

雌激素受体基因 Pvu II 多态性对筛选绝经后骨质疏松危险因素的作用

葛继荣 王和鸣 朱小香 陈可

摘要:目的 通过雌激素受体基因 Pvu II 基因分型,筛选绝经后骨质疏松的危险因素。方法 检测 759 例绝经后骨质疏松症者腰椎、股骨上段的骨密度和 198 例雌激素受体基因 Pvu II 基因型,分析不同基因型的年龄、体重指数等因素与骨密度的相关性。结果 在 PP 型,低体重是股骨颈、大转子骨密度的危险因素;在 pp 型,高龄是大转子、Ward's 区骨密度的危险因素;在 Pp 型,高龄是腰椎、股骨颈、Ward's 骨密度的危险因素,低体重是股骨颈、大转子骨密度的危险因素。结论 通过雌激素受体基因 Pvu II 多态性筛选危险因素对临床防治绝经后骨质疏松有重要的指导价值。

关键词: 雌激素受体基因 Pvu II 多态性;骨密度;年龄;体重指数;骨质疏松

Effect of Pvu II polymorphisms of estrogen receptor gene on filtering risk factors in postmenopausal osteoporosis GE Jirong ,WANG Heming ,ZHU Xiaoxiang ,et al . Fujian Institute of TCM ,Fuzhou 350003 ,China

Abstract :**Objective** Through detecting Pvu II polymorphisms of estrogen receptor gene ,risk factors of lower bone mineral density were filtered in postmenopausal osteoporosis .**Methods** By measuring 759 postmenopausal osteoporosis' bone mineral density (BMD) of lumbar and upper femur and detecting Pvu II genotypes of estrogen receptor in 198 cases ,the relationships between BMD and age ,body mass index (BMI) or other factors were analyzed .**Results** In PP genotype patients ,lower body weight was the risk factor for low BMD in neck and trochanter . While in pp genotype cases ,older patients had low BMD in trochanter and Ward's region . In Pp genotype cases ,older people had the danger of low BMD in lumbar ,neck and Ward's region ,and moreover ,their low body weight also led to less bone mineral density in the neck and trochanter .**Conclusions** Detection of Pvu II polymorphisms of estrogen receptor gene has great value in identifying the risk factors for postmenopausal osteoporosis .

Key words : Pvu II polymorphisms of estrogen receptor ; Bone mineral density ; Age ; Body mass index ; Osteoporosis

骨质疏松症是一种老年性常见病,绝经后骨质疏松的发生主要与增龄所致的体内性激素突然减少及生理性退变有关。对于绝经后妇女来说,年龄的增长与骨量的丢失存在一种关系,这在我们的前期研究^[1,2]中得到了证明:高龄、低体重是女性骨质疏松低骨密度的危险因素。但这种规律只是对于绝经后骨质疏松症总体情况而言,是否也适合不同基因型的人群,有待于进一步研究。为此,我们对福州地区绝经后骨质疏松症患者进行了雌激素受体(Estrogen Receptor,简称 ER)基因 Pvu II 多态性检

测,分析不同的基因型下年龄、绝经年限、体重及体重指数与骨密度的相关关系,以此筛选出影响不同基因型绝经后骨质疏松症患者的危险因素,为临床合理防治骨质疏松症提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

从福州地区常住汉族人口中随机抽样检测女性骨质疏松症患者 759 例,均为自然绝经 1 年以上者,年龄在 45 ~ 83 岁。排除继发性骨质疏松、患有影响骨代谢的疾病及长期服用影响骨代谢药物的患者。骨质疏松诊断参照中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿)^[3]。本研究对象均知情同意,符合伦理学标准。

基金项目:福建省卫生厅基金资助项目(202)

作者单位:350003 福州,福建省中医药研究院

通讯作者:葛继荣,Email: gjrjgcy@sohu.com

1.2 方法

1.2.1 试剂 :DNA 试剂盒(北京天为时代公司),Taq DNA 聚合酶、dNTP、10 × PCR 缓冲液(北京华美生物工程公司),限制性内切酶 Pvu II(Promega 公司),ER 引物(北京三博远志生物技术有限公司) 序列为 :P₁ 5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTTCCTATTCTCC-3' ;P₂ 5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTGCATTATCTGA-3')

1.2.2 骨密度检测 :采用美国豪诺士公司生产的 Hologic QDR-4500W 型双能 X 线骨密度仪检测正位腰椎(L₂₋₄) 左侧的股骨颈、大转子和 Ward's 区的骨密度(g/cm²) 测量身高(m) 体重(kg) ,并计算出体重指数[体重指数(kg/m²)= 体重(kg)/身高(m²)] ,记录年龄(岁) 绝经年龄(岁) 和绝经年限(年)

1.2.3 ER 基因(Pvu II)型检测 :从患者中随机选择 198 例 静脉取血 ,ACD 抗凝 ,采用 DNA 试剂盒提取 DNA 模板。PCR 扩增 :反应体系 50 μl ,其中 10 × PCR 缓冲液 5μl ,10mmol/L dNTP 1μl ,P₁、P₂ 引物各 0.4 μmol/L 模板 DNA 100ng ,Taq DNA 聚合酶 1 U ,置热循环仪中 94℃ 预变性 30 s ,61℃ 退火 40 s ,72℃ 延伸 90 s ,循环 30 次。PCR 反应后 ,取扩增物 5 μl 经 1% 琼脂糖电泳 ,紫外光下可见 1.3 kp 特异扩增带 ;取扩增物 10 μl ,用 5 U 限制性内切酶 Pvu II 酶切 , 37℃ 2 h。取消产物 10 μl ,1% 琼脂糖电泳 ,EB 染色 ,紫外光下可见纯合子无酶切位点(PP 型) 为 1.3 kp 纯合子有酶切位点(pp 型) 为 0.9 kp 和 0.4 kp ,杂合子(Pp 型) 为 1.3 kp、0.9 kp 和 0.4 kp。

1.3 统计学处理

采用均数 ± 标准差描述 ,SPSS 11.0 软件进行线性相关分析 ,P < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 759 例女性骨质疏松症人群的年龄 (61.81 ± 5.78) 岁 ,绝经年龄 (48.9 ± 3.33) 岁 ,绝经年限 : (12.9 ± 6.45) 年 ,身高 : (1.56 ± 0.05) m ,体重 : (56.48 ± 7.68) kg ,体重指数 :23.04 ± 2.92 , L₂₋₄ : 0.732 ± 0.095 ,Neck :0.668 ± 0.088 ,Troch :0.555 ± 0.098 ,Ward's D.473 ± 0.118。年龄、绝经年龄、绝经年限、身高、体重、体重指数与骨密度的相关性 ,见

表 1。

表 1 759 例女性各项指标与骨密度的相关性(r/p)

项目	L ₂₋₄	Neck	Troch	Ward's
年龄	-0.274/0.000	-0.309/0.000	-0.231/0.000	-0.306/0.000
绝经年龄	0.026/0.480	0.076/0.036	0.010/0.788	0.013/0.719
绝经年限	-0.256/0.000	-0.308/0.000	-0.212/0.000	-0.283/0.000
身高	0.127/0.000	0.138/0.000	0.072/0.047	0.057/0.113
体重	0.199/0.000	0.205/0.000	0.188/0.000	0.086/0.018
体重指数	0.160/0.000	0.179/0.000	0.184/0.000	0.095/0.009

从表 1 可知女性骨质疏松症年龄、绝经年限与腰椎和股骨上段的骨密度有显著负相关 ,说明年龄越大 ,绝经年限越长 ,对应有较低的骨密度。体重和体重指数与腰椎和髋部的骨密度有显著正相关 ,表明低体重者 ,其骨密度也比较低。

2.2 198 例 ER 基因(Pvu II)型检测结果 :PP 型 19.19% ,pp 型 33.84% ,Pp 型 46.97% ;P 等位基因频率为 42.68% (169/396) ,p 等位基因频率为 57.32% (227/396) ,等位基因的频率分布符合 Hardy-Weinberg Law(遗传平衡规律)。PP、pp 与 Pp 三型组间的年龄、绝经年龄、绝经年限、体重指数及骨密度比较均无显著性差异(秩和检验 P > 0.05) ,说明组间具有可比性 ,见表 2。

2.3 不同基因型项目指标与骨密度的相关性 :在 PP 型中 ,只有体重与股骨颈、大转子骨密度有显著正相关 ,体重指数与大转子骨密度有显著正相关 ,年龄、绝经年龄、绝经年限、身高均与骨密度无相关性。在 pp 型中 ,年龄与大转子、Ward's 的骨密度有显著负相关 ,身高与腰椎骨密度有显著正相关 ,绝经年龄、绝经年限、体重、体重指数与骨密度无显著相关性。在 Pp 型中 ,年龄、绝经年限与腰椎、股骨颈、Ward's 的骨密度有显著负相关 ,与股骨颈的相关 r 绝对值大于 0.4 ,相关程度为中度 ,体重与股骨颈、大转子骨密度有显著正相关 ,绝经年龄、身高、体重指数与骨密度无相关 ,见表 3。

3 讨论

骨质疏松症(OP)是一种以低骨量和骨组织微观结构退化为特征 ,伴有骨的脆性和骨折危险性增加的全身性骨骼疾病^[4]。随着老年人口不断增加 ,

表 2 三基因型组间项目指标、骨密度的比较

基因型	例数	年龄	绝经年龄	绝经年限	体重指数	L ₂₋₄	Neck	Troch	Ward's
PP	38	60.92 ± 5.29	49.21 ± 4.14	11.71 ± 6.45	22.44 ± 3.34	0.732 ± 0.098	0.677 ± 0.09	0.566 ± 0.098	0.465 ± 0.123
pp	67	61.82 ± 5.18	48.73 ± 3.67	13.09 ± 6.70	23.22 ± 2.93	0.747 ± 0.095	0.689 ± 0.079	0.588 ± 0.099	0.507 ± 0.122
Pp	93	61.80 ± 6.06	48.23 ± 3.46	13.57 ± 6.95	23.50 ± 2.87	0.737 ± 0.093	0.674 ± 0.074	0.574 ± 0.087	0.491 ± 0.117

表 3 不同基因型项目指标与骨密度的相关性(r/p)

部位	基因型	年龄	绝经年龄	绝经年限	身高	体重	体重指数
L ₂₋₄	PP	- 0.211/0.203	0.224/0.176	- 0.291/0.076	0.148/0.375	0.295/0.073	0.250/0.130
	pp	- 0.050/0.691	- 0.054/0.664	0.020/0.874	0.253/0.039	0.070/0.572	0.001/0.997
	Pp	- 0.325/0.001	0.028/0.787	- 0.276/0.007	0.041/0.697	0.161/0.123	0.143/0.173
Neck	PP	- 0.264/0.110	0.015/0.928	- 0.272/0.099	0.222/0.181	0.337/0.038	0.317/0.053
	pp	- 0.201/0.102	0.013/0.915	- 0.183/0.138	0.046/0.713	- 0.096/0.441	- 0.117/0.346
	Pp	- 0.521/0.000	0.052/0.620	- 0.467/0.000	0.131/0.211	0.208/0.045	0.158/0.130
Troch	PP	- 0.143/0.390	- 0.129/0.442	- 0.094/0.573	0.260/0.115	0.423/0.008	0.381/0.018
	pp	- 0.332/0.006	- 0.217/0.078	- 0.149/0.230	0.221/0.072	- 0.002/0.989	- 0.075/0.544
	Pp	- 0.103/0.324	- 0.105/0.319	- 0.032/0.759	0.070/0.505	0.232/0.025	0.202/0.052
Ward's	PP	- 0.219/0.186	- 0.075/0.655	- 0.157/0.347	0.168/0.314	0.230/0.165	0.198/0.234
	pp	- 0.312/0.010	- 0.198/0.108	- 0.153/0.216	0.029/0.815	- 0.227/0.064	- 0.224/0.068
	Pp	- 0.310/0.002	0.041/0.694	- 0.272/0.008	- 0.113/0.282	0.014/0.893	0.081/0.441

骨质疏松症已成为一个严重的社会问题而备受关注。骨质疏松的发病因素大体可分为遗传和环境两类。对于绝经后妇女来说 ,其年龄、绝经年限、体重及体重指数与骨密度存在一定的相关性。本研究结果表明 :在女性整体中 ,年龄、绝经年限、体重、体重指数与腰椎、股骨上段的骨密度均有显著相关性 ,这种相关性说明年龄越大 ,绝经年限越长 ,体重越低 ,其对应的骨密度就越低 ,因此 ,高龄、低体重是女性骨质疏松症低骨密度的危险因素 ;绝经年龄与股骨颈有显著正相关 ,身高与腰椎、股骨颈、大转子有显著正相关。这些同国内有些研究报道大体一致^[5-7]。

上述的这种规律是否适合各种基因型的人群 ,需要做进一步的探讨。现代医学研究表明骨峰值、骨密度及骨折危险性均有强烈的遗传性^[8]。ER 基因突变可造成人体骨密度下降 ,ER 基因多态性可能与骨质疏松症有关^[9]。这些都说明遗传基因对骨质疏松骨密度有一定的影响。为此 ,我们对绝经后骨质疏松症患者进行了 ER 基因 Pvu II 基因型检测 ,发现在各基因型下年龄、绝经年龄、绝经年限、身高、体重及体重指数与骨密度的相关关系有明显的区别 :在 PP 型人群中 ,只有体重与股骨颈、大转子骨密度、体重指数与大转子骨密度有显著正相关 ,而年龄、绝经年龄、绝经年限、身高均与骨密度无相关性 ,说明低体重是 PP 型女性股骨低骨密度的危险因素 ;在 pp 型中 ,年龄与大转子、Ward's 的骨密度有显著负相关 ,绝经年龄、绝经年限、体重、体重指数与骨密度无显著相关性 ,说明高龄是 pp 型女性股骨低骨密度的危险因素 ;而在 Pp 型中 ,年龄、绝经年限与腰椎、股骨颈、Ward's 的骨密度有显著负相关 ,且与股骨颈相关程度为中度 ,体重与股骨颈、大转子骨密度有显著正相关 ,绝经年龄、身高、体重指数与骨密度无相关 ,表明高龄、低体重是 Pp 型女性骨质疏松低

骨密度的危险因素。通过比较三种基因型下的年龄、绝经年限、体重、体重指数与骨密度的线性关系可以得出 :在不同 ER 基因 Pvu II 基因型的女性骨质疏松症患者中 ,低骨密度的危险因素是不同的 ,通过 ER 基因 Pvu II 多态性筛选危险因素对临床正确防治绝经后骨质疏松有重要的指导价值。

综上所述 ,在筛选绝经后骨质疏松症低骨密度的危险因素时 ,应结合遗传学的基因分型 ,针对不同的 ER 基因 Pvu II 基因型患者 ,对应其不同部位低骨密度的危险因素存在差异 ,在临床防治骨质疏松过程中要因人而异 ,才能取得较好的临床疗效。

【 参 考 文 献 】

[1] 葛继荣 ,聂达荣 ,陈可 ,等 .年龄、体重及体重指数对福州地区骨质疏松人群骨密度的影响 .中国中医骨伤科杂志 ,2003 ,11(6) :9-12.

[2] 葛继荣 ,聂达荣 ,陈可 ,等 .绝经年限、体重和体重指数对绝经后妇女骨密度的影响 .福建中医学院学报 ,2003 ,15(5) :35-37.

[3] 刘忠厚 ,杨定焯 ,朱汉民 ,等 .中国人骨质疏松症建议诊断标准 (第二稿) .中国骨质疏松杂志 ,2000 ,6 :1-3.

[4] Ross PD. Osteoporosis :epidemiology and risk assessment. J Nutr Health Aging ,1998 ,2 :178-183.

[5] 颜晓东 ,朱敏嘉 ,黄忠 ,等 .影响绝经后妇女骨量的相关因素分析 .临床内科杂志 ,2002 ,19 :182-184.

[6] 王莉华 ,王伟华 ,王洪复 ,等 .体重和身高对绝经后妇女骨密度值的影响 .中华实用医学 ,2002 ,4(13) :41-43.

[7] 孙国强 ,郭庆生 ,闻久全 .身高、体重及体重指数对辽宁地区正常中老年人骨矿含量的影响 .中国骨质疏松杂志 ,2003 ,9 :35-36.

[8] Richard W ,Paul J. Genetic factots in osteoporosis. Drug & Aging ,1997 ,11 :333-337.

[9] Kobayashi S ,Inoue S ,Hosoi T ,et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. J Bone Miner Res ,1996 ,11 :306-311.

(收稿日期 :2005-01-10)