

组织蛋白酶与骨密度的因果关系：双向孟德尔随机化分析

姜楠¹, 符浩楠¹, 郝宇涵², 陈祉霖², 朱芷晴³, 徐峰⁴, 于栋⁴<https://doi.org/10.12307/2025.391>

投稿日期: 2024-04-22

采用日期: 2024-06-11

修回日期: 2024-07-08

在线日期: 2024-08-07

中图分类号:

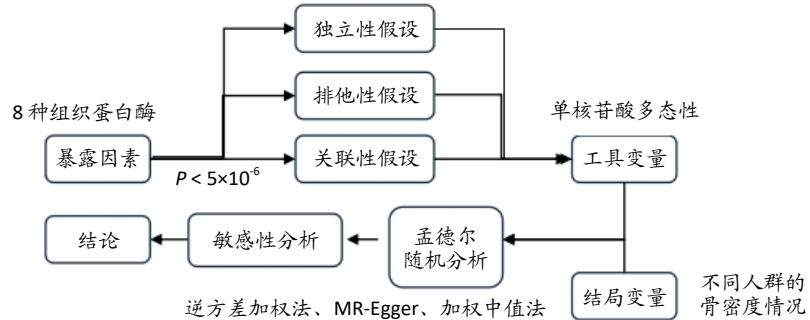
R459.9; R336; R363.2+5

文章编号:

2095-4344(2025)12-02623-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 不同类型组织蛋白酶与骨密度之间的关系



文题释义:

孟德尔随机化: 是一种以遗传变异为工具变量, 遵循孟德尔定律, 即相应的等位基因在胚胎形成时期随机分配且固定的原则, 排除混杂因素对结果的影响, 加强了因果推断证据的研究方法。

骨密度: 又称骨骼矿物质密度, 是指单位体积内骨矿物质(主要是钙和磷)的含量, 单位为 g/cm^3 , 是反映骨骼强度的一个重要指标。

摘要

背景: 既往研究表明, 中老年人体内组织蛋白酶K水平可通过影响骨密度来干预骨质疏松的发生和发展, 但组织蛋白酶家族与其他人群骨密度之间是否存在因果关系仍未知。

目的: 探讨组织蛋白酶与骨密度的因果关系。

方法: 从 IEU Open GWAS 数据库提取与 8 种组织蛋白酶相关的遗传位点作为工具变量, 以 5 个年龄段人群的骨密度作为结局。通过双向孟德尔随机化分析, 评估组织蛋白酶与骨密度的因果关系。使用 Cochran's Q 检验评估遗传工具变量的异质性, 使用 MR-Egger 截距检验评估多效性, 使用留一法评估作为工具变量的单核苷酸多态性对暴露和结局因果关系影响的敏感性。

结果与结论: ①正向孟德尔随机化的逆方差加权法结果显示, 组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群的骨密度呈负相关 [$OR(95\%CI)=0.965(0.94-0.99)$, $P=0.04$], 组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群的骨密度呈负相关 [$OR(95\%CI)=1.06(1.00-1.11)$, $P=0.03$]; ②敏感性分析结果显示因果关系稳定, MR-Egger 截距分析未检测到潜在的水平多效性; ③反向孟德尔随机化结果显示, 骨密度对组织蛋白酶无显著反向作用; ④上述结果证实, 组织蛋白酶对部分年龄段人群骨密度会造成影响, 可能会增加骨质疏松症的发病风险, 应给予更多关注。

关键词: 骨密度; 组织蛋白酶; 孟德尔随机化; 因果关联; 不同年龄段

Causal association between cathepsins and bone mineral density: two-way Mendelian randomization analyses

Jiang Nan¹, Fu Haonan¹, Hao Yuhan², Chen Zhilin², Zhu Zhiqing³, Xu Feng⁴, Yu Dong⁴

¹The Third Clinical School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; ²College of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; ³Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui Province, China; ⁴The Third Clinical Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Jiang Nan, Master candidate, The Third Clinical School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: Xu Feng, MD, Chief physician, Master's supervisor, The Third Clinical Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Co-corresponding author: Yu Dong, MD, Chief physician, Master's supervisor, The Third Clinical Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

北京中医药大学, ¹第三临床医学院, ²中医学院, 北京市 100029; ³安徽中医药大学, 安徽省合肥市 230031; ⁴北京中医药大学第三附属医院, 北京市 100029

第一作者: 姜楠, 女, 1998 年生, 安徽省阜阳市人, 汉族, 北京中医药大学在读硕士, 主要从事中医全科学方面的研究。

通讯作者: 徐峰, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 丹心计划博士生导师, 北京中医药大学第三附属医院综合科, 北京市 100029

共同通讯作者: 于栋, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 北京中医药大学第三附属医院脊柱科, 北京市 100029

<https://orcid.org/0009-0000-4161-4939> (姜楠)

基金资助: 北京市教育科学规划课题项目 (CDD21167), 课题名称: 以建立中医基层临床实践基地为导向开展中医临床本科教育全科方向的改革探索研究, 项目负责人: 徐峰

引用本文: 姜楠, 符浩楠, 郝宇涵, 陈祉霖, 朱芷晴, 徐峰, 于栋. 组织蛋白酶与骨密度的因果关系: 双向孟德尔随机化分析 [J].

中国组织工程研究, 2025, 29(12):2623-2630.



Abstract

BACKGROUND: Previous studies have indicated that cathepsin K can intervene with the occurrence and development of osteoporosis by regulating bone mineral density in middle-aged and older adults. However, whether there is a causal relationship between the cathepsin family and bone mineral density in other populations remains unknown.

OBJECTIVE: To investigate the causal relationship between cathepsin and bone mineral density.

METHODS: Genetic loci associated with eight cathepsins were extracted from the IEU Open GWAS database as instrumental variables, and bone mineral density values in five age groups acted as an outcome. The causal relationship between cathepsin and bone mineral density was assessed by two-way Mendelian randomization analysis. Heterogeneity of the genetic instrumental variables was assessed using Cochran's *Q* test, pleiotropy was assessed using the MR-Egger intercept test, and the sensitivity of single nucleotide polymorphisms used as instrumental variables to the causal effect of exposure and outcome was assessed using the leave-one-out method.

RESULTS AND CONCLUSION: The results of the inverse variance weighting method with positive Mendelian randomization showed that cathepsin H was negatively associated with bone mineral density in people aged 45–60 years [odds ratio (95% confidence interval)=0.965(0.94–0.99), *P*=0.04]; cathepsin Z was negatively associated with bone mineral density in people aged 30–45 year [odds ratio (95% confidence interval)=1.06 (1.00–1.11), *P*=0.03]. The results of sensitivity analysis showed a stable causal relationship, and MR-Egger intercept analysis did not detect potential horizontal pleiotropy. The inverse Mendelian randomization results showed that bone mineral density had no significant inverse effect on cathepsin. The above results confirm that cathepsin can affect bone mineral density in some age groups, which may increase the risk of osteoporosis and should be given more attention.

Key words: bone mineral density; cathepsin; Mendelian randomization; causal association; different age groups

Funding: Beijing Municipal Education Science Planning Project, No. CDDB21167 (to XF)

How to cite this article: JIANG N, FU HN, HAO YH, CHEN ZL, ZHU ZQ, XU F, YU D. Causal association between cathepsins and bone mineral density: two-way Mendelian randomization analyses. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2025;29(12):2623-2630.

0 引言 Introduction

骨密度表示单位体积骨骼中矿物质的含量,是衡量骨健康程度的重要生物学指标,在预测骨质疏松性骨折方面具有显著优势^[1-3]。生理状态下,骨密度在婴儿至青春期逐年增加,成年期达到峰值。中老年期内脏功能和激素水平下降,原有骨平衡机制被打破,导致骨密度下降,进而引发骨质疏松症^[4-6]。目前,中国骨质疏松症发病率急速增长,其严重并发症骨质疏松性骨折导致中老年群体残疾与早期死亡的风险明显升高,给社会和家庭带来沉重的负担^[7-8]。因此,探究影响骨密度的危险因素和内在机制,对于改善骨量、预防骨质疏松症及提高中老年群体生存质量具有重大意义。

组织蛋白酶是哺乳动物体内最重要的蛋白水解酶之一^[9],参与体内骨平衡机制、免疫反应和细胞外基质降解等过程^[10]。对绝经后女性骨转化生化标志物的研究发现,骨质疏松症女性体内组织蛋白酶K明显高于健康女性,并且股骨颈骨密度、腰椎骨密度、骨密度T值与组织蛋白酶K水平呈负相关^[11],在动物实验中同样观察到组织蛋白酶K水平与骨密度之间存在负相关性^[12]。抑制组织蛋白酶K水平可以减少破骨细胞介导的骨吸收,因此该酶成为治疗骨质疏松症的热门研究靶点^[13-14]。既往研究已表明组织蛋白酶K水平与中老年骨密度相关,但由于组织蛋白酶的种类繁多,二者之间

关系复杂多变,仍需要更多研究来明确这些酶在不同生命阶段的作用及影响。

随机对照试验被广泛认为是一种高质量研究工具,但其常受到多种临床限制不易开展^[15]。孟德尔随机化依托孟德尔定律,利用遗传变异作为工具变量,通过消除混杂因素的影响,有效降低因果关系估计值的偏倚、增强因果关联,从而达到模拟随机对照试验的目的^[16]。文章基于孟德尔随机化分析方法,对8种组织蛋白酶与5个年龄段人群的骨密度进行双向孟德尔随机化分析,以探索组织蛋白酶与骨密度之间潜在的因果关系,为临床诊疗与机制研究提供理论支持。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 设计 此次研究将骨密度作为结局变量,选取与不同组织蛋白酶(暴露因素)显著相关的单核苷酸多态性作为工具变量,进行双向孟德尔随机化。通过正向孟德尔随机化阐明组织蛋白酶与不同年龄段骨密度的潜在因果关系。然后使用反向孟德尔随机化进一步揭示组织蛋白酶与不同年龄段骨密度之间的具体因果关系^[17],见图1。

1.2 时间及地点 数据收集及分析于2023年11–12月在北京中医药大学完成。

1.3 资料

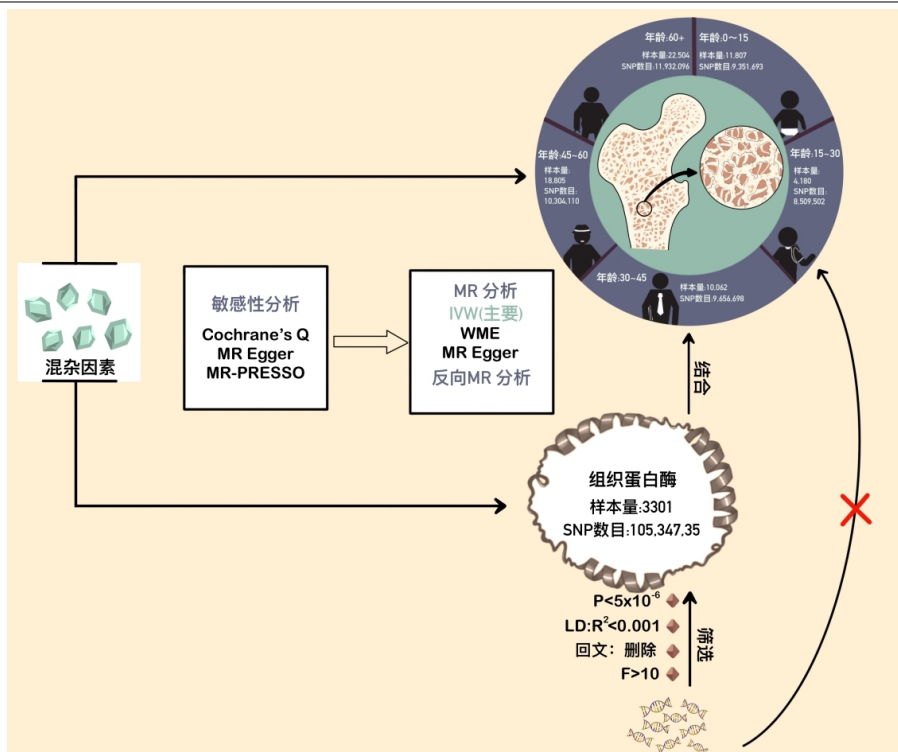
1.3.1 生物信息数据库及分析工具 英国生物样本库 IEU Open GWAS

(<https://gwas.mrcieu.ac.uk>), PhenoScanner 数据库 (<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk>)。分析工具使用 R 包 4.3.0 版本, Mendelian Randomization 0.7.0 软件包, TwoSample MR 0.5.6 软件包。

1.3.2 暴露及结局数据 组织蛋白酶的全基因组关联研究 (Genome-wide association study, GWAS) 数据来源于 IEU GWAS 数据库,包括组织蛋白酶B、组织蛋白酶E、组织蛋白酶F、组织蛋白酶G、组织蛋白酶H、组织蛋白酶S、组织蛋白酶L2和组织蛋白酶Z等8种组织蛋白酶。骨密度的GWAS数据同样来自 IEU GWAS 数据库,包括不同年龄段骨密度数据(0–15岁、>15岁且≤30岁、>30岁且≤45岁、>45岁且≤60岁和>60岁)。研究人群的遗传背景选择欧洲人种,以避免因人种差异造成相关混杂因素。此次研究使用数据均来自公开发表的数据库,其中已提供伦理批准与知情同意,不需要额外伦理审批。数据库具体信息见表1。

1.4 方法

1.4.1 工具变量 此次研究设计基于3个核心假设:①关联性假设:单核苷酸多态性必须与组织蛋白酶的活动密切相关;②独立性假设:单核苷酸多态性独立于混合变量,并且与其他影响“暴露–结果”的混合变量无关;③排他性假设:单核苷酸多态性只能通过组织蛋白酶影响骨密度,而不能通过其他途径^[18-19]。



图注：MR 为孟德尔随机化，SNP 为单核苷酸多态性。IVW 为逆方差加权法，WME 为加权中值法。
图 1 | 孟德尔随机化分析工作流程

表 1 | GWAS 数据汇总信息

暴露或结局	数据来源网址	GWAS 数据 ID 号	样本种族来源	单核苷酸多态性的个数	样本量	数据公布年份
组织蛋白酶 B	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-718	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 E	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-720	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 F	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-722	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 G	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-723	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 H	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-725	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 S	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-727	欧洲	10 534 735	3 301	2018
组织蛋白酶 L2	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-728	欧洲	10 534 735	3301	2018
组织蛋白酶 Z	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	prot-a-729	欧洲	10 534 735	3 301	2018
0-15 岁骨密度	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	ebi-a-GCST005345	欧洲	9 351 693	11 807	2018
> 15 岁且 ≤ 30 岁骨密度	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	ebi-a-GCST005344	欧洲	8 509 502	4 180	2018
> 30 岁且 ≤ 45 岁骨密度	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	ebi-a-GCST005346	欧洲	9 656 698	10 062	2018
> 45 岁且 ≤ 60 岁骨密度	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	ebi-a-GCST005350	欧洲	10 304 110	18 805	2018
> 60 岁骨密度	https://gwas.mrcieu.ac.uk/datasets/	ebi-a-GCST005349	欧洲	11 932 096	22 504	2018

该研究将单核苷酸多态性在全基因组意义阈值 ($P < 5 \times 10^{-6}$) 和连锁不平衡 ($r^2 < 0.001$, 10 000 kb) 作为潜在工具，确保所选单核苷酸多态性之间的独立性和关联性。在研究范围内搜索了 PhenoScanner 数据库，以确定所选单核苷酸多态性是否与潜在混杂因素有关。为减少弱工具变量偏差，单独计算每个单核苷酸多态性的 F 统计量，然后剔除 F 统计量 < 10 的弱工具^[20]。 F 统计量的计算公式： $F = [R^2 \times (N-1-K)] / [K \times (1-R^2)]$ ^[21-23]，其中， N 表示 GWAS

研究的暴露样本数量， K 为单核苷酸多态性数量， R^2 表示每个工具变量单独解释的暴露方差， R 可通过 $2 \times \text{EAF} \times (1-\text{EAF}) \times \beta^2$ 得出， EAF 是突变的基因频率^[24]， β 是等位基因的效应值^[25]。
1.4.2 双向孟德尔随机化分析 此次研究采用逆方差加权法作为主要的统计分析工具^[26-28]，因为其能够在水平多态性不存在的情况下，通过使用元分析方法结合单核苷酸多态性因果效应的估计值获得稳定和准确的结果^[29-32]。为了提高主分析的准确性，

采用了 MR-Egger、MR-Egger 回归和加权中值法作为辅助工具，其中加权中值法提供了准确可靠的效应估计^[33-34]。

不同类型组织蛋白酶与不同年龄段骨密度之间的关系以优势比 (OR) 及其 95%CI 表示。以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。随后将各年龄阶段骨密度作为暴露，各组织蛋白酶作为结局，进行反向孟德尔随机化，以求进一步探明二者间的因果关系。

1.4.3 敏感性分析 为了确保结果的准确性，进行了一系列的敏感性分析^[35-36]。此次研究中，孟德尔随机化的异质性通过 Cochrane 的 Q 统计量和 P 值来评估。 $P < 0.05$ 定义为存在显著异质性。一旦确定有异质性 ($P < 0.05$)，将使用随机效应逆方差加权法模型来获得更谨慎的估计。相反，如果没有检测到异质性，将采用固定效应逆方差加权法 (模型)。水平多效性意味着工具变量可以通过暴露以外的其他途径影响结局，这将违反排他性假设。利用 MR-Egger 截取方法检测和评估多个单核苷酸多态性的潜在水平多效性。此外，还进行了孟德尔随机化多效性残差和异常值 (Mendelian Randomization Pleiotropy RESidual Sum and Outlier, MR-PRESSO) 检验，通过去除潜在的异常值来检测和纠正水平多效性。MR-PRESSO 分析中的分布数量被设置为 1 000。最后进行了留一法敏感性分析，以确定在孟德尔随机化中的因果关系是否受到单个单核苷酸多态性的影响。如果消除一个单核苷酸多态性后结果发生显著变化，则该单核苷酸多态性被视为异常值并从分析中删除。

1.5 主要观察指标 ① 8 种组织蛋白酶与不同年龄段骨密度之间的因果关系；②敏感性分析结果。

2 结果 Results

2.1 正向孟德尔随机化结果

2.1.1 组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度的因果关系 逆方差加权法分析结果显示， $OR(95\% CI) = 0.97(0.94-1.00)$ ， $P=0.04$ ；MR-Egger 分析结果显示， $OR(95\% CI) = 0.99(0.95-1.03)$ ， $P=0.59$ ；加权中值法分析结果显示， $OR(95\% CI) = 0.99(0.95-1.03)$ ， $P=0.11$ 。3 种分析方法因果效应方向一

致 (OR 值均 < 1)，散点图显示回归线无明显偏移 (图 2A)，故提示组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度有反向因果关系，组织蛋白酶 H 是 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度的保护因素。具体数据细节见表 2。

2.1.2 组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度的因果关系 逆方差加权法分析结果显示， $OR(95\% CI)=1.06(1.00-1.11)$ ， $P=0.03$ ；MR-Egger 分析结果显示， $OR(95\% CI)=1.07(0.99-1.16)$ ， $P=0.45$ ；加权中值法分析结果显示， $OR(95\% CI)=1.06(0.99-1.13)$ ， $P=0.25$ 。3 种分析方法因果效应方向一致 (OR 值均 > 1)，散点图显示回归线无明显偏移 (图 2B)，故提示组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度有正向因果关系，组织蛋白酶 Z 是 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度的危险因素。具体数据细节见表 2。

2.2 正向孟德尔随机化结果敏感性分析 研究结果的 MR-Egger 回归截距均接近于 0，未检测到潜在的水平多效性， P 均 > 0.05 (组织蛋白酶 H： $P=0.219$ ；组织蛋白酶 Z： $P=0.617$)，即说明所选工具变量并不通过暴露以外的途径影响结局，符合排他性假设。Cochran's Q 检验结果表明，组织蛋白酶与不同年龄阶段骨密度结果存在潜在的异质性。MR-PRESSO 多效性测试显示无离群单核苷酸多态性，见表 3。选取的工具变量与不同年龄段骨密度的因果关系不会受到水平多效性的影响，结果较可靠。留一法结果表明消除任何一个单核苷酸多态性都不会显著影响因果相关的估计，提示孟德尔随机化分析结果稳健，见图 3。漏斗图中呈现的因果效应分布具有基本对称性，未见明显偏倚，见图 4。

2.3 反向孟德尔随机化分析结果 反向孟德尔随机化分析结果表明，8 种组织蛋白酶不同年龄段人群骨密度之间均不存在显著的反向因果关系 (图 5)，即各年龄段人群骨密度均不会对人体内 8 种组织蛋白酶产生影响。

3 讨论 Discussion

此次研究采用双向孟德尔随机化分析方法，以遗传变异作为工具变量，有效避免传统流行病学研究的混杂偏倚，结果表明组织蛋白酶 H 与 > 45 岁

表 2 | 组织蛋白酶与各年龄段骨密度的孟德尔随机化分析结果

组织蛋白酶类型	逆方差加权法		MR-Egger		加权中值法	
	OR 值 (95%CI)	P 值	OR 值 (95%CI)	P 值	OR 值 (95%CI)	P 值
组织蛋白酶 B						
0-15 岁	0.97(0.92-1.02)	0.20	1.06(0.95-1.18)	0.30	0.97(0.91-1.03)	0.34
> 15 岁且 ≤ 30 岁	1.00(0.92-1.09)	0.97	1.02(0.85-1.23)	0.82	1.00(0.90-1.13)	0.86
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.01(0.96-1.06)	0.73	1.00(0.88-1.12)	0.95	1.00(0.92-1.07)	0.90
> 45 岁且 ≤ 60 岁	0.97(0.93-1.01)	0.13	0.91(0.83-1.00)	0.06	0.95(0.90-0.99)	0.03
> 60 岁	0.98(0.93-1.03)	0.42	0.92(0.82-1.02)	0.14	0.92(0.88-0.97)	0.00
组织蛋白酶 E						
0-15 岁	1.02(0.96-1.10)	0.55	1.07(0.92-1.25)	0.41	1.00(0.92-1.09)	0.95
> 15 岁且 ≤ 30 岁	1.01(0.89-1.15)	0.84	0.83(0.61-1.13)	0.27	1.00(0.84-1.10)	0.98
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.00(0.92-1.08)	1.00	1.09(0.91-1.30)	0.36	1.00(0.91-1.11)	0.92
> 45 岁且 ≤ 60 岁	1.00(0.93-1.08)	0.99	0.85(0.74-0.9)	0.03	1.01(0.93-1.10)	0.71
> 60 岁	1.03(0.98-1.09)	0.28	0.99(0.88-1.12)	0.89	1.00(0.93-1.07)	0.94
组织蛋白酶 F						
0-15 岁	1.01(0.96-1.07)	0.70	1.08(0.93-1.25)	0.32	1.05(0.98-1.13)	0.15
> 15 岁且 ≤ 30 岁	0.95(0.86-1.04)	0.26	1.00(0.75-1.32)	0.99	0.97(0.86-1.11)	0.68
> 30 岁且 ≤ 45 岁	0.98(0.91-1.00)	0.55	0.99(0.81-1.20)	0.91	0.99(0.90-1.01)	0.78
> 45 岁且 ≤ 60 岁	0.97(0.91-1.03)	0.26	1.04(0.88-1.21)	0.69	0.98(0.92-1.05)	0.66
> 60 岁	0.97(0.93-1.02)	0.21	1.01(0.89-1.15)	0.88	1.00(0.94-1.05)	0.94
组织蛋白酶 G						
0-15 岁	1.01(0.94-1.09)	0.73	1.01(0.85-1.22)	0.88	0.99(0.90-1.10)	0.87
> 15 岁且 ≤ 30 岁	1.07(0.94-1.22)	0.28	1.08(0.80-1.45)	0.63	1.04(0.88-1.24)	0.61
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.08(0.99-1.18)	0.08	0.99(0.81-1.21)	0.94	1.09(0.97-1.22)	0.16
> 45 岁且 ≤ 60 岁	1.03(0.98-1.10)	0.25	1.01(0.89-1.15)	0.87	1.05(0.97-1.13)	0.25
> 60 岁	1.02(0.97-1.08)	0.41	1.05(0.92-1.20)	0.45	1.02(0.95-1.10)	0.52
组织蛋白酶 H						
0-15 岁	0.98(0.94-1.03)	0.43	0.96(0.90-1.02)	0.25	0.98(0.93-1.02)	0.35
> 15 岁且 ≤ 30 岁	1.00(0.94-1.06)	0.93	1.02(0.93-1.10)	0.71	1.01(0.94-1.08)	0.78
> 30 岁且 ≤ 45 岁	0.99(0.95-1.03)	0.70	1.03(0.98-1.09)	0.24	1.01(0.97-1.05)	0.62
> 45 岁且 ≤ 60 岁	0.97(0.94-1.00)	0.04	0.99(0.95-1.03)	0.59	0.99(0.95-1.03)	0.11
> 60 岁	1.02(0.96-1.05)	0.92	1.03(0.97-1.10)	0.35	1.01(0.99-1.04)	0.30
组织蛋白酶 S						
0-15 岁	0.97(0.93-1.00)	0.09	0.98(0.92-1.05)	0.57	0.98(0.92-1.03)	0.39
> 15 岁且 ≤ 30 岁	1.00(0.93-1.08)	0.95	0.94(0.84-1.06)	0.35	1.01(0.91-1.11)	0.88
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.00(0.96-1.04)	0.97	0.98(0.91-1.05)	0.53	1.01(0.95-1.07)	0.77
> 45 岁且 ≤ 60 岁	1.00(0.96-1.03)	0.86	0.99(0.93-1.05)	0.68	0.99(0.95-1.03)	0.55
> 60 岁	1.00(0.97-1.02)	0.84	0.97(0.92-1.02)	0.25	0.98(0.94-1.02)	0.38
组织蛋白酶 L2						
0-15 岁	1.05(0.97-1.13)	0.23	1.19(1.00-1.41)	0.08	1.03(0.93-1.14)	0.58
> 15 岁且 ≤ 30 岁	0.99(0.84-1.17)	0.88	1.21(0.83-1.77)	0.35	0.95(0.79-1.15)	0.62
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.01(0.93-1.09)	0.85	0.92(0.76-1.11)	0.39	0.98(0.88-1.09)	0.70
> 45 岁且 ≤ 60 岁	0.94(0.93-1.05)	0.74	0.96(0.84-1.10)	0.57	1.02(0.94-1.10)	0.63
> 60 岁	0.99(0.93-1.05)	0.69	0.93(0.80-1.09)	0.39	0.98(0.91-1.06)	0.64
组织蛋白酶 Z						
0-15 岁	1.04(0.99-1.08)	0.12	1.03(0.97-1.11)	0.36	1.05(1.00-1.10)	0.06
> 15 岁且 ≤ 30 岁	0.96(0.89-1.04)	0.31	0.89(0.80-1.00)	0.08	0.96(0.86-1.07)	0.44
> 30 岁且 ≤ 45 岁	1.06(1.00-1.11)	0.03	1.07(1.00-1.16)	0.45	1.06(1.00-1.13)	0.25
> 45 岁且 ≤ 60 岁	1.00(0.96-1.05)	0.88	0.95(0.90-1.01)	0.12	0.99(0.94-1.03)	0.55
> 60 岁	1.01(0.98-1.04)	0.49	1.02(0.97-1.07)	0.56	1.01(0.97-1.05)	0.65

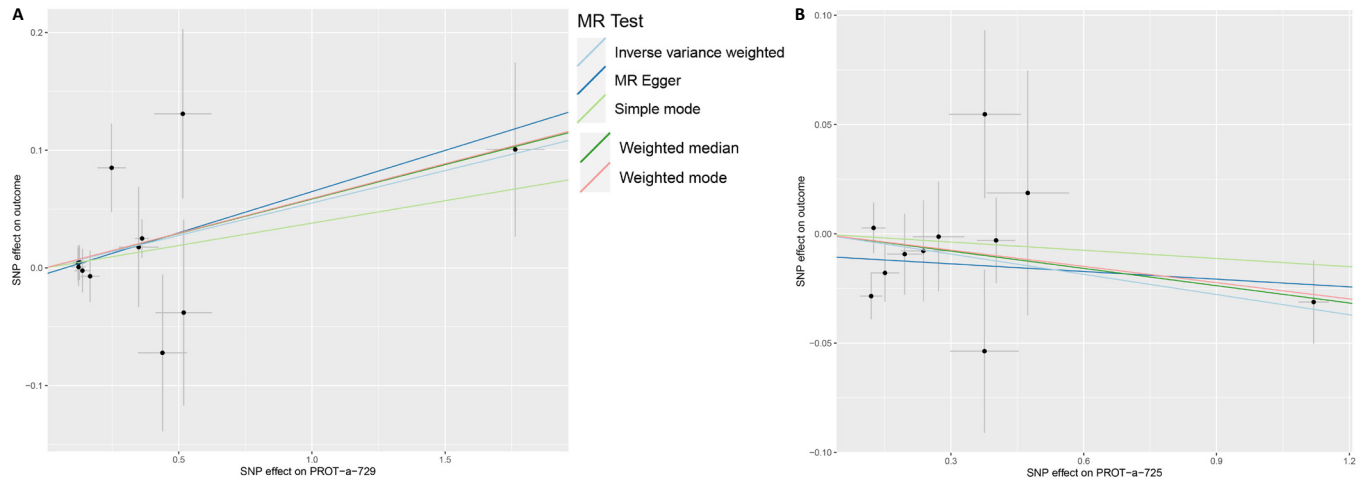
表 3 | 组织蛋白酶对骨密度的多效性和异质性检验

结局	暴露	水平多效性检验		异质性检验	
		MR-Egger 回归 P 值	MR-Egger Q 检验 P 值	逆方差加权法 Q 检验 P 值	
> 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度	组织蛋白酶 H	0.219	0.361	0.300	
> 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度	组织蛋白酶 Z	0.617	0.505	0.571	

且 ≤ 60 岁人群骨密度有反向因果关系，组织蛋白酶 H 是 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度的保护因素；组织蛋白酶 Z 与 $30-45$ 岁人群骨密度有正向因果关系，组织蛋白酶 Z 是 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度的危险因素。反向孟

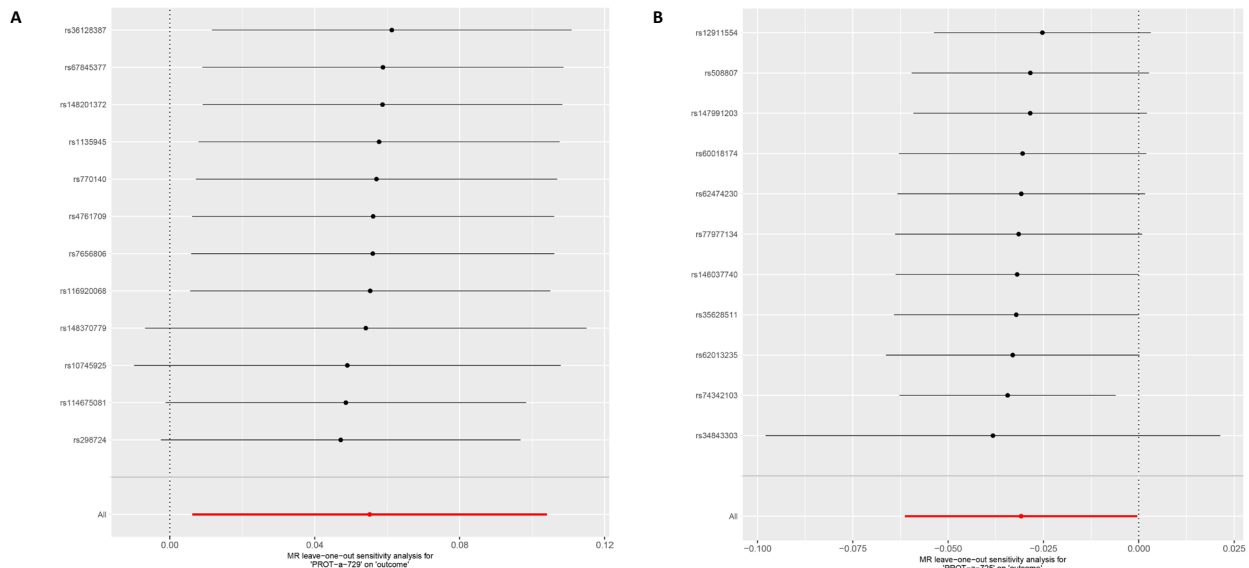
德尔随机化分析显示，各年龄段骨密度与各组织蛋白酶均无因果关联。

骨密度受到年龄、性别、激素和药物等诸多因素影响^[37-39]。骨平衡机制是调控骨密度发生病理和生理变化的关键，成年前期，骨骼不断构建、



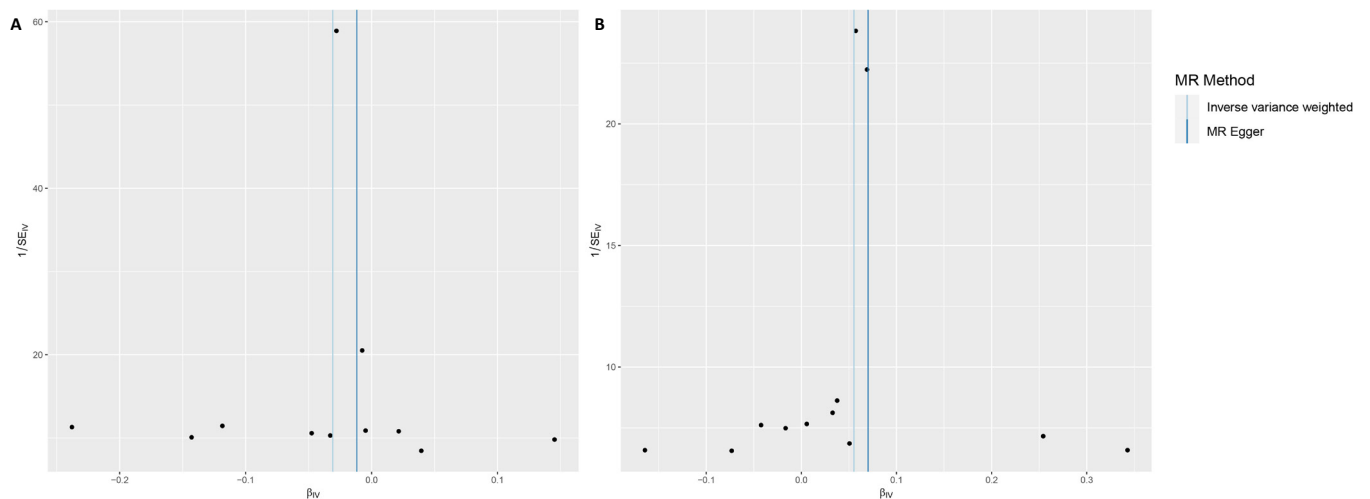
图注：图 A 是组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度因果关联的孟德尔随机化效应量散点图，散点图显示回归线无明显偏移；B 是组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度因果关联的孟德尔随机化效应量散点图，散点图显示回归线无明显偏移。

图 2 | 组织蛋白酶与骨密度因果关联的孟德尔随机化效应量散点图



图注：图 A 是组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度因果关联的孟德尔随机化留一法敏感性分析结果；B 是组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度因果关联的孟德尔随机化留一法敏感性分析结果。

图 3 | 组织蛋白酶与骨密度因果关联的孟德尔随机化留一法敏感性分析结果



图注：图 A 是组织蛋白酶 H 与 > 45 岁且 ≤ 60 岁人群骨密度因果关系的漏斗图，因果效应分布基本对称；B 是组织蛋白酶 Z 与 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群骨密度因果关系的漏斗图，因果效应分布基本对称。

图 4 | 组织蛋白酶与骨密度因果关系的漏斗图

exposure	outcome	nsnp	method	pval	OR(95% CI)
BMD(age 0-15)	CTSB	132	IVW	0.696	0.987 (0.927 to 1.052)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.580	0.989 (0.949 to 1.029)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.093	0.951 (0.896 to 1.008)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.852	1.007 (0.933 to 1.087)
BMD(age over 60)	CTSE	175	IVW	0.242	0.960 (0.896 to 1.028)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.737	1.011 (0.949 to 1.077)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.083	0.965 (0.927 to 1.005)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.531	0.982 (0.928 to 1.040)
BMD(age 45-60)	CTSZ	151	IVW	0.112	0.944 (0.880 to 1.013)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.272	1.037 (0.972 to 1.107)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.633	0.984 (0.921 to 1.052)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.448	0.984 (0.944 to 1.026)
BMD(age 30-45)	CTSL2	137	IVW	0.709	0.989 (0.933 to 1.048)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.695	1.014 (0.945 to 1.088)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.592	1.018 (0.955 to 1.084)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.445	0.974 (0.911 to 1.042)
BMD(age 15-30)	CTSH	99	IVW	0.447	0.982 (0.936 to 1.029)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.226	0.965 (0.912 to 1.022)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.490	1.025 (0.955 to 1.100)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.436	0.973 (0.908 to 1.043)
BMD(age 0-15)	CTSS	132	IVW	0.085	0.944 (0.884 to 1.008)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.122	0.965 (0.922 to 1.010)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.311	0.971 (0.917 to 1.028)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.650	0.983 (0.914 to 1.058)
BMD(age over 60)	CTSG	175	IVW	0.107	0.944 (0.880 to 1.013)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.245	0.962 (0.901 to 1.027)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.861	1.004 (0.963 to 1.046)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.202	0.962 (0.907 to 1.021)
BMD(age 45-60)	CTSF	151	IVW	0.259	0.955 (0.882 to 1.034)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.404	1.028 (0.963 to 1.098)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.857	0.994 (0.931 to 1.062)
BMD(age 15-30)		99	IVW	0.550	1.012 (0.972 to 1.054)
BMD(age 30-45)	CTSH	137	IVW	0.460	1.022 (0.965 to 1.082)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.082	0.939 (0.874 to 1.008)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.797	0.991 (0.929 to 1.058)
BMD(age 0-15)		132	IVW	0.358	0.971 (0.911 to 1.034)
BMD(age 15-30)	CTSF	99	IVW	0.103	0.964 (0.923 to 1.007)
BMD(age 30-45)		137	IVW	0.197	0.963 (0.910 to 1.020)
BMD(age 45-60)		151	IVW	0.716	0.987 (0.920 to 1.059)
BMD(age over 60)		175	IVW	0.575	1.018 (0.956 to 1.085)

图注：CTS为组织蛋白酶，BMD为骨密度，IVW为逆方差加权法。反向孟德尔随机化分析结果表明，8种组织蛋白酶不同年龄段人群骨密度之间均不存在显著的反向因果关系。

图5 | 各年龄段骨密度对组织蛋白酶的孟德尔随机化分析方法森林图

塑形和重建，骨形成和骨吸收的正平衡使骨量增加并达到骨峰值；成年期，骨重建平衡，维持骨量，此后随年龄增加，骨形成与骨吸收呈负平衡，骨重建失衡，造成骨丢失^[40]。骨吸收主要包括骨无机质的脱钙化和骨有机质的降解，3种主要蛋白酶——半胱氨酸蛋白酶、基质金属蛋白酶和中性粒细胞弹性蛋白酶参与其中，其中半胱氨酸蛋白酶起主导作用^[41]。约90%的骨有机质由不溶性I型胶原纤维构成，在没有其他蛋白酶的条件下，半胱氨酸蛋白酶可以独立且完全降解皮质骨中的I型胶原纤维，导致骨密度

变化^[42]。此外，STRÅLBERG等^[43]研究发现，一种名为胱抑素C的半胱氨酸蛋白酶抑制剂能有效抑制肿瘤坏死因子的表达，同时拮抗脂多糖诱导的破骨细胞生成。已有文献报道，半胱氨酸蛋白酶家族中的组织蛋白酶K、组织蛋白酶L2、组织蛋白酶G等与破骨细胞重塑有关^[44-46]。以上研究结果均提示半胱氨酸蛋白酶在骨骼代谢中起到关键作用，有望成为骨密度降低及骨质疏松症诊疗的新型生物标志物。

既往研究表明，组织蛋白酶Z作为一种半胱氨酸蛋白酶参与细胞内蛋

白质的修饰过程，并可显著影响骨质疏松症和骨折的发病率。组织蛋白酶Z在免疫系统细胞中高度表达，尤其是T淋巴细胞和单核细胞中^[47-48]，单核细胞是破骨细胞的前体^[49]，可产生组织蛋白酶K，而组织蛋白酶K已被证明是骨质吸收所必需的^[50]。有研究报道人类成骨细胞也会分泌组织蛋白酶Z^[51]，因此，确认组织蛋白酶Z在破骨细胞和成骨细胞中均可产生。LIU等^[52]针对接受芳香化酶抑制剂治疗的乳腺癌患者全基因组关联研究显示，在20号染色体上包含组织蛋白酶Z基因的3个基因簇中存在单核苷酸多态性，该多态性与脆性骨折的发病有关；该研究进一步使用成骨细胞培养模型证实了雌激素受体对细胞中组织蛋白酶Z基因表达具有依赖性，发现敲除组织蛋白酶Z基因可降低乳腺癌患者骨质疏松症及骨折的发病率。DERA等^[53]对88例样本研究发现，骨质减少组和骨质疏松症组患者外周血单核细胞中组织蛋白酶Z mRNA水平明显高于正常组，并且该结果不受年龄、骨质疏松症治疗和其他基础疾病的影响；进一步探究发现组织蛋白酶Z mRNA水平与骨密度呈显著负相关，与骨质疏松性骨折呈正相关；受试者工作特征曲线分析显示，组织蛋白酶Z mRNA对骨质疏松症和骨质疏松性骨折诊断的准确性较高。此次研究结果首次表明，组织蛋白酶Z可能未来骨质疏松症（包括50岁以上女性骨质疏松症患者）的诊断生物标志物。这些研究提示了组织蛋白酶Z影响骨密度的复杂性，但目前临床研究和实验室研究相对较少，需要更深入的研究来阐明其中的潜在机制。

随着老龄化人口的快速增长，生化指标检测和骨质疏松症筛查因简便快捷日益受到大众的推崇。而目前生化指标对骨质疏松症早期临床诊断敏感性较低，急需新的潜在生物标志物来预测骨质流失的发生。此次研究通过双向孟德尔随机化分析了8种组织蛋白酶与5个年龄段骨密度之间的关联，与观察性研究相比，孟德尔随机化研究避免了反向因果关系和混杂因素，节省了时间和资源。此外，此次研究未观察到任何潜在的水平多效性，进一步证实了结论的可靠性。组

织蛋白酶 Z 的高含量可能会增加 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群患骨质疏松症和骨折的风险, 该结论为组织蛋白酶 Z 成为预测和筛查骨质疏松症的新型生物学指标提供了依据, 有望成为有效治疗骨质疏松症的新途径。

该研究仍存在不足之处: 首先, 选用人均为欧洲人口, 一定程度上未避开结论对于其他种群的适用性; 其次, 与既往发表的孟德尔随机化研究相同, 即使采取了识别和消除异常变异的措施, 仍无法排除因未观察的多效性变异而影响结果的风险; 最后, 此次研究中仅在 > 30 岁且 ≤ 45 岁人群中观察到组织蛋白酶 Z 在基因水平上的关联, 而在 45 岁以上的人群中没有发现关联, 这与众多已发表的观察性研究不符。未来仍需要进行大样本、多中心的孟德尔随机化和随机对照试验以验证结果, 以为骨质疏松症防治提供新的视角。

致谢: 感谢北京中医药大学提供电子数据来源平台。

作者贡献: 此次研究由通讯作者设计, 第一、二作者实施, 所有作者共同完成论文撰写。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] BUCK DW 2ND, DUMANIAN GA. Bone biology and physiology: Part I. The fundamentals. *Plast Reconstr Surg.* 2012; 129(6):1314-1320.
- [2] CHILIBECK PD, SALE DG, WEBBER CE. Exercise and bone mineral density. *Sports Med.* 1995;19(2):103-122.
- [3] CHEN M, GERGES M, RAYNOR WY, et al. State of the Art Imaging of Osteoporosis. *Semin Nucl Med.* 2024;54(3):415-426.
- [4] LIU K, LIU P, LIU R, et al. Relationship between serum leptin levels and bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2015;444: 260-263.
- [5] LEE S, KIM JH, JEON YK, et al. Effect of adipokine and ghrelin levels on BMD and fracture risk: an updated systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1044039.
- [6] HARTLEY A, SANDERSON E, GRANELL R, et al. Using multivariable Mendelian randomization to estimate the causal effect of bone mineral density on osteoarthritis risk, independently of body mass index. *Int J Epidemiol.* 2022;51(4):1254-1267.
- [7] GIELEN E, DUPONT J, DEJAEGER M, et al. Sarcopenia, osteoporosis and frailty. *Metabolism.* 2023;145:155638.
- [8] LASKOU F, FUGGLE NR, PATEL HP, et al. Associations of osteoporosis and sarcopenia with frailty and multimorbidity among participants of the Hertfordshire Cohort Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2022; 13(1):220-229.
- [9] 李明嘉, 赵苗妙, 杨金奎. 组织蛋白酶在糖尿病及糖尿病肾病作用机制中的研究进展 [J]. 首都医科大学学报, 2023,44(3): 413-419.
- [10] YADATI T, HOUBEN T, BITORINA A, et al. The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. *Cells.* 2020;9(7):1679.
- [11] 董飞, 王玲. 绝经后女性骨转换生化标志物水平与骨密度的相关性分析 [J]. 检验医学与临床, 2021,18(9):1323-1325.
- [12] LEE GH, HOANG TH, LEE HY, et al. Ramie leaf Extract Alleviates Bone Loss in Ovariectomized Rats-The Involvement of ROS and Its Associated Signalings. *Nutrients.* 2023;15(3):745.
- [13] LU J, WANG M, WANG Z, et al. Advances in the discovery of cathepsin K inhibitors on bone resorption. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2018;33(11):890-904.
- [14] GAO LH, LI SS, YUE H, et al. Associations of Serum Cathepsin K and Polymorphisms in CTSK Gene With Bone Mineral Density and Bone Metabolism Markers in Postmenopausal Chinese Women. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:48.
- [15] CLAYTON GL, GONÇALVES A, SOARES, et al. A framework for assessing selection and misclassification bias in mendelian randomisation studies: an illustrative example between body mass index and covid-19. *BMJ.* 2023;381:e072148.
- [16] NAZARZADEH M, PINHO-GOMES AC, BIDEL Z, et al. Plasma lipids and risk of aortic valve stenosis: a Mendelian randomization study. *Eur Heart J.* 2020;41(40):3913-3920.
- [17] BURGESS S, SCOTT RA, TIMPSON NJ, et al. EPIC- InterAct Consortium. Using published data in Mendelian randomization: a blueprint for efficient identification of causal risk factors. *Eur J Epidemiol.* 2015; 30(7):543-552.
- [18] BURGESS S, DAVEY SMITH G, DAVIES NM, et al. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations: update for summer 2023. *Wellcome Open Res.* 2023;4:186.
- [19] SKRIVANKOVA VW, RICHMOND RC, WOOLF BAR, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization: The STROBE-MR Statement. *JAMA.* 2021;326(16):1614-1621.
- [20] BURGESS S, THOMPSON SG. Bias in causal estimates from Mendelian randomization studies with weak instruments. *Stat Med.* 2011;30(11):1312-1323.
- [21] 黄国鑫, 陈霞丽, 裴斌. 孟德尔随机化探索骨密度与膝关节骨性关节炎的因果关联 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2023,29(4): 512-517.
- [22] CODD V, NELSON CP, ALBRECHT E, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet.* 2013;45(4): 422-427.
- [23] LI W, LU Q, QIAN J, et al. Assessing the causal relationship between genetically determined inflammatory biomarkers and low back pain risk: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1174656.
- [24] LEVIN MG, JUDY R, GILL D, et al. Genetics of height and risk of atrial fibrillation: A Mendelian randomization study. *PLoS Med.* 2020;17(10):e1003288.
- [25] CODD V, NELSON CP, ALBRECHT E, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet.* 2013;45(4): 422-427e4272.

- [26] ZHAO J, WANG J, XU H, et al. Intervertebral Disk Degeneration and Bone Mineral Density: A Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Calcif Tissue Int.* 2024;114(3):228-236.
- [27] YUAN S, MIAO Y, RUAN X, et al. Therapeutic role of interleukin-1 receptor antagonist in pancreatic diseases: mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1240754.
- [28] HAN Y, ZHANG Y, ZENG X. Assessment of causal associations between uric acid and 25-hydroxyvitamin D levels. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1024675.
- [29] BURGESS S, DUDBRIDGE F, THOMPSON SG. Combining information on multiple instrumental variables in Mendelian randomization: comparison of allele score and summarized data methods. *Stat Med.* 2016;35(11):1880-906.
- [30] BURGESS S, BUTTERWORTH A, THOMPSON SG. Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data. *Genet Epidemiol.* 2013;37(7):658-665.
- [31] LI W, LU Q, QIAN J, et al. Assessing the causal relationship between genetically determined inflammatory biomarkers and low back pain risk: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1174656.
- [32] YUAN S, MIAO Y, RUAN X, et al. Therapeutic role of interleukin-1 receptor antagonist in pancreatic diseases: mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1240754.
- [33] LU Y, WANG Z, ZHENG L. Association of smoking with coronary artery disease and myocardial infarction: A Mendelian randomization study. *Eur J Prev Cardiol.* 2021;28(12):e11-e12.
- [34] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK PC, et al. Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator. *Genet Epidemiol.* 2016;40(4):304-314.
- [35] BOWDEN J, DEL GRECO MF, MINELLI C, et al. Assessing the suitability of summary data for two-sample Mendelian randomization analyses using MR-Egger regression: the role of the I² statistic. *Int J Epidemiol.* 2016;45(6):1961-1974.
- [36] BOWDEN J, DEL GRECO MF, MINELLI C, et al. Improving the accuracy of two-sample summary-data Mendelian randomization: moving beyond the NOME assumption. *Int J Epidemiol.* 2019;48(3):728-742.
- [37] MATSUZAKI M, PANT R, KULKARNI B, et al. Comparison of Bone Mineral Density between Urban and Rural Areas: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132239.
- [38] YUAN J, JIA P, ZHOU JB. Comparison of Bone Mineral Density in US Adults With Diabetes, Prediabetes and Normoglycemia From 2005 to 2018. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:890053.
- [39] PLUSKIEWICZ W, ADAMCZYK P, DROZDZOWSKA B. Glucocorticoids Increase Fracture Risk and Fracture Prevalence Independently from Bone Mineral Density and Clinical Risk Factors: Results from the Gliwice Osteoporosis (GO) Study. *Horm Metab Res.* 2022;54(1):20-24.
- [40] BLAIR HC, KAHN AJ, CROUCH EC, et al. Isolated osteoclasts resorb the organic and inorganic components of bone. *J Cell Biol.* 1986;102(4):1164-1172.
- [41] BILLINGTON EO, MAHAJAN A, BENHAM JL, et al. Effects of probiotics on bone mineral density and bone turnover: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023;63(19):4141-4152.
- [42] SHOREY S, HEERSCHJE JN, MANOLSON MF. The relative contribution of cysteine proteinases and matrix metalloproteinases to the resorption process in osteoclasts derived from long bone and scapula. *Bone.* 2004;35(4):909-917.
- [43] STRÅLBERG F, KASSEM A, KASPRZYKOWSKI F, et al. Inhibition of lipopolysaccharide-induced osteoclast formation and bone resorption in vitro and in vivo by cysteine proteinase inhibitors. *J Leukoc Biol.* 2017;101(5):1233-1243.
- [44] HOLZER G, NOSKE H, LANG T, et al. Soluble cathepsin K: a novel marker for the prediction of nontraumatic fractures? *J Lab Clin Med.* 2005;146(1):13-17.
- [45] LANG TH, WILLINGER U, HOLZER G. Soluble cathepsin-L: a marker of bone resorption and bone density? *J Lab Clin Med.* 2004;144(3):163-166.
- [46] WILSON TJ, NANNURU KC, SINGH RK. Cathepsin G-mediated activation of pro-matrix metalloproteinase 9 at the tumor-bone interface promotes transforming growth factor-beta signaling and bone destruction. *Mol Cancer Res.* 2009;7(8):1224-1233.
- [47] JEVNIKAR Z, OBERMAJER N, BOGYO M, et al. The role of cathepsin X in the migration and invasiveness of T lymphocytes. *J Cell Sci.* 2008;121(Pt 16):2652-2661.
- [48] CAI X, GAO C, SONG H, et al. Characterization, expression profiling and functional characterization of cathepsin Z (CTS2) in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 2019;84:599-608.
- [49] UDAGAWA N, TAKAHASHI N, AKATSU T, et al. Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(18):7260-7264.
- [50] TROEN BR. The role of cathepsin K in normal bone resorption. *Drug News Perspect.* 2004;17(1):19-28.
- [51] STAUDT ND, AICHER WK, KALBACHER H, et al. Cathepsin X is secreted by human osteoblasts, digests CXCL-12 and impairs adhesion of hematopoietic stem and progenitor cells to osteoblasts. *Haematologica.* 2010;95(9):1452-1460.
- [52] LIU M, GOSS PE, INGLE JN, et al. Aromatase inhibitor-associated bone fractures: a case-cohort GWAS and functional genomics. *Mol Endocrinol.* 2014;28(10):1740-1751.
- [53] DERA AA, RANGANATH L, BARRACLOUGH R, et al. Cathepsin Z as a novel potential biomarker for osteoporosis. *Sci Rep.* 2019;9(1):9752.

(责任编辑: GW, ZN, WL, ZLJ)