

肖启程,彭广能,刘海峰,等. 犬髋关节发育不良数量性状位点及致病基因研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(3): 405-409.

Xiao QC, Peng GN, Liu HF, et al. Recent advances in understanding of quantitative trait loci and pathogenic genes associated with canine hip dysplasia[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(3): 405-409.

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2019.03.021

犬髋关节发育不良数量性状位点及致病基因研究进展

肖启程, 彭广能, 刘海峰, 周紫晓, 马晓平, 钟志军*

(四川农业大学动物医学院, 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 成都 611130)

【摘要】 犬髋关节发育不良 (canine hip dysplasia, CHD) 是一种以髋关节松弛为主要特征的先天遗传性疾病, 受环境和基因共同作用, 发病率较高, 但其发病机制尚未完全明了。近年来, 在 CHD 基因组学研究方面取得了重要进展, 譬如, 发现数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 与 CHD 中髋关节 Norberg 角、背外侧半脱位评分及分离指数存在联系, *FBN2*、*LRR1*、*COL6A3* 与 *FN1* 等基因也与 CHD 的发生相关。为进一步明确 CHD 的发病机制, 本文就 CHD 相关的 QTL 及相关候选致病基因的研究进展, 尤其对相关 QTL 在染色体中的位置与功能以及候选致病基因的功能进行综述。

【关键词】 犬髋关节发育不良; 数量性状位点; 候选致病基因

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 03-0405-05

Recent advances in understanding of quantitative trait loci and pathogenic genes associated with canine hip dysplasia

XIAO Qicheng, PENG Guangneng, LIU Haifeng, ZHOU Ziyao, MA Xiaoping, ZHONG Zhijun*

(College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

Corresponding author: ZHONG Zhijun. E-mail: zhongzhijun488@126.com

【Abstract】 Canine hip dysplasia (CHD) is a common congenital hereditary disease characterized predominantly by hip joint relaxation. While both environmental and genetic factors are known to contribute to the disease, the underlying mechanism of pathogenesis remains unknown. In recent years, significant progress has been achieved in the genomics of CHD. For example, a quantitative trait locus (QTL) was identified for CHD that is associated with the Norberg angle of the hip joint, the dorsolateral subluxation score and the separation index. In addition, genes such as *FBN2*, *LRR1*, *COL6A3* and *FN1* have been shown to be associated with CHD. In this review, we summarize current research in this field, with particular focus on the chromosomal position of the identified QTL and the known functions of candidate disease-causing genes associated with CHD.

【Keywords】 canine hip dysplasia; quantitative trait locus; candidate causative genes

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家重点研发计划(2016YFD0501009, 2018YFD0500900)。

Funded by National Key Research and Development Program of China(2016YFD0501009, 2018YFD0500900)。

【作者简介】 肖启程(1993—), 男, 硕士, 主要从事兽医临床病理学与分子诊断学。Email: xiaoxiao1667@126.com

【通信作者】 钟志军, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事兽医临床病理学与分子诊断学。Email: zhongzhijun488@126.com

犬髋关节发育不良 (canine hip dysplasia, CHD) 于 1935 年首次由 Schnelle 提出, 是一种受多基因、多因素影响的遗传性骨病。该病可发生于任何品种、不同体型的犬, 多发于 6 月龄至 2 岁间的中、大型犬, 尤以德国牧羊犬和拉布拉多犬的发病率最高^[1]。目前关于该病的发病机制不明, 是目前研究该病的热点。数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 已广泛应用于猪、羊、牛等动物的遗传育种研究, 主要研究繁殖性状、生产性状、肉质性状以及品种间的遗传关系等。2002 年 Bliss 等^[2]首次将 QTL 用于犬 CHD 的研究, 并指出 CHD 的分离指数, 背外侧半脱位评分以及股骨头与骨骺的骨化等具有遗传性, 且不同品种间的一些表型与 QTL 相关。因此, 研究相同品种发生 CHD 后相关 QTL 的功能, 有助于对犬 CHD 发病机制的了解。

1 犬髋关节发育不良相关 QTL 区域的功能

QTL 指控制某一表型特征的相应基因在染色体中形成集合, 通过 QTL 定位于染色体的遗传标记旁形成连锁关系, 再根据回归分析或最大似然法分析连锁关系中的差异性进而推论出与遗传标记连锁相关的 QTL 的准确位置。QTL 的准确性必须通过观察遗传标记与 QTL 之间的联系来确定^[3]。针对某种性状, QTL 具有多种表型^[3]。随着 QTL 的发展, 愈来愈多的领域应用 QTL 进行遗传相关性研究。研究发现, 将某一品种具有特定基因型的犬与其他品种的具有某些特定表型的犬进行交配, 可以利用 QTL 从遗传性状中推导出子代犬的表型特征^[4]。

迄今为止, 影响 CHD 的临床表现相关染色体主要与髋关节 Norberg 角、背外侧半脱位评分及分离指数相关, 主要包括 Norberg 角增大相关的染色体 (CFA1、10、16、25、29), Norberg 角减小相关的染色体 (CFA29), 背外侧半脱位评分增高相关的染色体 (CFA20、22、35), 背外侧半脱位评分降低相关的染色体 (CFA29) 和分离指数降低相关的染色体 (CFA11)。其中, CFA29 与髋关节 Norberg 角、背外侧半脱位评分均相关。QTL 的准确定位确定了与 CHD 发生相关的染色体位置, 缩小研究 CHD 相关染色体位置的研究范围 (见表 1)。Yvonne 等^[5]通过全基因组分析, 发现发生 CHD 的德国牧羊犬中有九个重要的 QTL, 主要位于 1、3、4、8、9、16、19、26 和 33 号染色体。而 Todhunter

等^[3]也采用全基因组分析和对 Norberg 角、背外侧半脱位评分及分离指数进行回归作图分析, 发现 4、9、10、11、16、20、22、25、29、30、35、37 十二种染色体中 QTL 的位置。这两个结论互相补充, 扩展了 CHD 相关染色体的范围。背外侧半脱位评分相关的 QTL 位于 16、20、22、29、35 号染色体; Norberg 角相关的 QTL 位于 4、10、16、25、29 染色体; 分离指数相关的 QTL 位于 2 号染色体, 差异成分相关的 QTL 位于 9、16、25、29、30、37 号染色体。其中差异成分是指在每一例 CHD 中, 对 Norberg 角、分离指数和背外侧半脱位评分进行分析而筛查出的与 CHD 不相关的两个变量。表现型不同的 CHD, 相关染色体易发生重组的位置为 16、25、29 和 30 号染色体, 且不同品种犬中都发现了一些隐藏的 QTL 位点, 比如 CFA9 中的 14.1–28Mb 位点, 表明 CHD 中这些隐藏位点与犬的品种无关^[5]。另有研究表明, 在排除犬血统影响的情况下, 左侧髋关节和右侧髋关节中的 QTL 都位于 1 号染色体 CFA1 中, 同时左侧髋关节比右侧髋关节松弛程度大^[6], 提示临床中左侧髋关节发育不良更常见。Frery 等^[7]发现单个 QTL 可调控 CHD 的多种表型, 表明 CHD 的发生特征与 QTL 的调控并非一一对应, 若要研究 CHD 的特征, 必须找到相对应的 QTL 位点。Wood 等^[8]通过调查 CHD 的流行病学研究其遗传特性, 发现拉布拉多犬出现 CHD 与基因遗传以及性别有关, 且雄性犬 CHD 发病率高于雌性犬。同时, 子代的 CHD 评分可通过亲代 CHD 的评分建立回归模型进行相应预测。

Yvonne 等^[5]通过全基因组筛查并结合 Chase 等^[6]对 QTL 研究的结果推测, CHD 相关 QTL 检出越多, 越有可能提示 CHD 出现多种不同的临床症状。目前关于 CHD 中相关 QTL 研究仍较少, 一些与 CHD 症状密切相关的重要 QTL 尚未被发现, 今后对 CHD 遗传机制的研究需要对更多的 QTL 进行研究, 筛查出能确切诊断 CHD 的重要 QTL。

2 犬髋关节发育不良的主要遗传因素以及相关候选致病基因研究

研究报道, 关节松弛发生在多数退行性髋关节疾病中, 且不同品种犬髋关节发育不良的关节松弛程度也不同^[9]。犬的品种和关节松弛程度是 CHD 形成的重要诱因, 但并非决定因素^[10]。

表 1 犬髋关节发育不良相关染色体的位置与功能

Table 1 Position and function of some chromosomes in canine hip dysplasia

染色体编号 Number of chromosomes	QTL 区域(Mb) Region of QTL	标记位置 Marked position	功能 Function
CFA1	23. 5, 26. 8 和 79. 7-115. 1	FH2598, FH2524	髋关节 Norberg 角较大(>100°)
CFA3	44. 6-49. 9 和 89. 5-91. 7		
CFA4	4. 7-12. 7 和 75. 3-91. 7	FH2457-AHT103	不会影响左侧髋关节 Norberg 角
CFA5	9. 3-14. 8		
CFA8	24. 6-34. 0		
CFA9	14. 1-28 和 37. 4-54. 6		
CFA10	56. 3-72. 5	FH2422-C10. 16	Norberg 角增大
CFA11	9. 1-14. 2	FH2096-AHT137	左侧髋关节分离指数降低
CFA16	8. 5-21. 1 和 30. 9-45. 4	REN292N24-C16. 147, FH2175-REN130B10	左侧髋关节 Norberg 角增大
CFA18	8. 1 和 54. 3-61. 2		
CFA19	8. 0-11. 2 和 36. 3. 4-50. 5		
CFA20	40. 2-46. 9	FH2158-REN193A22	左侧髋关节背外侧半脱位评分增大
CFA22	3. 9-5. 5	FH2158-REN193A22	左侧髋关节背外侧半脱位评分增高
CFA25	37. 1	FH2006-FH2087 L	Norberg 角增大
CFA26	23. 4-37. 9		
CFA29	5. 2-28. 2	REN45F03-FH2328, FH2328-FH2609	前者右侧髋关节 Norberg 角增大;后者左侧髋关节 Norberg 角和背外侧半脱位评分降低
CFA30	21. 5-26. 5	REN105i08-REN248F14	右侧分离指数
CFA33	3. 2-12. 2		
CFA35	14. 1-23. 4	REN214H22-REN01G01	背外侧半脱位评分增高

目前多数遗传方面的研究通过分析年龄等因素建立模型对 CHD 进行等级评定,其中线性模型是一种根据 CHD 临床症状进行评估的模型,根据评估后的模型,研究人员可对 CHD 的临床症状进行初步评级;阈值模型可以解释一些髋关节不对称及其他的特殊情况,但目前尚无通过阈值模型研究 CHD 的相关报道。由于线性模型的评价结果被认为是阈值模型的大致估计,因而阈值模型是 CHD 遗传评估的有效方法^[11],今后的研究中阈值模型或将成为 CHD 研究的热点。遗传变异的频率表明了进行基因改造的可能性^[12]。亲代犬能将髋关节发育不良相关致病基因遗传给下一代,从而使正常犬携带致病基因。Soo 等^[13]将 CHD 的发病机制与临床症状加以联系,做出总结,并指出通过选择性的育种评估管理能有效减少 CHD 的发生。研究表明在繁育过程钟,根据育种评估选择比临床症状更为准确,其中犬只数量规模大小以及发病程度差异是选育时控制子代发生 CHD 的重要因素^[14-15]。不同的育种规模将影响育种控制 CHD 的手段,若对犬只数量评估过小,则无法达到控制效果;若评估过大则耗时耗力且耗费财力。发病程度的不同会导致亲代将致病基因遗传给子代的机率存在差异。CHD 临床症状的遗传能力具有可变性,其范围通常在 0. 1-0. 6 之间。亲代的临床症状,预测的计算方法,选育时的选择标准以及样本数量等因素都能影响遗传

能力的大小,任何一种因素不同都将导致 CHD 的遗传能力不同^[16]。因此在遗传育种中为了降低子代 CHD 的发生,需进行多方面因素的综合控制才能达到选育目的。

除此之外, *FBN2*、*SLC26A2* 等一些基因的表达也与 CHD 的发生相关(见表 2)。Friedenberg 等^[17]发现 CFA11 染色体中由碱基对缺失造成的 *FBN2* 基因突变易引起 CHD 的形成。*SLC26A2* 基因能编码硫酸盐转运载体,同时可使软骨基质中蛋白多糖硫酸化进而诱发人的骨发育不良。目前为止,人的 *SLC26A2* 基因中有 30 多个突变^[18]。研究表明,骨发育不良、软骨发育不全和多发性骨骺发育不全等疾病中的 *SLC26A2* 基因都发生了突变。但 Lee 等^[18]通过基因比对发现,德国牧羊犬发生 CHD 后 *SLC26A2* 与正常犬中 *SLC26A2* 的表达量无差异。由于该结果样本量较少,未能直接证明 *SLC26A2* 基因的表达与 CHD 发生无关,且该基因的表达不能排除品种差异对 CHD 的影响。

Clements 等^[19]研究表明,拉布拉多犬发生髋关节发育不良后, *IL12β* 的表达量增多。Lavrijsen 等^[20]对拉布拉多犬的血液进行全基因组分析,结果显示 8 号染色体与犬的 CHD 发生有显著相关性,1、5、15、20、25 和 32 号染色体与 CHD 的出现存在一定相关性。赵明媛等^[21]的研究中指出,犬 25 号染色体中的 *COL6A3* 基因的突变会引发 CHD,且该基

因在正常犬和 CHD 患犬中表达量差异显著,表明 COL6A3 可能是犬 CHD 发生的标志物。尽管目前对犬髋关节发育不良的候选基因进行了部分研究,但

今后需要更大的病例量、更多的犬种以及更加严格的实验设计才能得到 CHD 发生较为精确的基因调控机制。

表 2 部分犬髋关节发育不良的相关致病候选基因

Table 2 Candidate genes associated with the pathogenesis of canine hip dysplasia.

基因名 Gene names	染色体位置 Location of chromosomes	功能 Function
FBN2	CFA11	参与破骨细胞的生成 ^[22]
SLC26A2	CFA4	参与软骨中蛋白多糖硫酸化
IL-12B	CFA4	参与疼痛表现 ^[19]
LAMA2	CFA1	参与软骨的发育,缺失后引起肌肉萎缩 ^[20, 23]
LRR1	CFA8	参与软骨发育
COL6A3	CFA25	参与软骨细胞的形成
GDF15	CFA20	参与破骨细胞的分化和形成 ^[24]
COMP	CFA20	参与引起关节软骨退行性病变 ^[25]
CILP2	CFA20	参与骨关节炎 ^[26]
FN1	CFA37	参与调控软骨基质的形成 ^[27]
PON2	CFA14	参与调节骨密度 ^[27]

3 展望

犬髋关节发育不良是一种犬常见、发生率较高的疾病,其具体发病机制仍未查明。针对早期 CHD 的发生尚无灵敏的检测手段和有效的治疗药物,无论是对宠物主人还是对繁育机构而言都存在着巨大的隐患。Sanchez 等^[28]首次研制出用于拉布拉多犬 CHD 发生的遗传诊断试剂盒,但其诊断率还需进行大样本量的评估。而 QTL 作为 CHD 发生时的一种较为前沿的研究方法,已经发现了部分相关染色体的功能和相关致病候选基因。但由于很多对 QTL 的研究都在同一品种以及部分犬中进行,所以目前基于 QTL 的研究所得出的结论仍缺乏科学的判断依据。目前,本课题组正在开展大样本量的犬髋关节发育不良时部分候选致病基因在 CHD 中的表达变化,期望能筛选出 CHD 发生的早期检测标志物,为该病的诊断奠定基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Syrell J. Hip dysplasia: clinical signs and physical examination findings [J]. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2017, 47(4): 769-775.
- [2] Bliss SP, Todhunter RJ, Quass R, et al. Quantitative genetics of traits associated with hip dysplasia in a canine pedigree constructed by mating dysplastic Labrador Retrievers with unaffected Greyhounds [J]. Am J Vet Res, 2002, 63(7): 1029-1035.
- [3] Todhunter RJ, Bliss SP, Casella G, et al. Genetic structure of susceptibility traits for hip dysplasia and microsatellite informativeness of an outcrossed canine pedigree [J]. J Hered, 2003, 94(1): 39-48.
- [4] Chase K, Jones P, Martin A, et al. Genetic mapping of fixed phenotypes: disease frequency as a breed characteristic [J]. J Hered, 2009, 100: S37-S41.
- [5] Marschall Y, Distl O. Mapping quantitative trait loci for canine hip dysplasia in German Shepherd dogs [J]. Mamm Genome, 2007, 18(12): 861-870.
- [6] Chase K, Lawler DF, Adler FR, et al. Bilaterally asymmetric effects of quantitative trait loci (QTLs): QTLs that affect laxity in the right versus left coxofemoral (hip) joints of the dog (Canis familiaris) [J]. Am J Med Genet A, 2004, 124(3): 239-247.
- [7] Frary A, Nesbitt CC, Grandillo S, et al. fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size [J]. Science, 2000, 289(5476): 85-88.
- [8] Wood JL, Lakhani KH, Rogers K. Heritability and epidemiology of canine hip-dysplasia score and its components in Labrador retrievers in the United Kingdom [J]. Prev Vet Med, 2002, 55(2): 95-108.
- [9] Clements DN, Carter SD, Innes JF, et al. Genetic basis of secondary osteoarthritis in dogs with joint dysplasia [J]. Am J Vet Res, 2006, 67(5): 909-918.
- [10] King MD. Etiopathogenesis of canine hip dysplasia, prevalence, and genetics [J]. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2017, 47(4): 753-767.
- [11] Silvestreil AM, Ginja MM, Ferreira AJ, et al. Comparison of estimates of hip dysplasia genetic parameters in Estrela Mountain Dog using linear and threshold models [J]. J Anim Sci, 2007, 85(8): 1880-1884.
- [12] Malm S, Fikse WF, Danell B, et al. Genetic variation and genetic trends in hip and elbow dysplasia in Swedish Rottweiler and Bernese Mountain Dog [J]. J Anim Breed Genet, 2008, 125(6): 403-412.
- [13] Soo M, Worth A. Canine hip dysplasia: phenotypic scoring and the role of estimated breeding value analysis [J]. N Z Vet J, 2015, 63(2): 69-78.

- [14] Ginja MM, Silvestre AM, Gonzaloorden JM, et al. Diagnosis, genetic control and preventive management of canine hip dysplasia: a review [J]. *Vet J*, 2010, 184(3): 269-276.
- [15] Lewis TW, Blott SC, Woolliams JA. Comparative analyses of genetic trends and prospects for selection against hip and elbow dysplasia in 15 UK dog breeds [J]. *BMC genet*, 2013, 14:16.
- [16] Ginja M, Gaspar AR, Ginja C. Emerging insights into the genetic basis of canine hip dysplasia [J]. *Vet Med*, 2015, 6:193-202.
- [17] Friedenber SG, Zhu L, Zhang Z, et al. Evaluation of a fibrillin 2 gene haplotype associated with hip dysplasia and incipient osteoarthritis in dogs [J]. *Am J Vet Res*, 2011, 72(4): 530-540.
- [18] Lee SA, Lee SG, Cho KO, et al. Isolation, characterization and molecular screening of canine SLC26A2 (sulphate transporter) in German Shepherd dogs with hip dysplasia [J]. *J Genet*, 2007, 86(3): 285-288.
- [19] Clements DN, Short AD, Barnes A, et al. A candidate gene study of canine joint diseases [J]. *J Hered*, 2010, 101(1): 54-60.
- [20] Lavrijsen IC, Leegwater PA, Martin AJ, et al. Genome wide analysis indicates genes for basement membrane and cartilage matrix proteins as candidates for hip dysplasia in Labrador Retrievers [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87735.
- [21] 赵明媛, 韩芳, 李雅婵, 等. 拉布拉多犬髋关节发育不良相关基因的 SNP 位点的检测 [J]. *实验动物科学*, 2015, 32(4): 21-25.
- Zhao MY, Han F, Li YC, et al. Detection for SNPs of canine hip dysplasia (CHD) related genes in Labrador retrievers [J]. *Lab Anim Sci*, 2015, 32(4): 21-25.
- [22] Smaldones S, Ramirez F. Fibrillin microfibrils in bone physiology [J]. *Matrix Biol*, 2016, 52-54:191-197.
- [23] 朱艳慧, 喻长顺, 王晓春, 等. 层黏连蛋白 $\alpha 2$ 缺失型先天性肌营养不良患儿一例 LAMA2 基因突变分析 [J]. *中华临床医师杂志*, 2013, 7(13):5871-5874.
- Zhu YH, Yu CS, Wang XC, et al. A report of LAMA2 gene mutation in a patient of merosin-deficient congenital muscular dystrophy type 1A (MDCIA) [J]. *Chin J Clinicians*, 2013, 7(13): 5871-5874.
- [24] 戈旌, 郑家伟, 杨驰, 等. GDF15 对成血管和成骨/破骨作用的影响及机制的研究进展 [J]. *口腔医学*, 2016, 36(5): 453-457.
- Ge J, Zheng JW, Yang C, et al. Advance on the role of GDF15 in angiogenesis and bone metabolism [J]. *Stomatology*, 2016, 36(5): 453-457.
- [25] 李登晓, 徐璇, 朱洁, 等. 滑膜炎胶囊对兔膝骨性关节炎组织病理学及 NO、SOD、COMP 等的影响 [J]. *上海中医药杂志*, 2014, (4): 86-90.
- Li DX, Xu X, Zhu J, et al. Effect of "Huamoyan Capsule" on histopathology and serum NO, SOD, COMP in rabbits with knee osteoarthritis [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2014, 48(4): 86-90.
- [26] Bernardo BC, Belluoccio D, Rowley L, et al. Cartilage intermediate layer protein 2 (CILP-2) is expressed in articular and meniscal cartilage and down-regulated in experimental osteoarthritis [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(43): 37758-37767.
- [27] Pfahler S, Distl O. Identification of quantitative trait loci (QTL) for canine hip dysplasia and canine elbow dysplasia in Bernese mountain dogs [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49782.
- [28] Bartolomé N, Segarra S, Artieda M, et al. A genetic predictive model for canine hip dysplasia: integration of Genome Wide Association Study (GWAS) and candidate gene approaches [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122558.

[收稿日期] 2018-12-18