, Mozartgasse 10, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm
