

基础研究

易感基因 CELSR2 与汉族青少年特发性
脊柱侧凸的相关性研究

薛冰川, 王煜文, 吴志冲, 戴志成, 冯振华, 徐磊磊, 朱泽章, 邱 勇

(南京大学医学院附属鼓楼医院脊柱外科 210008 南京市)

【摘要】目的: 在中国汉族人群中验证易感基因 CELSR2 与青少年特发性脊柱侧凸 (adolescent idiopathic scoliosis, AIS) 发病的相关性。**方法:** 利用等位基因特异性多重连接酶检测反应在 1794 例 AIS 患者和 1040 例正常对照人群中, 对既往报道的 CELSR2 基因的易感位点 rs141489111、rs6698843 和 rs2281894 进行基因分型。同时在本中心全基因组数据库中分析 CELSR2 基因其他单核苷酸多态性位点 (SNP) 的基因分型信息。术中收集 45 例 AIS 患者 (AIS 组) 和 10 例年龄匹配的脊柱外伤患者 (对照组) 的椎旁肌, 比较两组椎旁肌中基因表达水平的差异。利用卡方检验分析组间 SNP 位点最小等位基因频率差异, 采用 T 检验对组间的基因表达水平进行统计分析。**结果:** 1794 例 AIS 患者和 1040 例正常对照人群中, rs141489111 位点未检测到突变, 所有研究对象基因型均为 GG。SNP 位点 rs6698843 和 rs2281894 的基因型及等位基因频率在 AIS 和正常对照人群间未见显著性差异 ($P < 0.05$)。GWAS 数据库显示其他 7 个位于 CELSR2 基因上的 SNP 位点与 AIS 亦无显著相关性 ($P < 0.05$)。CELSR2 基因在 AIS 组和对照组椎旁肌的表达水平无显著性差异 ($P < 0.05$)。**结论:** 既往报道的易感基因 CELSR2 上的突变位点和多态性位点均未在中国汉族人群中得到验证, AIS 患者椎旁肌组织中 CELSR2 表达未见明显异常。CELSR2 可能与汉族 AIS 的发生无关。

【关键词】 青少年特发性脊柱侧凸; CELSR2; 突变; 基因多态性

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.09.08

中图分类号: R682.3, R394 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2019)-09-0828-06

The correlation between CELSR2 gene and the susceptibility of adolescent idiopathic scoliosis in the Chinese Han nationality/XUE Binchuan, WANG Yuwen, WU Zhichong, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2019, 29(9): 828-833

【Abstract】 Objectives: To validate the correlation between the CELSR2 gene and the susceptibility of adolescent idiopathic scoliosis (AIS) in the Chinese Han population. **Methods:** Allelic specific multiple ligase detection reactions were used to genotype the previously reported CELSR2 gene susceptibility loci rs141489111, rs6698843 and rs2281894 in 1794 AIS patients and 1040 healthy controls. The genotyping information of other single nucleotide polymorphism sites (SNPs) of the CELSR2 gene was analyzed based on the GWAS database we previously published. The paravertebral muscles of 45 AIS patients (AIS group) and 10 age-matched spinal trauma patients (Control group) were collected during the operation, which were used to evaluate the expression tissue of CELSR2. Chi-square test was used to analyze the difference of the minor allele frequency (MAF) of SNPs between the two groups, and Student's t test was used to statistically compare the gene expression level. **Results:** No mutation was detected in the rs141489111 locus of 1794 AIS patients or 1040 healthy controls, and all subjects had homozygous genotype GG. The genotypes and allele frequencies of rs6698843 and rs2281894 were not significantly different between the AIS and control groups ($P < 0.05$). The GWAS database showed that there was no significant correlation regarding genotypes or allele frequencies of the other seven SNP loci located in the CELSR2 gene between the two groups ($P < 0.05$). Moreover, CELSR2 mRNA expression of paraspinal muscle in AIS patients was comparable with that in the controls ($P < 0.05$).

Conclusions: The mutation and polymorphisms sites of CELSR2 gene mentioned in previous reports have not

第一作者简介: 男 (1993-), 硕士研究生, 研究方向: 脊柱畸形

电话: (025)83102022 E-mail: bingchuan_xue@163.com

通讯作者: 邱勇 E-mail: scoliosis2002@sina.com

been validated in Chinese Han population in our study, and there was no obvious abnormality in CELSR2 expression in paravertebral muscles of AIS patients. Therefore, CELSR2 may not be related to the onset of AIS in Han population.

【Key words】 Adolescent idiopathic scoliosis; CELSR2; Mutation; Single nucleotide polymorphism sites

【Author's address】 Department of Spine Surgery, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China

青少年特发性脊柱侧凸(adolescent idiopathic scoliosis, AIS)是一种好发于青春期的复杂脊柱畸形,发病率约为 1%~3%^[1]。尽管已有大量关于 AIS 病因学的研究发现 AIS 存在显著家族聚集现象,但其确切的致病因素仍不明确^[2-4]。既往研究表明, AIS 患者有约 11% 的一级亲属出现脊柱侧凸^[5]。提示遗传因素在 AIS 发病中起着重要作用。AIS 的遗传模式目前不详,既往学者曾提出多种不同的遗传方式,包括常染色体显性遗传、X 连锁遗传和多因子遗传等^[6],但目前被普遍接受的观点是, AIS 的发病及进展受多种不同致病基因共同影响^[7]。阐明 AIS 患者的基因结构对揭示 AIS 病因、预测疾病进展和改善治疗手段有着重要意义。为了探究 AIS 的遗传背景, Miller 等^[8]首先将遗传连锁分析和全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)应用于家族性 AIS 患者,并揭示了几个与 AIS 相关的候选区域^[8]。随后,通过候选基因关联分析和 GWAS, 诸多基因如 MATN1、MTNR1B、ESR1、LBX1、PAX3 被报道与 AIS 相关^[9]。随着测序技术的发展和成本的降低,近年来已有数个大规模的测序研究以检测与 AIS 相关的基因突变^[10-13]。Buchan 等^[12]首次对严重 AIS 病例进行全外显子测序,发现 FBN1 和 FBN2 基因的突变显著增加了罹患 AIS 的风险。与之类似, POC5、AKAP2、SLC39A8 等基因的突变位点被报道与 AIS 有显著相关性^[10, 14]。值得注意的是,在家族中被发现的突变位点往往难以在散发性人群中得到有效验证,例如在白种人 AIS 中发现的 POC5 突变位点 c.1336G>A 和 HSPG2 基因突变位点 p.Asn786Ser, 均未能在汉族 AIS 人群中得到验证^[15, 16]。因此,对于已报道的新的突变位点,在大样本不同种群中进行验证,有助于明确其与疾病发生的关系。在最近一项针对瑞典和丹麦人群的研究中, Einarsdottir 等^[17]报道了 CELSR2 基因第 21 号外显子上的 rs141489111 位点的错义突变(c.G6859A, p.A429V)及该基因上的单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphism,

SNP)rs6698843 和 rs2281894 与 AIS 的发病存在相关性。但目前仍缺乏 CELSR2 基因在其他人群中的验证。本研究旨在在中国汉族人群中验证易感基因 CELSR2 与 AIS 发病的相关性,并分析其在 AIS 患者中组织表达水平。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2009 年 5 月~2019 年 1 月来我院就诊的 1794 例 AIS 患者纳入研究,纳入标准:①女性;②汉族;③Cobb 角>20°。所有患者均行 MRI 检查排除潜在的神经功能缺损及其他继发因素。选取 1040 名健康女性作为随机对照组。纳入标准:①前屈试验(Adam 试验)为阴性;②经检查排除有运动系统及其他系统遗传性疾病者。本研究经南京鼓楼医院伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 CELSR2 基因位点分型

采用等位基因特异性多连接酶检测反应(ligase detection reaction, LDR)对先前报道的罕见突变位点 rs141489111 及两个罕见 SNPs(rs6698843 & rs2281894)分别进行基因分型,所采用的引物根据 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中的基因组序列设计。同时利用本中心已建立的 GWAS 数据库进一步分析 CELSR2 基因其他位点在 AIS 患者和正常对照中基因频率差异。使用 PLINK 软件 (<https://www.partners.org/~purcell/plink/download.shtml>)确定每个位点的基因型和最小等位基因频率。本研究中检测的 CELSR2 基因上的 SNPs 通过 HaploView(v2.6)软件所确定,使用前期发表的 GWAS 数据库以查询 AIS 患者和正常对照 SNPs 的基因分型信息并基于此进行计算分析^[18]。采集受试者的血样并使用商业化试剂盒(Qiagen, 日本, 东京)从血液白细胞中提取基因组 DNA。为确保基因分型结果的可靠性,我们随机选取 10% 的样本进行 sangerDNA 测序以对分型结果进行验证。

1.3 CELSR2 基因组织表达水平检测

术中收集 45 例女性 AIS 患者及 10 例年龄相匹配的脊柱外伤患者的椎旁肌分别作为实验组和对照组。使用 Trizol 试剂(QIAGEN, 日本, 东京)按照标准化流程提取肌肉中 RNA, 随后, 采用逆转录试剂盒 PrimeScript RT Master Mix kit (TaKaRa, 日本, 东京)将其逆转录。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参, 通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Quantitative Real-time PCR)检测, 最后通过 $\Delta\Delta Ct$ 法进行分析以得到 CELSR2 基因的相对表达水平。基因特异性引物设计见表 1。为保证实验的准确性和可靠性, 每个样品设 3 个附孔。

1.4 统计学分析

研究结果均采用 SPSS 22.0 软件 (SPSS 公司, 芝加哥, 美国)进行统计学分析。利用独立样本 T 检验比较计量资料组间差异。运用 Hardy-Weinberg 平衡检验验证两组各位点的基因分型, 采用卡方分析对实验组和对照组的基因型、等位基因频率的差异进行评估, 对 CELSR2 表达水平与 AIS 患者的侧凸严重程度进行相关性分析。采用双侧检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本信息和特征

被纳入基因分型分析的 AIS 患者和对照组的一般资料见表 2。两组年龄和体重指数存在统计学差异 ($P < 0.001$)

2.2 位点频率在患者和对照组中的分布

所有研究对象均未检测到 rs141489111 位点 c.G6859A 突变, 即基因型均为 GG。两组 SNP 的基因型和等位基因见表 3。病例组和对照组之间 rs6698843 位点的基因型频率 (0.2% vs. 0.5%, $P = 0.41$) 及最小等位基因频率 (5.4% vs. 6.1%, $P = 0.33$) 均无显著性差异; rs2281894 位点基因型频率 (20.1% vs. 20.8%, $P = 0.90$) 及最小等位基因频率 (40.8% vs. 41.1%, $P = 0.82$) 亦无显著性差异。GWAS 数据库显示 CELSR2 上的其他基因位点基因型和等位基因频率在患者和对照人群中无显著性差异。

2.3 CELSR2 基因组织表达分析

所有纳入组织表达研究的 AIS 患者弯型均为主胸弯 ($54.5^\circ \pm 9.3^\circ$), 且与脊柱外伤组年龄匹配

(13.6 ± 1.9 vs. 13.7 ± 2.5 岁, $P = 0.97$)。AIS 患者与脊柱外伤患者椎旁肌中 CELSR2 基因表达水平无显著性差异 (0.00036 ± 0.00013 vs. 0.00039 ± 0.00014 , $P = 0.58$, 图 1); CELSR2 表达水平和侧凸严重程度亦无显著相关性 ($P = 0.43$, 图 2)。

3 讨论

AIS 发病机制尚未完全明确, 通常被认为是多种因素相互作用的复杂疾病。随着人类基因组计划的完成和高通量测序技术的发展, 多种易感基因被揭示与 AIS 相关。近期, 基于外显子测序技术, Einarsdottir 等^[17]发现在瑞典、丹麦人群中 CELSR2 基因与 AIS 发病相关。本研究中, 我们发现该基因位点频率在中国汉族 AIS 患者和对照组人群中的分布无显著性差异, 即该基因与 AIS 的发病相关性在中国汉族人群中未能成功验证。在

表 1 qPCR 引物信息

Table 1 qPCR primer information

基因 Gene	引物序列 Primer sequence
CELSR2	
上游引物 Forward	5'-GAGTCAACGGATTGGTCGT-3'
下游引物 Reverse	5'-TTGATTTTGGAGGGATCTCG-3'
GAPDH	
上游引物 Forward	5'-GACAGAGGAAGTTCAGGATGACA-3'
下游引物 Reverse	5'-GTAGCGTTTGCAATCCAGCC-3'

表 2 AIS 患者和对照人群的基本资料

Table 2 Basic information of AIS group and control group

	AIS 患者 (n=1794) AIS	对照人群 (n=1040) Control	P 值 P value
一般资料 General information			
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) Age	13.1 $\pm$ 2.0	21.3 $\pm$ 6.8	<0.001
主弯侧凸 Cobb 角 ($\bar{x} \pm s$, $^\circ$) Cobb angle	38.2 $\pm$ 6.4	—	—
初潮年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) Menarche age	12.0 $\pm$ 0.8	—	—
体重指数 BMI (kg/m ²)	17.6 $\pm$ 3.4	22.5 $\pm$ 5.6	<0.001
弯型 Curve type			
主胸弯 (例) Thoracic curve	1139	—	—
双主弯 (例) Double curve	422	—	—
主腰弯 (例) Lumbar curve	233	—	—

表 3 AIS 患者和正常对照中 SNP 的基因型和等位基因频率的分布

Table 3 Distribution of genotypes and allele frequencies of SNPs in AIS patients and control group

SNP	基因型 Genotypes			P 值 P value	等位基因 Allele		P 值 P value	OR (95%CI)
rs17035630 (CELSR2)	AA	AG	GG	0.16	A ^①	G	0.94	1.00 (0.89–1.11)
病例组 (n=1794) AIS group	312 (17.4%)	929 (51.8%)	553 (30.8%)		1553 (43.3%)	2035 (56.7%)		
对照组 (n=1040) Control	201 (19.3%)	501 (48.2%)	338 (32.5%)		903 (43.4%)	1177 (56.6%)		
rs7528419 (CELSR2)	GG	GA	AA	0.85	G ^①	A	0.86	0.98 (0.77–1.24)
病例组 (n=1794) AIS group	0 (0.0%)	196 (10.9%)	1598 (89.1%)		196 (5.5%)	3392 (94.5%)		
对照组 (n=1040) Control	0 (0.0%)	116 (11.2%)	924 (88.8%)		116 (5.6%)	1964 (94.4%)		
rs1277917 (CELSR2)	CC	CG	GG	0.37	C ^①	G	0.45	0.86 (0.58–1.27)
病例组 (n=1794) AIS group	0 (0.0%)	64 (3.6%)	1730 (96.4%)		64 (1.8%)	3524 (98.2%)		
对照组 (n=1040) Control	1 (0.1%)	41 (3.9%)	998 (96.0%)		43 (2.1%)	2037 (97.9%)		
rs12740374 (CELSR2)	TT	TG	GG	0.98	T ^①	G	0.94	1.01 (0.80–1.27)
病例组 (n=1794) AIS group	6 (0.3%)	195 (10.9%)	1593 (88.8%)		207 (5.8%)	3381 (94.2%)		
对照组 (n=1040) Control	3 (0.3%)	113 (10.9%)	924 (88.8%)		119 (5.7%)	1961 (94.3%)		
rs660240 (CELSR2)	TT	TC	CC	0.97	T ^①	C	0.85	1.02 (0.81–1.29)
病例组 (n=1794) AIS group	6 (0.3%)	203 (11.3%)	1585 (88.4%)		215 (6.0%)	3373 (94.0%)		
对照组 (n=1040) Control	3 (0.3%)	116 (11.2%)	921 (88.6%)		122 (5.9%)	1958 (94.1%)		
rs629301 (CELSR2)	GG	GT	TT	0.98	G ^①	T	0.84	0.98 (0.79–1.22)
病例组 (n=1794) AIS group	7 (0.4%)	214 (11.9%)	1573 (87.7%)		228 (6.4%)	3360 (93.6%)		
对照组 (n=1040) Control	4 (0.4%)	127 (12.2%)	909 (87.4%)		135 (6.5%)	1945 (93.5%)		
rs4970834 (CELSR2)	TT	TC	CC	0.86	T ^①	C	0.72	1.05 (0.81–1.35)
病例组 (n=1794) AIS group	3 (0.2%)	169 (9.4%)	1622 (90.4%)		175 (4.9%)	3413 (95.1%)		
对照组 (n=1040) Control	1 (0.1%)	95 (9.1%)	944 (90.8%)		97 (4.7%)	1983 (95.3%)		
rs6698843 (CELSR2)	AA	AC	CC	0.41	A ^①	C	0.33	0.89 (0.71–1.12)
病例组 (n=1794) AIS group	4 (0.2%)	187 (10.4%)	1603 (89.4%)		195 (5.4%)	3393 (94.6%)		
对照组 (n=1040) Control	5 (0.5%)	116 (11.2%)	919 (88.4%)		126 (6.1%)	1954 (93.9%)		
rs2281894 (CELSR2)	AA	AC	CC	0.90	A ^①	C	0.82	0.99 (0.89–1.10)
病例组 (n=1794) AIS group	361 (20.1%)	742 (41.1%)	691 (38.5%)		1464 (40.8%)	2124 (59.2%)		
对照组 (n=1040) Control	216 (20.8%)	423 (40.7%)	401 (38.6%)		855 (41.1%)	1225 (58.9%)		

注: ①最小等位基因

Note: ①Minimal allele

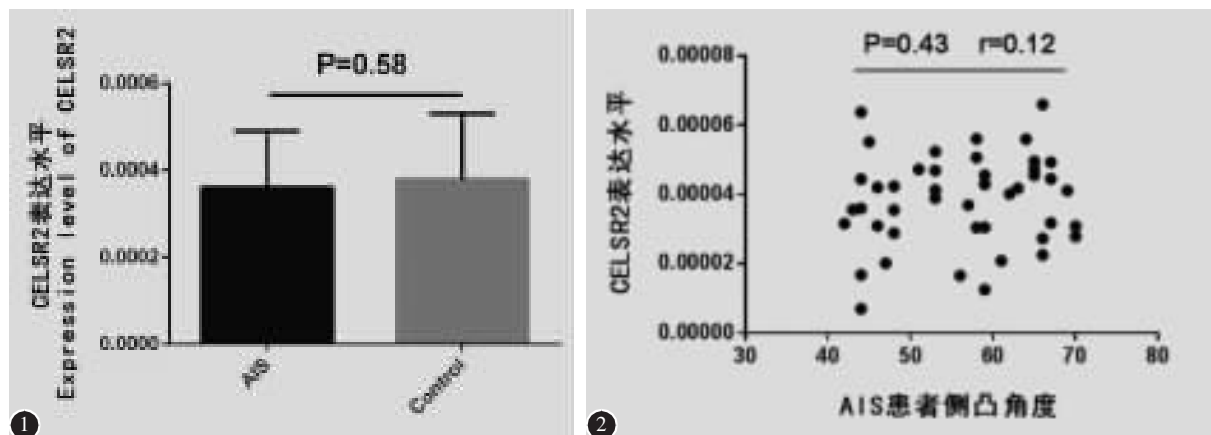


图1 CELSR2 基因在 AIS 组患者与对照组患者中的表达水平 图2 CELSR2 表达水平和 AIS 组患者侧凸严重程度的相关性

Figure 1 Expression level of CELSR2 in AIS patients and control patients **Figure 2** Correlation between CELSR2 expression level and scoliosis severity in patients with AIS

复杂疾病的遗传学研究中, 已知致病基因在不同人种得不到验证是一个比较普遍的现象。在丹麦人群中揭示的与 AIS 相关的 VANG1 基因在中国汉族人群中与 AIS 相关性未能证实^[19]。与之类似诸多 AIS 易感基因(MATN1、MTNR1B、TPH1 和 IGF1 等) 未能在不同种族的人群中得以验证^[20]。多种原因可能导致结果的不可重复性, 例如人种差异、样本量大小不一以及 AIS 患者具有混杂的基因结构, 导致其作为一个整体研究可能产生假阳性结果等。

CELSR2 基因编码一种平面细胞极性蛋白, 高度表达于中枢神经系统如大脑、脊髓, 在神经系统发育特别是在轴突导向和纤毛极性中扮演着重要的角色, 该基因的突变曾被报道与发育迟缓、皮质异位、生长激素缺乏等具有相关性^[21]。为探讨 CELSR2 基因在 AIS 发病过程中可能存在的作用, 我们首次就该基因在 AIS 患者椎旁肌中的表达水平进行了研究, 发现 AIS 患者和对照组的椎旁肌中 CELSR2 的表达水平无显著性差异。此外, 该基因与患者侧凸角度之间亦无明显关联。以上结果均提示 CELSR2 基因与汉族人群 AIS 的发病或进展无显著相关性。虽然 CELSR2 基因与 AIS 缺乏相关性, 但既往研究发现神经系统异常如纤毛极性缺失、脑脊液循环受阻可导致 AIS 的发生, 故 CELSR2 基因参与的神经系统发育障碍仍可能是 AIS 发病机制之一^[22]。后续可在其他种族人群中进一步探究该基因与 AIS 的相关性及神经系统

发育在 AIS 发病中所扮演的角色。

本研究也存在一定的缺陷。首先, 本研究分析的 GWAS 芯片仅选择了一定比例的 SNP 来标记, 有可能 CELSR2 上与 AIS 相关的真正位点未包含在 GWAS 芯片中, 未来的研究有必要对整个基因进行外显子测序以更好地分析其与 AIS 的相关性。其次, 本研究所探讨的 CELSR2 基因在 AIS 和脊柱外伤患者椎旁肌的 mRNA 表达上未存在差异并不能完全代表 CELSR2 基因在上述两组患者中真实的差异表达, 未来研究将着重于以上两组患者骨髓间充质干细胞的 CELSR2 基因表达以及蛋白水平差异的研究。最后, 由于无法收集到健康青少年的椎旁肌, 本研究将脊柱外伤患者纳为对照组, 由于脊柱外伤患者并非理想的对照组, 可能导致最终结果偏倚, 未来需收集年龄匹配的正常对照组以分析 AIS 患者组织基因表达是否存在异常。

4 参考文献

1. 郑振耀, 唐盛平, 郭霞, 等. 青少年特发性脊柱侧凸病因研究与进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2002, 12(2): 139-141.
2. Kouwenhoven JW, Castelein RM. The pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: review of the literature [J]. Spine, 2008, 33(26): 2898-2908.
3. Tang NL, Yeung HY, Hung VW, et al. Genetic epidemiology and heritability of AIS: a study of 415 Chinese female patients[J]. J Orthop Res, 2012, 30(9): 1464-1469.
4. Ward K, Ogilvie J, Argyle V, et al. Polygenic inheritance of

- adolescent idiopathic scoliosis: a study of extended families in Utah [J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(5): 1178–1188.
5. Wynne-Davies R. Familial (idiopathic) scoliosis: a family survey [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 1968, 50(1): 24–30.
 6. Justice CM, Miller NH, Marosy B, et al. Familial idiopathic scoliosis: evidence of an X-linked susceptibility locus [J]. *Spine*, 2003, 28(6): 589–594.
 7. Zhao L, Roffey DM, Chen S. Association between the estrogen receptor beta (esr2) rs1256120 single nucleotide polymorphism and adolescent idiopathic scoliosis: a systematic review and Meta-analysis [J]. *Spine*, 2017, 42(11): 871–878.
 8. Miller NH, Mims B, Child A, et al. Genetic analysis of structural elastic fiber and collagen genes in familial adolescent idiopathic scoliosis [J]. *J Orthop Res*, 1996, 14(6): 994–999.
 9. Chen Z, Tang NL, Cao X, et al. Promoter polymorphism of matrilin-1 gene predisposes to adolescent idiopathic scoliosis in a Chinese population [J]. *Eur J Hum Genet*, 2009, 17(4): 525–532.
 10. Li W, Li Y, Zhang L, et al. AKAP2 identified as a novel gene mutated in a Chinese family with adolescent idiopathic scoliosis [J]. *J Med Genet*, 2016, 53(7): 488–493.
 11. Patten SA, Margaritte-Jeannin P, Bernard JC, et al. Functional variants of POC5 identified in patients with idiopathic scoliosis [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(3): 1124–1128.
 12. Buchan JG, Alvarado DM, Haller GE, et al. Rare variants in FBN1 and FBN2 are associated with severe adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(19): 5271–5282.
 13. Baschal EE, Wethey CI, Swindle K, et al. Exome sequencing identifies a rare HSPG2 variant associated with familial idiopathic scoliosis [J]. *G3(Bethesda)*, 2014, 5(2): 167–174.
 14. Haller G, McCall K, Jenkitkasemwong S, et al. A missense variant in SLC39A8 is associated with severe idiopathic scoliosis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4171.
 15. Xu L, Sheng F, Xia C, et al. Common variant of POC5 is associated with the susceptibility of adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Spine*, 2018, 43(12): E683–688.
 16. Xia C, Xu L, Xue B, et al. Rare variant of HSPG2 is not involved in the development of adolescent idiopathic scoliosis: evidence from a large-scale replication study [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 24.
 17. Einarsson E, Grauers A, Wang J, et al. CELSR2 is a candidate susceptibility gene in idiopathic scoliosis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189591.
 18. Zhu Z, Tang NL, Xu L, et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for adolescent idiopathic scoliosis in Chinese girls [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 8355.
 19. Xu L, Sheng F, Xia C, et al. VANG1 is not associated with the susceptibility of adolescent idiopathic scoliosis in the Chinese population [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2018, 43(10): 580–584.
 20. Takahashi Y, Matsumoto M, Karasugi T, et al. Lack of association between adolescent idiopathic scoliosis and previously reported single nucleotide polymorphisms in MATN1, MTNR1B, TPH1, and IGF1 in a Japanese population [J]. *J Orthop Res*, 2011, 29(7): 1055–1058.
 21. Vilboux T, Malicdan MC, Roney JC, et al. CELSR2, encoding a planar cell polarity protein, is a putative gene in Joubert syndrome with cortical heterotopia, microphthalmia, and growth hormone deficiency [J]. *Am J Med Genet (Part A)*, 2017, 173(3): 661–666.
 22. Grimes DT, Boswell CW, Morante NF, et al. Zebrafish models of idiopathic scoliosis link cerebrospinal fluid flow defects to spine curvature [J]. *Science (New York, NY)*, 2016, 352(6291): 1341–1344.

(收稿日期:2019-06-18 末次修回日期:2019-07-20)

(英文编审 谭 啸)

(本文编辑 卢庆霞)