

## Genetik der Osteoporose: Der COLIA1-Sp1-Polymorphismus

### Genetics of Osteoporosis: The COLIA1-Sp1-Polymorphism

J. Pfeilschifter

**Zusammenfassung:** Die Osteoporose ist eine der häufigsten Erkrankungen des alten Menschen. Sie weist eine starke erbliche Komponente auf. Die Analyse von Polymorphismen in für den Knochenstoffwechsel wichtigen Genen könnte möglicherweise zu einer besseren Identifikation von Personen mit einem hohen Frakturrisiko beitragen. Eines der am besten untersuchten Kandidatengene ist das COLIA1-Gen. Es kodiert für die Alpha-1-Kette des Typ-I-Kollagen, dem Hauptprotein der Knochenmatrix. Ein Polymorphismus in einer Sp1-Bindungsstelle im 1. Intron des COLIA1-Gens hat sich in mehreren unabhängigen Populationen als Determinante der Knochendichte erwiesen. Von noch größerer Bedeutung sind Studien, die zeigen, dass dieser Polymorphismus osteoporotische Frakturen bei postmenopausalen Frauen und bei Männern unabhängig von der Knochendichte vorhersagt. Der COLIA1-Sp1-Polymorphismus scheint über ein Missverhältnis der Bildung der Alpha-1- zu Alpha-2-Kollagenuntereinheiten in die Regulation der Kollagenbildung einzugreifen und zu einer verminderten Knochenqualität zu führen. Ob es durch eine kombinierte Diagnostik aus COLIA1-Sp1-Genotypbestimmung, Knochendichtemessung und klinischen Risikofaktoren zu einer Verbesserung der Frakturverhütung kommt, ist allerdings unklar und muss in prospektiven klinischen Studien geprüft werden.

**Schlüsselwörter:** COLIA1; Genetik; Polymorphismus; Osteoporose; Knochenstoffwechsel; Fraktur.

**Summary:** Osteoporosis is one of the most common diseases in old age. Osteoporosis has a strong genetic component which raises the possibility that genetic tests based on polymorphisms in genes relevant to bone metabolism may improve the identification of persons at high risk of sustaining osteoporotic fractures. One of the best examined candidate genes is COLIA1 which encodes the alpha 1 chain of type I collagen, the major

protein of bone. A polymorphic Sp1 binding site in intron 1 of the COLIA1 gene has been found to be associated with bone mineral density in several populations. More importantly, COLIA1 genotyping was found to predict osteoporotic fractures in postmenopausal women and men which were, at least in part, independent of bone mineral density. The COLIA1 Sp1 binding-site polymorphism appears to have functional effects on collagen gene regulation that lead to abnormal production of the alpha 1 collagen chain relative to alpha 2 and reduced bone strength. It may therefore primarily act as a marker for reduced bone quality. Whether a combination of the COLIA1 Sp1 polymorphism with bone densitometry and clinical risk factors will be of clinical value to target preventive therapies more effectively is, however, unknown and needs to be examined in prospective clinical trials.

**Keywords:** COLIA1; genetic; polymorphism; osteoporosis; bone metabolism; fracture.

Die Osteoporose ist eine der häufigsten und sozioökonomisch bedeutsamsten Alterskrankheiten. Die therapeutischen Möglichkeiten haben sich in den letzten Jahren kontinuierlich verbessert. Mit ihrer Hilfe kann die Frakturnrate heute mehr als halbiert werden [1]. Es gibt aber erhebliche Unsicherheiten, welcher Personenkreis außerhalb von umschriebenen Hochrisikokollektiven und Patienten mit manifesten Frakturen am meisten von einer Therapie profitiert. Die derzeit zur Verfügung stehenden klinischen, laborchemischen und bildgebenden Verfahren der Risikobeurteilung zeigen bei Vorgabe einer ausreichend hohen Sensitivität nur eine unbefriedigende Spezifität [2].

Große Hoffnungen für eine in Zukunft bessere Frakturvorhersage richten sich auf eine ergänzende genetische Diagnostik. Denn aus Zwillings- und Familienstudien ist bekannt, dass das Risiko osteoporotischer Frakturen zu etwa einem Drittel genetisch mitbestimmt ist [3, 4]. Kollagen ist das Hauptprotein der Knochenmatrix. Ein naheliegendes Kandidaten-Gen in Bezug auf mögliche genetische Unterschiede ist deshalb das Kollagen Typ I Alpha-1-Gen auf Chromosom 17, das für eine der beiden Untereinheiten des Typ-I-Kollagens kodiert. Kollagen Typ I Alpha 1 liegt in der Knochenmatrix als Heterotrimer vor, bestehend aus zwei Al-

Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil, Universitätsklinik Bochum, Deutschland

Korrespondenz: Prof. Dr. med. Johannes Pfeilschifter, Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil, Universitätsklinik Bochum, Medizinische Klinik und Poliklinik, Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, 44789 Bochum, Deutschland

Fax: +49-234-302-6403

E-mail: Johannes.Pfeilschifter@ruhr-uni-bochum.de

pha1(I)-Ketten und einer Alpha2(I)-Kette. Umschriebene seltene Mutationen in der kodierenden Region des COL1A1-Gens verursachen das Krankheitsbild der Osteogenesis imperfecta. Bei einem Teil dieser Mutationen kommt es zu strukturellen Veränderungen, die die Helixbildung des Kollagens zerstören. Bei einem anderen Teil kommt es zu einer Nullmutation. Es wird strukturell normales Kollagen produziert, aber in einer geringeren Menge. Mehr als 150 verschiedene Mutationen sind bis heute identifiziert worden [5].

Die Vermutung lag daher nahe, dass es in den kodierenden oder regulatorischen Regionen des COL1A1-Gens neben diesen seltenen Mutationen auch häufigere, funktionell relevante Mutationen mit subtileren Auswirkungen auf die Knochenstabilität geben könnte. Spotila und Mitarbeiter fanden 1994 bei drei von 26 Patienten mit einer familiären Häufung von Osteoporose Polymorphismen in der kodierenden Region des COL1A1-Gens, deren funktionelle Relevanz aber unklar blieb [6]. Die Beschreibung eines sehr wahrscheinlich funktionell relevanten Polymorphismus gelang erst 1996 durch die Arbeitsgruppe von Ralston und Grant in Aberdeen [7]. Die Gruppe fand einen bis dahin noch nicht beschriebenen G→T-Polymorphismus an Position +2046 des COL1A1-Gens (Abb. 1). Grant *et al.* [7] fanden, dass das Risiko für Wirbelkörperfrakturen bei postmenopausalen Frauen mit einem Thymin-haltigen Allel dreifach höher war als bei den Frauen ohne dieses Allel. Die nachfolgende Übersicht stellt die Studien zusam-

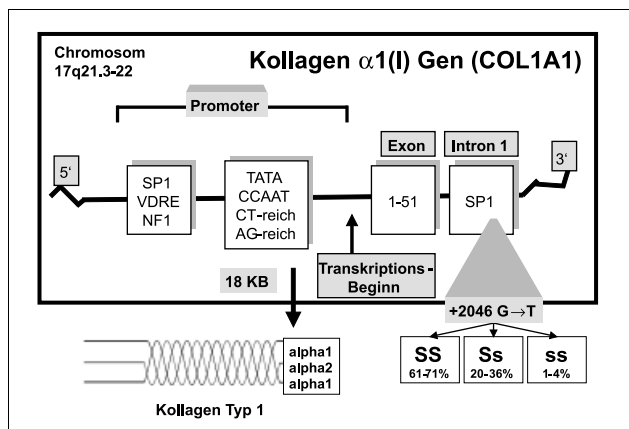
men, die in Zusammenhang mit diesem Polymorphismus in den sechs Jahren seit seiner Erstbeschreibung publiziert wurden.

## Funktionelle Relevanz des COL1A1-Sp1-Polymorphismus

Der von Grant *et al.* [7] beschriebene Polymorphismus an Position +2046 führt zu einer G→T-Mutation in der ersten Base einer Sp1-Bindungsstelle im 1. Intron des COL1A1-Gens. Das Guanin-haltige Allel wird als S-Allel, das Thymin-haltige Allel als s-Allel bezeichnet. Erste Hinweise für die funktionelle Bedeutung des 1. Introns für die Kollagenbildung hatten schon die Arbeiten von Bornstein und Mitarbeitern gegeben [8]. Im Mausmodell kommt es in verschiedenen Geweben mit dem Alter zu einer zunehmenden funktionellen Bedeutung des 1. Introns für die Kollagenbildung [9]. *In-vitro*-Untersuchungen haben gezeigt, dass die Änderung von Guanin in Thymin an Position +2046 die Bindungsaffinität von Sp1 an die DNA erhöht. Das wiederum führt zu einer vermehrten Bildung von Alpha-1-Untereinheiten im Vergleich zu Alpha-2-Untereinheiten [10]. Vor dem Hintergrund einer höheren Frakturanfälligkeit bei den Trägern des s-Allels mag diese Mehrbildung von Alpha-1-Untereinheiten auf den ersten Blick paradox anmuten. Es ist aber denkbar, dass ein relativer Überschuss von Alpha-1-Untereinheiten zu einer vermehrten Bildung von Alpha1(I)3-Kollagen führt, welches eine geringere mechanische Kompetenz als der normale Heterotrimer besitzt. Der endgültige Beweis für diese Hypothese steht allerdings aus. Mann *et al.* [10] fanden auch eine geringfügige Untermineralisation in Knochenproben von Spendern mit einem Ss-Genotyp im Vergleich zu Knochenproben von Personen mit einem SS-Genotyp. Geringe Unterschiede in der Mineralisationsfähigkeit oder andere Änderungen der Struktureigenschaften des s-Allel-Proteins könnten daher möglicherweise ebenfalls zu einer verminderten mechanischen Kompetenz beitragen.

## Bestimmungsmethode

In den meisten Studien erfolgte die Analyse des Genotyps in Anlehnung an die Erstbeschreibung durch Grant *et al.* [7]. Genomische DNA aus peripher-venösem Blut wird mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert unter Verwendung eines Primers mit einem falsch gepaarten Nucleotid zur Erzeugung einer geeigneten Schnittstelle für ein Restriktionsenzym. Es folgt ein Restriktionsenzymverdaug und eine Polyacrylamid- oder Agarose-Gelelektrophorese. In jüngster Zeit sind auch allelspezifische PCR-Methoden beschrieben worden, bei denen sich die reversen Primer in der 3' Base unterscheiden. Dadurch entfällt die Notwendigkeit eines Restriktionsverdaus [11, 12]. Diese modifizierte Methode scheint für die korrekte Bestimmung des ss-Geno-



**Abbildung 1** Das Kollagen-Typ-I-Alpha-1-Gen auf Chromosom 17 kodiert für eine der beiden Untereinheiten des Typ-I-Kollagens. Es ist 18-kBasen lang und besteht aus 51 Exons. Kollagen-Typ-I-Alpha 1 liegt in der Knochenmatrix als Heterotrimer vor, bestehend aus zwei Alpha1(I)-Ketten und einer Alpha2(I)-Kette. Der COL1A1-Sp1-Polymorphismus befindet sich an Position +2046 des COL1A1-Gens. Zugrunde liegt eine G→T-Mutation in der ersten Base einer Sp1-Bindungsstelle im 1. Intron des Gens. Das häufigere Guanin-haltige Allel wird als S-Allel, das seltenere Thymin-haltige Allel als s-Allel bezeichnet. Die Mutation erhöht die Bindungsaffinität von Sp1 an die DNA.

typs verlässlicher zu sein. McGuigan und Ralston entwickelten auch eine Anwendung für den 5' Nuclease Allel-Diskriminations-Assay, die sich für den Einsatz bei einem hohen Probenaufkommen eignet [13].

## Allel-Häufigkeit

Analysen aus verschiedenen Regionen Europas (Dänemark, England, Finnland, Frankreich, Niederlande, Schottland, Spanien) zeigen minimale und maximale Häufigkeiten von 61–71 % für den SS-Genotyp, 20–36 % für den Ss-Genotyp, und 1–4 % für den ss-Genotyp. Regionale Unterschiede innerhalb Europas lassen sich nicht erkennen [14–23]. Aus Boston, USA [24] und aus Brasilien [25] wurden ähnliche Verteilungen berichtet. In China, Japan und Südkorea scheint der COLIA1-Sp1-Polymorphismus dagegen nicht oder wenn, dann nur äußerst selten, vorzukommen [26–28].

## Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit der Knochendichte

Seit der Erstbeschreibung im Jahr 1996 wurde eine Reihe von Folgestudien zur Frage der Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit der Knochendichte durchgeführt.

Drei Studien untersuchten im Querschnitt die Assoziation des Polymorphismus mit der Knochendichte im Kindes- und Jugendalter (29–31). In zwei der drei Studien ließ sich keine Assoziation beobachten [29, 30]. Dagegen fanden Sluis *et al.* [31] bei Kindern und Jugendlichen mit einem s-Allel im Vergleich zu denen ohne ein s-Allel einen um 0,5 Standardabweichungen verminderten Knochenmineralgehalt bei Granzkörpermessungen und einen um 0,4 Standardabweichungen verminderten Knochenmineralgehalt der Lendenwirbelsäule. Dies ließ sich aber zum Teil darauf zurückführen, dass die Träger eines s-Allels auch etwas kleiner waren und kleinere Knochen aufwiesen. In der einzigen, für das Kindes- und Jugendalter beschriebenen Längsschnittuntersuchung war bei den 8–16 Jahre alten Jungen und Mädchen im Verlauf von etwa 4 Jahren keine Assoziation der Knochendichte am Radius mit dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus nachweisbar [32].

Vier Studien haben den Zusammenhang zwischen dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus und der Knochendichte im Querschnitt bei jüngeren Erwachsenen untersucht (15, 25, 33, 34). Garnero *et al.* [15] fanden bei prämenopausalen französischen Frauen mit einem ss-Genotyp eine 5 % geringere Ganzkörperknochendichte im Vergleich zu den Frauen mit einem Ss- oder SS-Genotyp. In den drei anderen Studien fand sich sowohl bei Frauen als auch bei Männern kein Zusammenhang zwischen dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus und der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule oder am Schenkelhals [25, 33, 34]. Ein direkter Einfluss des COLIA1-Sp1-Polymorphismus auf die Phase der

maximalen Knochenbildung in Kindheit und Jugend erscheint aufgrund dieser Daten fraglich.

Siebzehn Studien haben den Zusammenhang zwischen der Knochendichte und dem COLIA1-Sp1-Genotyp im Querschnitt bei Frauen nach der Menopause untersucht. Sieben dieser Studien zeigen eine verminderte Knochendichte bei Trägerinnen eines s-Allels im Vergleich zu den Frauen mit einem SS-Genotyp [7, 14, 16, 17, 35–37]. In den übrigen 10 Studien ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus und der Knochendichte nachweisen [19, 22, 38–45]. Eine Abhängigkeit der unterschiedlichen Ergebnisse vom Studiendesign (Bevölkerungsstudie, Fall-Kontrollstudien), von den Studienkollektiven und von der Studiengröße und Studienqualität läßt sich dabei weder ableiten noch ausschließen. Insgesamt war der Beitrag des COLIA1-Sp1-Genotyps zur Variabilität der Knochendichte auch bei Nachweis einer Assoziation eher gering. In der Rotterdamstudie [14] erklärte der Polymorphismus bei postmenopausalen Frauen gerade 0,3 % der Variabilität der Knochendichte am Schenkelhals und 0,4 % der Variabilität der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule.

Vier der oben genannten Studien haben auch prospektiv die Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit dem Knochenverlust nach der Menopause untersucht. McDonald *et al.* [19] beobachteten bei den Frauen mit einem ss-Genotyp im Vergleich den Frauen mit einem Ss- oder SS-Genotyp über einen Zeitraum von 4–7 Jahren an der Lendenwirbelsäule jährlich einen um etwa 1 % größeren Verlust an Knochendichte. Ein ähnlicher Trend zeigte sich auch am Schenkelhals. Dieser Zusammenhang ließ sich aber nur bei den Frauen ohne Östrogeneinnahme nachweisen [19]. In multivariaten Analysen erklärte der Polymorphismus 3 % der Variabilität der Verluste der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule in diesem Zeitraum. Die anderen drei Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen der Veränderung der Knochendichte und dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus nachweisen [17, 41, 42].

Vier Studien haben den Zusammenhang zwischen der Knochendichte und dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus im Querschnitt im höheren Lebensalter untersucht. Van Pottelbergh *et al.* [46] fanden eine geringgradig höhere Knochendichte am Radius bei einem SS-Genotyp. Bei den anderen drei Studien zeigte sich entweder kein Zusammenhang oder lediglich eine Tendenz für höhere Knochendichtewerte bei Vorliegen eines SS-Genotyps [18, 24, 47]. In einer osteosonometrischen Studie beobachteten Kann *et al.* [48] bei den weiblichen Teilnehmerinnen der Rotterdamstudie mit einem SS-Genotyp höhere „Speed-of-Sound“-Werte, entsprechend einer vermehrten Knochenfestigkeit.

Zwei Studien haben den Zusammenhang zwischen einem Knochenmassenverlust im Alter und dem COLIA1-Polymorphismus im Längsschnitt untersucht. Bei 243 amerikanischen Männern und Frauen im Alter von mehr als 65 Jahren kam es im Verlauf von 5 Jahren bei den Personen mit einem ss-Genotyp zu einem 2,7 %

**Tabelle 1** Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit dem Frakturrisiko und mit Komponenten der Knochenstabilität

Parameter	Assoziation	Quantitativer Unterschied zum SS-Genotyp
Knochendichte an der Lendenwirbelsäule	schwach	Ss-Genotyp: -0,13 SD (0,07–0,19) ss-Genotyp: -0,20 SD (0,07–0,34)
Knochendichte am Schenkelhals	schwach	Ss-Genotyp: -0,10 SD (0,04–0,17) ss-Genotyp: -0,27 SD (0,13–0,40)
Knochenumbau	keine	keiner
Frakturrisiko	schwach mäßig	Ss-Genotyp: RR 1,25 (1,09–1,45) ss-Genotyp: RR 1,68 (1,35–2,10)
SD = Standardabweichung, RR=Relatives Risiko, die Zahlen in Klammern geben das 95 % Konfidenzintervall an		

größeren Verlust an Ganzkörperknochendichte als bei den Personen mit einem SS-Genotyp [24]. Brown *et al.* [49] fanden bei 193 spätpostmenopausalen Frauen mit einem mittleren Alter von 69 Jahren im Verlauf von 6,3 Jahren eine Assoziation des s-Allels mit einem Abfall der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule, die bei den Frauen mit einer niedrigen Kalziumzufuhr am ausgeprägtesten war.

Der Zusammenhang zwischen der Knochendichte und dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus wurde auch in Linkage-Studien untersucht. Hustmyer und Mitarbeiter [50] untersuchten 28 monozygote und 40 dizygote prämenopausale weibliche Zwillinge im Alter von 21–49 Jahren und fanden keinen Zusammenhang der Knochendichte mit dem COLIA1-Polymorphismus. In zwei anderen Familien-Untersuchungen fand sich dagegen ein mäßiger bis schwacher Zusammenhang mit der Knochendichte [49, 51].

Daneben gibt es vereinzelte Berichte über eine Assoziation des s-Allels mit einer Osteoporose bei speziellen Risikokollektiven wie Diabetes mellitus [52], der Thalassemia major [53, 54] bei Frauen mit einer primären biliären Zirrhose [55] und einer idiopathischen Osteoporose beim Mann [56]. Insgesamt handelt es sich hierbei um sehr kleine Studienkollektive, bei denen ein Publikationsbias nicht auszuschließen ist.

Zusammenfassend gibt es einige Hinweise für einen schwachen Zusammenhang zwischen der Knochendichte und dem COLIA1-Sp1-Polymorphismus (Tabelle 1). Dieser Zusammenhang scheint im Alter ausgeprägter zu sein. Nur ein Teil der durchgeführten Studien zeigt eine negative Assoziation zwischen einem s-Allel und der Knochendichte. Umgekehrt ist bisher keine Arbeit publiziert worden, bei der das Vorliegen eines s-Allels mit einer höheren Knochendichte verbunden gewesen wäre. Viele der negativen Studien hatten keine ausreichende Fallzahlen, um schwache Assoziationen auszuschließen. In dieser Hinsicht ist es wichtig, dass positive Assoziationen auch in größeren Bevölkerungsstudien gefunden wurden. Mann *et al.* [10] haben eine Metaanalyse der Daten aus 16 Studien mit 4 965 Teilnehmern durchgeführt. Dabei errechneten sie an der Lendenwirbelsäule eine im Mittel um 0,13 Stan-

dardabweichungen geringere Knochendichte für den Ss-Genotyp im Vergleich zum SS-Genotyp (95 % Konfidenzintervall 0,07–0,19;  $p = 0,0003$ ) und eine um 0,2 Standardabweichungen geringere Knochendichte der Personen mit einem ss-Genotyp im Vergleich zu Personen mit einem SS-Genotyp (95 % Konfidenzintervall 0,07–0,34,  $p = 0,004$ ). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in dieser gepoolten Analyse auch am Schenkelhals: Der Ss-Genotyp war mit einer um 0,1 Standardabweichungen niedrigeren Knochendichte verbunden als der SS-Genotyp (95 % Konfidenzintervall 0,04–0,17,  $p = 0,0008$ ). Personen mit einem ss-Genotyp hatten eine um 0,27 Standardabweichungen niedrigere Knochendichte als Personen mit einem SS-Genotyp (95 % Konfidenzintervall 0,13–0,40,  $p = 0,0001$ ).

### Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit Frakturen

Dreizehn Studien haben die Beziehung des COLIA1-Sp1-Polymorphismus zur Frakturhäufigkeit untersucht. Neun dieser Studien fanden eine höhere Frakturanfälligkeit bei Vorliegen eines s-Allels, unabhängig von der Knochendichte [7, 14, 16, 22, 38, 42, 57, 58, 59]. In der Studie der Erstbeschreibung des Polymorphismus durch Grant *et al.* [7] hatten die postmenopausalen Frauen mit einem s-Allel ein 3-fach höheres Risiko für vertebrale Frakturen im Vergleich zu Frauen, die homozygot für das S-Allel waren (95 % Konfidenzintervall 1,63–9,56). Uitterlinden *et al.* [14] wiesen in der Rotterdamstudie bei postmenopausalen Trägern eines s-Allels auch ein erhöhtes Risiko für nichtvertebrale Frakturen nach. Pro Kopie des s-Allels stieg das Frakturrisiko um den Faktor 1,5 an (95 % Konfidenzintervall 1,1–2,1). Die Studie von Langdahl *et al.* [38] zeigt eine vergleichbare Frakturvorhersage durch den COLIA1-Sp1-Polymorphismus bei Männern.

Vier Studien fanden keine Abhängigkeit der Frakturrate vom COLIA1-Sp1-Polymorphismus [18, 43, 47, 50]. Insbesondere konnte in einer belgischen Fall-Kontroll-Studie alter Frauen kein Zusammenhang mit Hüftfrakturen gezeigt werden [47].

Eine Metaanalyse aller Studien zur Frakturhäufigkeit, die insgesamt 3 641 Teilnehmer umfassen, errechnete im Vergleich zum SS-Genotyp für den Ss-Genotyp ein 1,25-fach höheres Frakturrisiko für alle Frakturen (95 % Konfidenzintervall 1,09–1,45) und ein 1,3-fach höheres Risiko für vertebrale Frakturen. Für den ss-Genotyp war das Frakturrisiko für alle Frakturen 1,68-fach höher (95 % Konfidenzintervall 1,35–2,109 und 2,07-fach höher für vertebrale Frakturen [10]). Dabei könnte die attributable Fraktion des s-Allels für osteoporotische Frakturen in US/Europäischen Populationen mit 9,4 % durchaus beachtlich sein [60].

Zusammenfassend scheint der COLIA1-Sp1-Polymorphismus ein schwacher bis mäßiger unabhängiger Prädiktor von osteoporotischen Frakturen zu sein (Tabelle 1). Bei der Einschätzung des Relativen Risikos sollte man berücksichtigen, dass auch die Mehrzahl der etablierten Risikofaktoren das Frakturrisiko etwa um den Faktor 2 erhöht. Dies gilt für einen niedrigen Body-Mass-Index, eine Immobilisation, die Verminderung der Knochendichte um jeweils eine Standardabweichung, einen hohen Knochenumbau, einen niedrigen Messwert in der Osteosonometrie oder für die Familienanamnese einer Schenkelhalsfraktur vor dem 65. Lebensjahr.

### **Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismus mit dem Knochenumbau und anderen Determinanten der Skelettfragilität**

Die schwache Assoziation mit der Knochendichte kann die Assoziation des COLIA1-Polymorphismus mit der Frakturrate nur zu einem kleinen Teil erklären. In der Tat ist die Vorhersage von Frakturen ja auch weitgehend unabhängig von der Knochendichte. Mann *et al.* [10] haben die biomechanische Kompetenz von Knochenzylindern aus dem Femurkopf von Patienten mit einem unterschiedlichen Genotyp *ex vivo* untersucht. Bei vergleichbarer Knochendichte war die mechanische Kompetenz der Knochen der Personen mit einem Ss-Genotyp geringer als bei den Knochenproben der Personen mit einem SS-Genotyp. Es liegt daher nahe, zu vermuten, dass der Polymorphismus vor allem über Unterschiede in der mechanischen Kompetenz der Knochenmatrix mit der Frakturrate assoziiert ist.

Ein beschleunigter Knochenumbau ist vermutlich über die Zunahme von Umbaueinheiten und die damit verbundene Schwächung der Mikroarchitektur des Knochens eine wichtige Komponente einer erhöhten Knochenbrüchigkeit. In der Tat wirken fast alle der derzeit eingesetzten Osteoporosetherapeutika aus der Klasse der Antiresorptiva überwiegend über den Mechanismus einer Verminderung des Knochenumbaus knochenprotektiv. Hinweise dafür, dass der COLIA1-Sp1-Polymorphismus den Knochenumbau primär oder reaktiv beeinflusst, liegen aber bis auf wenige, möglicherweise auf Zufallsbasis gefundene Assoziationen mit einzelnen biochemischen Umbaumarkern in keinem Lebensabschnitt vor [15, 16, 17, 38, 41, 43, 46, 47, 59, 61].

Einige der bereits zitierten Studien enthalten einige zusätzliche interessante Beobachtungen, die die Möglichkeit andeuten, dass der COLIA1-Sp1-Polymorphismus neben der Beeinflussung der mechanischen Kompetenz der Knochenmatrix möglicherweise noch andere Komponenten der Frakturenstehung beeinflusst. Alle diese Beobachtungen sind allerdings als äußerst vorläufig zu werten und bedürfen der Wiederholung. So beobachteten Qureshi *et al.* [20] einen günstigeren Schaft-Schenkelhals-Winkel bei Personen mit einem SS-Genotyp im Vergleich zu den Personen mit einem Ss- oder ss-Genotyp, was gut ein höheres Frakturrisiko beim Seitwärtsfallen erklären würde. Van Pottbergh *et al.* [46] fanden bei älteren belgischen Männern, die homozygot für das S-Allel waren, eine 21 % bessere Griffstärke und eine 30 % größere Bizepskraft als bei den übrigen Männern. Die in der gleichen Studie gefundenen Unterschiede in der Knochendichte waren nach Adjustierung für die Muskelkraft nicht mehr signifikant. Diese Daten stellen die interessante Theorie auf, dass sich die geringen Unterschiede in der Knochendichte möglicherweise auch sekundär über Unterschiede der Muskelkraft erklären lassen.

### **Assoziation des COLIA1-Sp1-Polymorphismen mit der therapeutischen Effektivität**

Genetische Unterschiede mögen nicht nur bei der Frakturhäufigkeit, sondern auch beim Ansprechen auf therapeutische Maßnahmen eine Rolle spielen. Neben einer möglichen Rolle bei der Selektion von therapiebedürftigen Risikopersonen könnten genetische Marker zukünftig daher auch bei der Abschätzung der Therapieeffizienz eine wichtige Rolle spielen. Für den COLIA1-Sp1-Polymorphismus gibt es zwei Untersuchungen in dieser Richtung. Beide zeigen ein geringeres Ansprechen der Knochendichte nach einer Bisphosphonattherapie bei Vorliegen eines s-Allels. Wonke *et al.* [53] fanden bei Patienten mit einer Thallassaemia major und einem s-Allel im Gegensatz zu den Patienten mit einem SS-Genotyp keine Wirkung einer intravenösen Therapie mit Pamidronat auf die Knochendichte. Qureshi *et al.* [23] beobachteten bei perimenopausalen osteopenischen Frauen über 3 Jahre hinweg einen geringeren Zugewinn an Knochendichte am Schenkelhals mit Etidronat, wenn die Frauen Träger eines s-Alles waren. Die pathophysiologische Grundlage dieser Beobachtungen und die Bedeutung für die Frakturrate sind unklar. Obwohl diese Untersuchungen sehr präliminär sind, berührt diese Kopplung von höherem Frakturrisiko an eine möglicherweise schlechtere Therapierbarkeit eine wichtige Frage, nämlich, ob eine Verbesserung der Frakturvorhersage durch einen genetischen Marker denn auch tatsächlich zu einer Verringerung der Frakturrate führt. Solange diese Frage ungeklärt ist, bleibt der diagnostische Nutzen unklar.

## Zusammenfassung und Ausblick

Sechs Jahre nach seiner Erstentdeckung ist der COL1A1-Sp1-Polymorphismus zu einem der am besten validierten genetischen Marker in Bezug auf eine Frakturvorhersage geworden. So gibt es im Gegensatz zu einer Reihe anderer Polymorphismen in Kandidatengenomen, deren funktionelle Relevanz fraglich ist, für den COL1A1-Sp1-Polymorphismus gute Belege für dessen funktionelle Relevanz, wenn auch der Mechanismus unvollständig geklärt ist. Dass der Polymorphismus prädiktiv für Frakturen ist, ist inzwischen in mehreren unabhängigen Populationen mit z. T. großen Fallzahlen reproduziert worden.

Der besondere Reiz des COL1A1-Sp1-Polymorphismus liegt in der Verknüpfung mit der mechanischen Kompetenz der Knochenmatrix. Damit erfasst er erstmalig eine Komponente der Knochenfragilität, die sich bisher der Diagnostik entzogen hatte. Als alleinige diagnostische Methode hat der Polymorphismus allenfalls eine begrenzte Vorhersagekraft für Frakturen. Die Tatsache, dass er eine zu anderen Komponenten der Knochenfragilität wie Knochenmasse und Knochenumbau komplementäre Aussagen liefert, könnte den COL1A1-Sp1-Polymorphismus aber zu einem nützlichen Bestandteil eines kombinierten Risikoindex machen.

Es ist gut möglich, dass es noch andere Polymorphismen in regulatorischen Regionen des COL1A1-Gens gibt, die in Kombination mit dem Sp1-Polymorphismus die Frakturvorhersage erhöhen könnten. So haben Garcia-Giralt *et al.* [44] bei der systematischen Suche nach neuen Polymorphismen in einer 800-Basenpaar-Region im COL1A1-Promoter 2 bisher nicht bekannte Polymorphismen gefunden, die Bindungsstellen nukleärer Proteine zu entsprechen scheinen, und von denen ein G→T-Polymorphismus an Position -1997 unabhängig vom Sp1-Polymorphismus mit der Knochendichte postmenopausaler Frauen assoziiert war.

Für einen routinemäßigen klinischen Einsatz des COL1A1-Sp1-Polymorphismus ist die Datenlage unabhängig von Kosten-Nutzen-Erwägungen noch unzureichend. Denn es gibt bisher keinen Beleg dafür, dass sich durch einen definierten Risiko-Index unter Einschluss des COL1A1-Sp1-Polymorphismus tatsächlich mehr Frakturen verhindern lassen. Als Indikator für die prinzipielle Verwendbarkeit genetischer Marker bei der besseren Identifikation von Personen mit einem hohen Frakturrisiko sind die in den letzten sechs Jahren in Zusammenhang mit diesem Polymorphismus erarbeiteten Ergebnisse aber äußerst ermutigend.

## Literatur

1. Pfeilschifter J. Rationale und rationelle Osteoporoseprophylaxe und -therapie. *Internist* 2002;43:554–62.
2. Nelson HD, Helfand M, Woolf SH, Allan JD. Screening for postmenopausal osteoporosis: a review of the evidence for the US Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2002;137:529–41.
3. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2460–6.
4. Peacock M, Turnoer CH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. *Endocrine Rev* 2002;23:303–326.
5. Byers PH, Steiner RD. Osteogenesis imperfecta. *Annu Rev Med* 1992;43:269–82.
6. Spotila LD, Colige A, Sereda L, Constantinou-Deltas CD, Whyte MP, Riggs BL, Shaker JL, Spector TD, Hume E, Olsen N, et al. Mutation analysis of coding sequences for type I procollagen in individuals with low bone density. *J Bone Miner Res* 1994;9:923–32.
7. Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 1996;14:203–5.
8. Bornstein P, McKay J, Morishima JK, Devarayalu S, Gelinas RE. Regulatory elements in the first intron contribute to transcriptional control of the human collagen alpha 1 (I) collagen gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:8869–73.
9. Hormuzdi SG, Penttinen R, Jaenisch R, Bornstein P. A gene-targeting approach identifies a function for the first intron in expression of the alpha1(I) collagen gene. *Mol Cell Biol* 1998;18:3368–75.
10. Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspdren RM, Ralston SH. A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001;107:899–907.
11. Montanaro L, Arciola CR. Detection of the G→T polymorphism at the Sp1 binding site of the collagen type I alpha 1 gene by a novel ARMS-PCR method. *Genet Test* 2002;6:53–7.
12. Mirandola S, Sangalli A, Mottes M. Rapid and efficient genotype analysis of the COL1A1 Sp1 binding site dimorphism, a genetic marker for bone mineral density. *Mol Cell Probes* 2002;16:73–5.
13. McGuigan FE, Ralston SH. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatr Genet* 2002;12:133–6.
14. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, Yue F, McGuigan FE, Grant SF, Hofman A, van Leeuwen JP, Pols HA, Ralston SH. Relation of alleles of the collagen type I alpha 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998;338:1016–21.
15. Garnero P, Borel O, Grant SF, Ralston SH, Delmas PD. Collagen I alpha 1 Sp1 polymorphism, bone mass, and bone turnover in healthy French premenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1998;13:813–7.
16. Keen RW, Woodford-Richens KL, Grant SF, Ralston SH, Lanchbury JS, Spector TD. Association of polymorphism at the type I collagen (COL1A1) locus with reduced bone mineral density, increased fracture risk, and increased collagen turnover. *Arthritis Rheum* 1999;42:285–90.
17. Heegaard A, Jorgensen HL, Vestergaard AW, Hassager C, Ralston SH. Lack of influence of collagen type I alpha 1 Sp1 binding site polymorphism on the rate of bone loss in a cohort of postmenopausal Danish women followed for 18 years. *Calcif Tissue Int* 2000;66:409–13.
18. Ashford RU, Luchetti M, McCloskey EV, Gray RL, Pande KC, Dey A, Kayan K, Ralston SH, Kanis JA. Studies of bone density, quantitative ultrasound, and vertebral fractures in relation to collagen type I alpha 1 alleles in elderly women. *Calcif Tissue Int* 2001;68:348–51.
19. MacDonald HM, McGuigan FA, New SA, Campbell MK, Golden MH, Ralston SH, Reid DM. COL1A1 Sp1 polymorphism predicts perimenopausal and early postmenopausal spinal bone loss. *J Bone Miner Res* 2001;16:1634–41.
20. Qureshi AM, McGuigan FE, Seymour DG, Hutchison JD, Reid DM, Ralston SH. Association between COL1A1 Sp1 alleles and femoral neck geometry. *Calcif Tissue Int* 2001;69:67–72.

21. Vinkanharju A, Melkko T, Risteli J, Risteli L. New PCR-based method for the Sp1 site polymorphism in the COLIA1 gene. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:624–6.
22. Bernad M, Martinez ME, Escalona M, Gonzalez ML, Gonzalez C, Garces MV, Del Campo MT, Martin Mola E, Madero R, Carreno L. Polymorphism in the type I collagen (COLIA1) gene and risk of fractures in postmenopausal women. *Bone* 2002;30: 223–8.
23. Qureshi AM, Herd RJ, Blake GM, Fogelman I, Ralston SH. COLIA1-Sp1-Polymorphism predicts response of femoral neck bone density to cyclical etidronate therapy. *Calcif Tissue Int* 2002;70: 158–63.
24. Harris SS, Patel MS, Cole DE, Dawson-Hughes B. Associations of the collagen type I alpha1 Sp1 polymorphism with five-year rates of bone loss in older adults. *Calcif Tissue Int* 2000;66:268–71.
25. Barros ER, Kasamatsu TS, Ramalho AC, Hauache OM, Vieira JG, Lazaretti-Castro M. Bone mineral density in young women of the city of São Paulo, Brazil: correlation with both collagen type I alpha 1 gene polymorphism and clinical aspects. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:885–93.
26. Han KO, Moon IG, Hwang CS, Choi JT, Yoon HK, Min HK, Han IK. Lack of an intronic Sp1 binding-site polymorphism at the collagen type I alpha1 gene in healthy Korean women. *Bone* 1999;24:135–7.
27. Nakajima T, Ota N, Shirai Y, Hata A, Yoshida H, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Emi M. Ethnic difference in contribution of Sp1 site variation of COLIA1 gene in genetic predisposition to osteoporosis. *Calc Tissue Int* 1999;65:352–3.
28. Lambrinoudaki I, Kung AW. Absence of high-risk 's' allele associated with osteoporosis at the intronic SP1 binding-site of collagen I alpha1 gene in Southern Chinese. *J Endocrinol Invest* 2001;24: 499–502.
29. Sainz J, Van Tornout JM, Sayre J, Kaufman F, Gilsanz V. Association of collagen type 1 alpha 1 gene polymorphism with bone density in early childhood. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:853–5.
30. Tao C, Garnett S, Petrauskas V, Cowell CT. No association was found between collagen alpha1 type 1 gene and bone density in prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4293–4.
31. Sluis IM, Muinck Keizer-Schrama SM, Pols HA, Lequin MH, Krenning EP, Uitterlinden AG. Collagen Ia1 polymorphism is associated with bone characteristics in Caucasian children and young adults. *Calcif Tissue Int* 2002 [epub ahead of print].
32. Berg JP, Lehmann EH, Stakkestad JA, Haug E, Halse J. The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha 1 (COLIA1) gene is not associated with bone mineral density in healthy children, adolescents, and young adults. *Eur J Endocrinol* 2000;143:261–5.
33. Braga V, Sangalli A, Malerba G, Mottes M, Mirandola S, Gatti D, Rossini M, Zamboni M, Adami S. Relationship among VDR (BsmI and FokI), COLIA1, and CTR polymorphisms with bone mass, bone turnover markers, and sex hormones in men. *Calcif Tissue Int* 2002;70:457–62.
34. McGuigan FE, Murray L, Gallagher A, Davey-Smith G, Neville CE, Van't Hof R, Boreham C, Ralston SH. Genetic and environmental determinants of peak bone mass in young men and women. *J Bone Miner Res* 2002;17:1273–9.
35. Braga V, Mottes M, Mirandola S, Lisi V, Malerba G, Sartori L, Bianchi G, Gatti D, Rossini M, Bianchini D, Adami S. Association of CTR and COLIA1 alleles with BMD values in peri- and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2000;67:361–6.
36. Weichetova M, Stepan JJ, Michalska D, Haas T, Pols HA, Uitterlinden AG. COLIA1 polymorphism contributes to bone mineral density to assess prevalent wrist fractures. *Bone* 2000;26:287–90.
37. Efstathiadou Z, Kranas V, Ioannidis JP, Georgiou I, Tsatsoulis A. The Sp1 COLIA1 gene polymorphism, and not vitamin D receptor or estrogen receptor gene polymorphisms, determines bone mineral density in postmenopausal Greek women. *Osteoporos Int* 2001;12: 326–31.
38. Langdahl BL, Ralston SH, Grant SF, Eriksen EF. An Sp1 binding site polymorphism in the COLIA1 gene predicts osteoporotic fractures in both men and women. *J Bone Miner Res* 1998;13:1384–9.
39. Liden M, Wilen B, Ljunghall S, Melhus H. Polymorphism at the Sp 1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene does not predict bone mineral density in postmenopausal women in Sweden. *Calcif Tissue Int* 1998;63:293–5.
40. Willing M, Sowers M, Aron D, Clark MK, Burns T, Bunten C, Crutchfield M, D'Agostino D, Jannausch M. Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res* 1998;13:695–705.
41. Sowers M, Willing M, Burns T, Deschenes S, Hollis B, Crutchfield M, Jannausch M. Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcin levels. *J Bone Miner Res* 1999;14:1411–9.
42. McGuigan FE, Armbrrecht G, Smith R, Felsenberg D, Reid DM, Ralston SH. Prediction of osteoporotic fractures by bone densitometry and COLIA1 genotyping: a prospective, population-based study in men and women. *Osteoporos Int* 2001;12:91–6.
43. Valimaki S, Tahtela R, Kainulainen K, Laitinen K, Loytyniemi E, Sulkava R, Valimaki M, Kontula K. Relation of collagen type I alpha 1 (COLIA 1) and vitamin D receptor genotypes to bone mass, turnover, and fractures in early postmenopausal women and to hip fractures in elderly people. *Eur J Intern Med* 2001;12:48–56.
44. Garcia-Giralt N, Nogues X, Enjuanes A, Puig J, Mellibovsky L, Bay-Jensen A, Carreras R, Balcells S, Diez-Perez A, Grinberg D. Two new single-nucleotide polymorphisms in the COLIA1 upstream regulatory region and their relationship to bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2002;17:384–93.
45. Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, Daly M, Shanahan F, Molloy MG, Quane KA. Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (FokI), and COLIA1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int* 2002;71:26–35.
46. Van Pottelbergh I, Goemaere S, Nuytinck L, De Paep A, Kaufman JM. Association of the type I collagen alpha1 Sp1 polymorphism, bone density and upper limb muscle strength in community-dwelling elderly men. *Osteoporos Int* 2001;12:895–901.
47. Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Broos P, Boonen S. Polymorphisms of the VDR, ER and COLIA1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2000;11:583–91.
48. Kann P, Bergink AP, Fang Y, Van Daele PL, Hofman A, Van Leeuwen JP, Beyer J, Uitterlinden AG, Pols HA. The Collagen Ia1 SP1 polymorphism is associated with differences in ultrasound transmission velocity in the calcaneus in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2002;70:450–6.
49. Brown MA, Haughton MA, Grant SF, Gunnell AS, Henderson NK, Eisman JA. Genetic control of bone density and turnover: role of the collagen I alpha1, estrogen receptor, and vitamin D receptor genes. *J Bone Miner Res* 2001;16:758–64.
50. Hustmyer FG, Liu G, Johnston CC, Christian J, Peacock M. Polymorphism at an Sp1 binding site of COLIA1 and bone mineral density in premenopausal female twins and elderly fracture patients. *Osteoporos Int* 1999;9:346–50.
51. Duncan EL, Brown MA, Sinsheimer J, Bell J, Carr AJ, Wordsworth BP, Wass JA. Suggestive linkage of the parathyroid receptor type 1 to osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1999;14:1993–9.
52. Hampson G, Evans C, Pettitt RJ, Evans WD, Woodhead SJ, Peeters JR, Ralston SH. Bone mineral density, collagen type 1 alpha 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998;41:1314–20.
53. Wonke B, Jensen C, Hanslip JJ, Prescott E, Lalloz M, Layton M, Erten S, Tuck S, Agnew JE, Raja K, Davies K, Hoffbrand AV. Genetic and acquired predisposing factors and treatment of osteoporosis in thalassaemia major. *J Pediatr Endocrinol Metab* 198;11 Suppl 3:795–801.

54. Perrotta S, Cappellini MD, Bertoldo F, Servedio V, Iolascon G, D'Agruma L, Gasparini P, Siciliani MC, Iolascon A. Osteoporosis in beta-thalassaemia major patients: analysis of the genetic background. *Br J Haematol* 2000;111:461–6.
55. Pares A, Guanabens N, Alvarez L, De Osaba MJ, Oriola J, Pons F, Caballeria L, Monegal A, Salvador G, Jo J, Peris P, Rivera F, Ballesta AM, Rodes J. Collagen type Ialpha1 and vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mass in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2001;33:554–60.
56. Peris P, Alvarez L, Oriola J, Guanabens N, Monegal A, de Osaba MJ, Jo J, Pons F, Ballesta AM, Munoz-Gomez J. Collagen type Ialpha1 gene polymorphism in idiopathic osteoporosis in men. *Rheumatology* 2000;39:1222–5.
57. McGuigan FE, Reid DM, Ralston SH. Susceptibility to osteoporotic fracture is determined by allelic variation at the Sp1 site, rather than other polymorphic sites at the COL1A1 locus. *Osteoporos Int* 2000;11:338–43.
58. Uitterlinden AG, Weel AE, Burger H, Fang Y, van Duijn CM, Hofman A, van Leeuwen JP, Pols HA. Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type Ialpha1 gene in susceptibility for fracture. *J Bone Miner Res* 2001;16:379–85.
59. Mezquita-Raya P, Munoz-Torres M, de Dios Luna J, Lopez-Rodriguez F, Quesada JM, Luque-Recio F, Escobar-Jimenez F. Performance of COL1A1 polymorphism and bone turnover markers to identify postmenopausal women with prevalent vertebral fractures. *Osteoporos Int* 2002;13:506–12.
60. Efstathiadou Z, Tsatsoulis A, Ioannidis JP. Association of collagen Ialpha1 Sp1 polymorphism with the risk of prevalent fractures: a meta-analysis. *J Bone Miner Res* 2001;16:1586–92.
61. Sheehan D, Bennett T, Cashman KD. An assessment of genetic markers as predictors of bone turnover in healthy adults. *J Endocrinol Invest* 2001;24:236–45.