

全基因组关联分析在青少年特发性脊柱侧凸病因学研究中的进展

Research progress of genome-wide association analysis in the etiology of adolescent idiopathic scoliosis

周立金,程云忠,海涌,刘玉增,杨宏浩

(首都医科大学附属北京朝阳医院骨科 100020 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2022.03.10

中图分类号:R682.3

文献标识码:A

文章编号:1004-406X(2022)-03-0269-05

青少年特发性脊柱侧凸 (adolescent idiopathic scoliosis, AIS) 是一种发生在青少年时期的三维脊柱畸形。AIS 的发病率为 1%~4%, 女性高于男性^[1]。其发病机制至今仍不明确, 目前公认的病因主要有: 遗传学说(基因相关学说)、激素与代谢学说、骨髓间充质干细胞学说、生物力学学说、神经学说、环境学说 6 大学说^[2]。而基因相关学说近年来逐渐成为该研究领域的热点^[3]。基因组学是对生物体所有基因进行集体表征、定量研究及不同基因组比较研究的一门交叉生物学学科, 主要研究基因组的结构、功能、进化、定位和编辑等, 以及其对生物体的影响。基因组学的研究方法主要包括全基因组关联分析 (genome wide association study, GWAS)、外显子测序以及基因组表观遗传学研究等等^[4]。笔者基于基因组学中的 GWAS, 从技术介绍、国内外学者研究成果、技术的局限性及解决方法等方面进行综述。

1 GWAS 技术介绍

GWAS 是对多个个体在全基因组范围遗传变异的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点进行检测, 获得基因型, 进而将基因型与可观测的性状进行群体水平的统计学分析。根据统计结果筛选出最有可能影响该性状的遗传变异, 寻找与性状变异相关的基因^[5]。2005 年, Klein 等^[6]在 Science 杂志上, 报道了第一项具有年龄相关性的黄斑变性的 GWAS 研究。之后陆续出现了有关冠心病、肥胖以及相关表型的报道^[7-8]。

SNP 主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性。它是人类可遗传的变异中最常见的一种, 占有已知多态性的 90% 以上。SNP 在人类基因组中广泛存在, 平均每 300 个碱基对中就有 1 个, 估计其总数可达 300 万以上。SNP 是一种二态的标记, 由单个碱基的转换或突变所引起, 也可由碱基的插入或缺失所

致。SNP 既可能在基因序列内, 也可能在基因以外的非编码序列上^[9]。近年来众多学者利用 GWAS 技术发现了多个 AIS 易感位点及对应的基因。

2 国外学者利用 GWAS 技术在 AIS 中的研究成果

2.1 美国学者的研究成果

2011 年 Sharma 等^[10]首次利用 GWAS 对得克萨斯州 419 个 AIS 家庭成员进行了研究, 发现了 AIS 的 3 个易感位点 rs1440180、rs2222973 和 rs11770843, 分别位于基因 CHL1、DSCAM 和 CNTNAP2 附近, 提示这 3 个基因与 AIS 的发生存在相关性。CHL1 基因突变会引起水平注视麻痹, 并且伴有进展性脊柱侧凸, 其作用机制可能是通过影响神经传导功能而产生影响 AIS 的作用^[11]; DSCAM 和 CNTNAP2 基因在神经系统的生长和发育过程中起着非常重要的调控作用, 其表达的蛋白主要表达于神经系统, 能够介导细胞与细胞、细胞与胞外基质的相互作用, 参与神经系统的发育、轴突的生长、迁移等过程, 可能与 AIS 患者神经系统异常有关^[12-13]。

2015 年, Sharma 等^[14]对美国和日本共 1050 例女性 AIS 患者样本进行分析, 结果发现了 2 个女性 AIS 易感位点 rs6137473 和 rs169311, 位于 PAX1 基因附近。他们还通过斑马鱼转基因实验证明位点 rs169311 变异可能是通过影响 PAX1 基因的增强子而发挥作用, 进一步阐述了 PAX 与 AIS 的相关性。PAX1 基因属于 PAX 基因家族, 共有 9 个家族成员 (PAX 1-9), 位于染色体 20p11。PAX 因子是一类非常保守的转录因子, 广泛存在于动物体内, 参与细胞内信号传导的高级调控, 在胚胎发育过程中促进细胞增殖、细胞特异化迁移和存活^[15]。Strachan 等^[16]的研究还发现, PAX1 在小鼠中主要参与胸骨、肩胛骨、胸骨带和盆骨等生长发育的调控, 以及在 T 细胞成熟期发挥调控作用。

2018 年 Khanshour 等^[17]对多个地区 7956 名 AIS 患者样本进行的 Meta 分析, 发现了 3 个新的易感位点 rs4513093、rs1455114 和 rs687621, 分别位于基因 CDH13、SOX6 和 ABO 的附近, 提示这 3 个基因可能与 AIS 的发生存在相关性。CDH13 为钙粘蛋白细胞粘附分子, 具有常见

第一作者简介: 男 (1982-), 博士, 研究方向: 脊柱侧凸
电话: (010)85231229 E-mail: doctorzhoulijin@163.com
通讯作者: 海涌 E-mail: spinesurgeon@163.com

的钙粘蛋白细胞外区的所有特征,在细胞粘附、信号转导及细胞生长调节等方面发挥着重要作用。在神经元的发育与再生中,CDH13 起着抑制轴突再生的作用^[18]。SOX6 基因是 SRY 相关转录因子 D 亚家族的成员,在软骨细胞分化、软骨形成和软骨内骨形成中发挥着重要的调控作用^[19]。Zhang 等^[20]报道报道 SOX6 基因参与了软骨形成和成骨的耦合调控作用,这提示 SOX6 基因可能在骨质疏松发生过程起着非常重要的作用。

以上主要为对血液标本的研究。在对软骨组织的研究也有报道。2021 年 Makki 等^[21]采用 GWAS 技术对 AIS 患者胸腰段小关节的软骨组织与小鼠肋骨的肋软骨组织进行了对比分析,再次证实了先前报道过的两个易感位点 rs6570507、rs3904778, 分别位于基因 ADGRG6(GPR126)和 BNC2。Rs6570507 位于 6q24.1,处于 GPR126 基因的第二内含子区域。GPR126 包含 26 个外显子,编码含有 1250 个氨基酸的孤儿受体。GPR126 在人软骨中有着高表达;在小鼠胚胎中,GPR126 在脊柱生长相关的软骨中有着高表达,说明该基因在脊柱发育过程中有着重要的作用^[22]。Karner 等^[23]通过敲除软骨细胞中的 GPR126 基因,发现小鼠出现了特发性脊柱侧凸和漏斗胸的现象。因此推测,GPR126 可能通过调节软骨分化而导致 AIS 的发生。Rs3904778 位于 9p22.2,处于 BNC2 基因的第 3 个内含子区域,BNC2 包含 19 个外显子,编码锌指转录因子碱核蛋白 2。Ogura 等^[24]研究发现,在斑马鱼模型中,BNC2 基因的过表达会产生体轴的弯曲。说明 BNC2 与 AIS 的发病密切相关。

2.2 日本学者的研究成果

早在 2011 年 Takahashi 等^[25]对 1376 例日本 AIS 女性患者进行了 GWAS 研究,发现了 1 个新的易感位点 rs11190870, 位于 LBXI 基因附近。Rs11190870 位于 10q24,处于 LBXI 上游 7.5kb 处。LBXI 是一种同源盒基因,包含 2 个外显子,编码含有 280 个氨基酸的蛋白质。在小鼠的胚胎形成期间,该基因特异性地在中枢神经系统和肌肉组织中达^[26]。Guo 等^[27]通过在斑马鱼中过表达人类 LBXI 的同源基因,发现斑马鱼出现了脊柱侧凸的现象。而这 3 个基因通过 morpholino 导致的基因沉默也会使斑马鱼出现早发性脊柱侧凸。因此我们推测,LBXI 可能是通过调节神经与肌肉组织导致 AIS 的发生。2013 年,Kou 等^[22]研究发现了 3 个易感位的变异(rs6570507、rs7774095 和 rs9403380)与 AIS 显著相关,3 个位点均位于 GPR126 内含子中。动物实验结果显示,GPR126 基因敲除的斑马鱼身体长度变短、脊椎骨化延迟、逃避反射迟钝等,再次证明 GPR126 与 AIS 的发生密切相关。

2015 年 Ogura 等^[24]对 3064 例日本和 1268 例中国汉族 AIS 患者的研究,发现了 2 个易感位点(rs10738445 和 rs3904778)均位于基因 BNC2 内含子中。Rs10738445 的变异可增强 BNC2 基因的转录活动,动物实验证实 BNC2 基因的过度表达可导致斑马鱼不同程度的脊柱侧凸,且基因

表达量与斑马鱼脊柱的弯曲程度呈正相关。2017 年,Ogura 等^[28]对日本 1428 例进展的 AIS 患者与 1115 例非进展的 AIS 患者进行对比分析,发现了一个新的易感位点 rs35333564,该位点位于 miRNA -4300 宿主基因 MIR4300HG,MIR4300HG 主要在脊髓、骨、软骨和椎间盘中表达,并且 MIR4300HG 基因的低表达与 AIS 进展相关。

2019 年,Kou 等^[29]对日本 79211 例样本进行 Meta 分析研究,发现 14 个之前没有报道的易感位点,其中位点 rs1978060 位于 T-BOX 转录因子 1(TBX1)附近。TBX1 属于 T-box 基因家族,该家族为转录因子家族,以高度保守的 DNA 结合区域为特征。人类 TBX1 基因位于人类染色体 22q11.2,有 A、B、C 3 个亚型,3 个亚型编码区内的外显子均为 8 个^[30]。Morava 和 Bassett 研究发现,TBX1 突变可导致 DiGeorgey 综合征与腭心面综合征,而脊柱侧凸为这两种疾病常见的临床表现^[31,32]。随后 Takeda 等^[33]对 2272 名 AIS 和 13859 名健康对照者进行 Meta 分析研究,结果发现新的易感位点 rs12946942,位于 SOX9 基因的附近,Rs12946942 是第一个被证实的与 AIS 严重程度相关的 SNP 位点^[34]。SOX9 基因在 17 号常染色体上,该基因的突变或重复会导致性别反转或躯干发育异常。SOX9 对软骨细胞形成也至关重要,SOX9 早期分化及其杂合子功能缺失、突变,会导致脊柱发育不良出现严重的脊柱后凸^[35,36]。因此这些基因的异常可能是导致 AIS 的原因之一。

3 国内学者在 AIS 中的研究成果

2015 年朱泽章等^[37]采用 GWAS 技术对中国汉族 4317 例女性 AIS 样本和 6016 例健康者进行对比,发现了 3 个中国汉族人群的易感位点 rs4940576、rs13398147 和 rs241215,分别位于 BCL2、PAX3 和 AJAPI 附近。BCL2 定位于 18q21,长约 230kb,含 3 个外显子和 2 个内含子,与 ced-9 基因有 23%的同源性,为编码 26 kD 的线粒体膜整合蛋白。BCL2 蛋白的生理功能主要是抑制细胞凋亡,延长细胞寿命,而不影响细胞周期和分化,这对于维持体内某些需长期生存的细胞如神经元、免疫记忆细胞、造血干细胞等的寿命具有重要意义^[38]。PAX3 基因定位于 2q35-2q37,包含 10 个外显子,cDNA 全长 1.4kb,其编码的 PAX3 蛋白是配对抗转录因子 PAX 家族成员之一。PAX3 在人和小鼠神经、心血管、内分泌和骨骼肌系统的形成和发育中起关键作用^[39]。AJAPI,也称为 SHREW1,位于染色体 1p36.32 区域,是具有 411 个氨基酸残基的完整跨膜蛋白。与细胞粘附、迁移、侵袭相关,这些过程的调节对骨骼生长和成骨细胞发育起着十分重要的作用^[40]。

2017 年朱泽章等^[41]对中国汉族 5953 例 AIS 样本和 8137 例健康对照进行了研究,结果又发现 3 个新的易感位点 rs9810566、rs7593846 和 rs7633294,分别位于 TNIF、MEIS1 和 MAGI1 附近。Rs9810566 位于 3q26.2,处于 TNIF 基因的内含子中,TNIF 蛋白是生发中心激酶家族的成员之一,编码含 1360 个氨基酸的多肽链^[42]。TNIF 蛋白是丝

裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路的上游因子, 参与 Wnt/beta-catenin 等多种信号通路的信号通路传导及转录调控^[43]。Rs759384 位于 MEIS1 基因下游, 大小为 140kb。MEIS1 作为 DNA 结合 Hox 蛋白辅因子。Garcia 等^[44]的研究发现, rs7593846 在 2p14 的突变与 AIS 的发生密切相关。rs7633294 位于 MAGI1 基因的内含子中。MAGI1 是参与稳定钙粘蛋白介导的细胞相互作用, 它还能与多种结合分子如 beta-catenin 结合^[45]。同时该团队还发现 AIS 椎旁肌凹侧 Wnt/beta-catenin 通路相关基因 TNF α 、PAX3、LBX1 和 MEIS1 表达明显低于凸侧, 提示 Wnt/beta-catenin 通路可能在 AIS 发展过程中发挥一定的作用^[44]。

2019 年 Wu 等^[46]采用 GWAS 技术对中国汉族 1208 例 AIS 女性样本和 2498 例健康对照进行了研究, 发现在中国汉族人群中与 AIS 发生密切相关的 3 个易感位点 rs4513093、rs687621 和 rs1455114 分别位于 CDH13、ABO 和 SOX6 附近。该研究结果与 2018 年美国学者 Khanshour 的研究结果一致, 同时也证明 CDH13、ABO 和 SOX6 基因在中国汉族 AIS 人群中验证成功。2019 年, 盛飞等^[47]还对中国汉族 952 例 AIS 样本和 1499 例健康对照进行了研究, 发现了一个新的 AIS 易感位点 rs12916536, 该位点位于 FBN1 基因附近。FBN1 基因位于 15 号染色体的长臂 (15q15-q21.1), 包含 65 个外显子和近 10000 个核苷酸, 编码一种大小约 350kDa 的糖蛋白原纤维蛋白^[48]。Buchan 等^[49]研究报道, 与健康对照组相比, 在严重的 AIS 中常出现 FBN1 的异常突变, 提示 FBN1 基因与 AIS 的发生密切相关。随后 Man 等^[50]又在 319 例中国汉族 AIS 女性样本和 201 例健康对照组者进一步验证了 LBX1、BNC2 和 GPR126 在中国汉族 AIS 人群中发挥着重要作用, 同时该研究还发现新的易感位点 rs678741, 位于 LBX1-AS1。

2021 年, Dai 等^[51]对 1599 例中国汉族 AIS 女性样本和 2985 例健康对照者进行了 GWAS 研究, 结果发现了两个新的易感位点 rs73235136 和 rs545608, 分别位于 BOC 和 SEC16B 基因附近, BOC 和 SEC16B 在中国汉族女性 AIS 患者中表达明显偏低。目前的研究表明, BOC 基因主要与胃癌及乳腺癌的发生密切相关^[52,53]; SEC16B 定位于 1q25.2, 其编码产物包括长链蛋白和短链蛋白, 二者在各种组织器官中都有表达。在内质网至高尔基体通路中相关蛋白的转运及输出过程中起着十分重要的作用^[54]。但 BOC 和 SEC16B 基因在 AIS 发生发展中的作用机制目前尚不清楚, 还需进一步深入研究。Wang 和 Li 等^[55,56]的研究结果表明, MIR4300HG 和 TBX1 基因在中国汉族 AIS 人群中验证成功。至此, 多个基因与国外不同人群的研究结果保持一致, 并在中国汉族 AIS 人群中得到了很好的验证, 提示这些基因可能是 AIS 发病中的主要基因。

4 GWAS 技术的局限性及解决方法

GWAS 是在全基因组范围内检测出的 SNP 位点与对

照组进行比较, 找出所有的变异等位基因频率, 从而避免了像候选基因策略一样需要预先假设致病基因, 为研究复杂疾病打开了一扇大门。但 GWAS 本身仍然存在一定的局限性。

首先, GWAS 中人群混杂是在大样本研究中导致假阳性、假阴性结果出现的重要原因之一, 不同人种的重复性差, 具有明显的种族差异, 这也是目前 GWAS 在 AIS 基础研究中最主要的挑战。可以使用分层分数法控制人群分层、运用统计分析手段控制人群混杂的影响、采用基于家系的关联研究均能够避免人群混杂对关联结果分析的影响。在两个人群中分别对样本中所有的 SNP 进行基因分型, 之后再交换重复测量对方得到的阳性 SNPs。这样首先保证了较低的假阴性率, 随后在较大样本中重复阳性结果又最大限度地避免了假阳性的产生^[57]。

其次, GWAS 检测到的多为常见变异位点的变异。因此对罕见变异和结构性变异敏感性欠佳; GWAS 检测到的 SNP 大多位于非编码区, 而非编码区不能直接改变蛋白质表达影响基因功能。解决方法主要是改变人们对非编码区的误解, 引起学者们更多关注非编码区产物间接对相关 mRNA 及蛋白的影响。

再次, GWAS 研究往往需要较大人群样本, 或者多中心的数据, 研究费用较高, 而且数据分析较为复杂^[58]。针对这一问题, 可以采用 Wavelet Screening 这种新的 GWAS 数据分析方法。另外, 解释基因-变异-环境因素之间的相互作用关系需要使用 GWAS 对更多微效的与疾病关联的基因变异进行研究; 同时, 数据共享是使用 GWAS 得到遗传标记与疾病确切关联的必要手段, 能够在研究复杂疾病的遗传变异中发挥重要作用; 不要忽视基因缺失、拷贝数变异、串联重复序列等其他变异的影响等。

5 总结与展望

近十年来国内外众多学者利用 GWAS 技术筛选了大量 AIS 易感位点与基因。美国和日本科学家研究开始时间早, 发表了大量高影响因子的文章; 国内的研究起步相对较晚, 对该领域研究和投入不够。然而这些易感基因导致 AIS 发病的分子机制尚不完全清楚, 只有部分基因在动物水平进行了验证, 因此还需要进一步深入的研究, 同时也需要大样本、不同人群的进一步验证。

虽然 GWAS 技术存在一定的局限性, 但其为 AIS 病因学的研究提供了一种新方法, 经 GWAS 验证得到的易感基因及 SNP 位点也为 AIS 病因学的深入研究提供了依据。然而, 这些易感基因及 SNP 位点需要进一步的实验验证, 这将是未来 GWAS 领域研究的热点和难点。

6 参考文献

1. Cheng JC, Castelein RM, Chu WC, et al. Adolescent idiopathic scoliosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15030.
2. Peng Y, Wang SR, Qiu GX, et al. Research progress on the

- etiology and pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Chin Med J(Engl)*, 2020, 133(4): 483–493.
3. 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.
 4. Barlow DP, Bartolomei MS. Genomic imprinting in mammals [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(2): a018382.
 5. Kamatani Y. Genome Wide Association Study: its theory and methodological review[J]. *Clin Calcium*, 2016, 26(4): 525–535.
 6. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration[J]. *Science*, 2005, 308(5720): 385–389.
 7. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(5): 443–453.
 8. Herbert A, Gerry NP, McQueen MB, et al. A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity[J]. *Science*, 2006, 312(5771): 279–283.
 9. Walter NA, McWeeney SK, Peters ST, et al. Single-nucleotide polymorphism masking[J]. *Alcohol Res Health*, 2008, 31(3): 270–271.
 10. Sharma S, Gao X, Londono D, et al. Genome-wide association studies of adolescent idiopathic scoliosis suggest candidate susceptibility genes[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(7): 1456–1466.
 11. Jen JC, Chan WM, Bosley TM, et al. Mutations in a human ROBO gene disrupt hindbrain axon pathway crossing and morphogenesis[J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1509–1513.
 12. Nakabayashi K, Scherer SW. The human contactin-associated protein-like 2 gene(CNTNAP2) spans over 2 Mb of DNA at chromosome 7q35[J]. *Genomics*, 2001, 73(1): 108–112.
 13. Shapiro L. Self-recognition at the atomic level: understanding the astonishing molecular diversity of homophilic Dscams [J]. *Neuron*, 2007, 56(1): 10–13.
 14. Sharma S, Londono D, Eckalbar WL, et al. A PAX1 enhancer locus is associated with susceptibility to idiopathic scoliosis in females[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6452.
 15. Lang D, Powell SK, Plummer RS, et al. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(1): 1–14.
 16. Strachan T, Read AP. PAX genes[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1994, 4(3): 427–438.
 17. 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.
 18. Takeuchi T, Ohtsuki Y. Recent progress in T-cadherin (CDH13, H-cadherin) research[J]. *Histol Histopathol*, 2001, 16(4): 1287–1293.
 19. Smits P, Dy P, Mitra S, Lefebvre V. Sox5 and Sox6 are needed to develop and maintain source, columnar, and hypertrophic chondrocytes in the cartilage growth plate [J]. *J Cell Biol*, 2004, 164(5): 747–758.
 20. Zhang Y, Yang TL, Li X, Guo Y. Functional analyses reveal the essential role of SOX6 and RUNX2 in the communication of chondrocyte and osteoblast[J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26(2): 553–561.
 21. 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.
 22. Kou I, Takahashi Y, Johnson TA, et al. Genetic variants in GPR126 are associated with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(6): 676–679.
 23. Karner CM, Long F, Solnica-Krezel L, et al. Gpr126/Adgrg6 deletion in cartilage models idiopathic scoliosis and pectus excavatum in mice[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(15): 4365–4373.
 24. Ogura Y, Kou I, Miura S, et al. A Functional SNP in BNC2 Is Associated with Adolescent Idiopathic Scoliosis [J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 97(2): 337–342.
 25. Takahashi Y, Kou I, Takahashi A, et al. A genome-wide association study identifies common variants near LBX1 associated with adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(12): 1237–1240.
 26. Jagla K, Dollé P, Mattei MG, et al. Mouse Lbx1 and human LBX1 define a novel mammalian homeobox gene family related to the Drosophila lady bird genes[J]. *Mech Dev*, 1995, 53(3): 345–356.
 27. Guo L, Yamashita H, Kou I, et al. Functional investigation of a non-coding variant associated with adolescent idiopathic scoliosis in zebrafish: elevated expression of the ladybird homeobox gene causes body axis deformation[J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(1): e1005802.
 28. Ogura Y, Kou I, Takahashi Y, et al. A functional variant in MIR4300HG, the host gene of microRNA MIR4300 is associated with progression of adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(20): 4086–4092.
 29. Kou I, Otomo N, Takeda K, et al. Genome-wide association study identifies 14 previously unreported susceptibility loci for adolescent idiopathic scoliosis in Japanese[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3685.
 30. Yagi H, Furutani Y, Hamada H, et al. Role of TBX1 in human del22q11.2 syndrome[J]. *Lancet*, 2003, 362(9393): 1366–1373.
 31. Morava E, Lacassie Y, King A, et al. Scoliosis in velo-cardio-facial syndrome[J]. *J Pediatr Orthop*, 2002, 22(6): 780–783.
 32. Bassett AS, Chow EW, Husted J, et al. Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome [J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 138(4): 307–313.
 33. Takeda K, Kou I, Otomo N, et al. A multiethnic meta-analysis defined the association of rs12946942 with severe ado-

- lescent idiopathic scoliosis[J]. *J Hum Genet*, 2019, 64(5): 493–498.
34. Miyake A, Kou I, Takahashi Y, et al. Identification of a susceptibility locus for severe adolescent idiopathic scoliosis on chromosome 17q24.3[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e72802.
35. Bi W, Deng JM, Zhang Z, et al. Sox9 is required for cartilage formation[J]. *Nat Genet*, 1999, 22(1): 85–89.
36. Akiyama H. Control of chondrogenesis by the transcription factor Sox9[J]. *Mod Rheumatol*, 2008, 18(3): 213–219.
37. 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: 8355.
38. Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H. The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(3): 289–317.
39. Buckingham M, Relaix F. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23: 645–673.
40. Bharti S, Handrow-Metzmacher H, Zickenheiner S, et al. Novel membrane protein shrew-1 targets to cadherin-mediated junctions in polarized epithelial cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(1): 397–406.
41. 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.
42. Masuda M, Uno Y, Ohbayashi N, et al. TNK inhibition abrogates colorectal cancer stemness[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12586.
43. Lee RS, Zhang L, Berger A, et al. Characterization of the ERG-regulated kinome in prostate cancer identifies TNK as a potential therapeutic target [J]. *Neoplasia*, 2019, 21 (4): 389–400.
44. Garcia-Cuellar MP, Steger J, Füller E, et al. Pbx3 and Meis1 cooperate through multiple mechanisms to support Hox-induced murine leukemia[J]. *Haematologica*, 2015, 100 (7): 905–913.
45. Feng X, Jia S, Martin TA, et al. Regulation and involvement in cancer and pathological conditions of MAG11, a tight junction protein[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(7): 3251–3256.
46. Wu Z, Wang Y, Dai Z, et al. Genetic variants of ABO and SOX6 are associated with adolescent idiopathic scoliosis in Chinese Han Population[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2019, 44 (18): E1063–E1067.
47. Sheng F, Xia C, Xu L, et al. New evidence supporting the role of FBN1 in the development of adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2019, 44(4): E225–E232.
48. Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene[J]. *Nature*. 1991, 352(6333): 337–339.
49. 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.
50. Man GC, Tang NL, Chan TF, et al. Replication study for the association of GWAS-associated loci with adolescent idiopathic scoliosis susceptibility and curve progression in a Chinese population[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2019, 44(7): 464–471.
51. 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.
52. Fattahi S, Nikbakhsh N, Ranaei M, et al. Association of sonic hedgehog signaling pathway genes IHH, BOC, RAB23a and MIR195–5p, MIR509–3–5p, MIR6738–3p with gastric cancer stage[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 7471.
53. Pedrosa RMSM, Wismans LV, Sinke R, et al. Differential expression of BOC, SPOCK2, and GJD3 is associated with brain metastasis of ER-Negative breast cancers [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(12): 2982.
54. Yonekawa S, Furuno A, Baba T, et al. Sec16B is involved in the endoplasmic reticulum export of the peroxisomal membrane biogenesis factor peroxin 16(Pex16) in mammalian cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(31): 12746–12751.
55. Wang Y, Dai Z, Wu Z, et al. Genetic variant of MIR4300HG is associated with progression of adolescent idiopathic scoliosis in a Chinese population[J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16(1): 311.
56. Li Y, Wu Z, Xu L, et al. Genetic variant of TBX1 gene is functionally associated with adolescent idiopathic scoliosis in the Chinese population[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2021, 46(1): 17–21.
57. McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, et al. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges[J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(5): 356–369.
58. Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(2): 166–176.

(收稿日期:2021-05-14 末次修回日期:2021-09-16)

(本文编辑 姜雅浩)