

降钙素受体基因频率与老年男性骨密度的关系

吴伏娜 朱茵 彭佩玲 罗明星 胡红英 邓武红 古碧华

摘要：目的 探讨老年男性骨密度(BMD)与降钙素受体(CTR)基因频率和基因型频率的关系。方法 对深圳地区 77 例 60 岁以上男性,用双能 X 线骨密度仪测定髋部 BMD 值,分为骨质疏松组和非骨质疏松组,采用聚合酶链反应-限制性长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 CTR 基因型。结果 老年男性 CTR 基因型频率分布依次为 CC、CT、TT(分别占 0.831、0.169、0),C 和 T 等位基因频率分别为 0.916、0.084。不同基因比例:非骨质疏松组以 CC 型为多,骨质疏松组 CT 型为多($P < 0.01$)。结论 男性 CT 基因型者可能为骨质疏松的易患人群。

关键词：骨密度；降钙素受体基因频率

Studies on the relationship between calcitonin receptor gene frequency and bone mineral density in old aged male WU Funa, ZHU Yin, PENG Peiling, et al. Department of Gerontology, Jinan University Medical College Affiliated Shenzhen People's Hospital 518020, China

Abstract : Objective To investigate the association of calcitonin receptor (CTR) gene frequency and CTR genotypes frequency with bone mineral density (BMD) in aged males. **Methods** BMDs of the hip of 77 males above 60 years old in Shenzhen region were measured by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA), afterwards, they were divided into two groups: osteoporosis group and non-osteoporosis group. CTR genotypes were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** The distribution of CTR genotypes in 77 aged males were CC genotype 0.831, CT genotype 0.169, TT genotypes 0, and C gene frequency was 0.916 and T gene frequency was 0.084. More CC genotype was found in non-osteoporosis group and more CT genotype in osteoporosis group. **Conclusions** Males with CT genotype are susceptible to osteoporosis.

Key words : Bone mineral density ; Calcitonin receptor gene frequency

原发性骨质疏松是一种多因素疾病,其中遗传因素占 70%~80%,影响骨代谢的有关基因多态性与骨密度关系的研究,国内外已有许多相关报道,有关降钙素受体(calcitonin receptor; CTR)基因频率与老年男性骨密度的关系国内尚未见报道。本研究选择深圳地区老年男性为对象,探讨降钙素受体基因频率与老年男性骨密度的关系,以明确 CTR 基因型是否可作为老年男性骨质疏松的独立危险因素,为男性骨质疏松的诊断和治疗提供更多的依据。

1 材料和方法

1.1 对象

深圳市 60 岁以上老年男性 77 例,平均年龄(74.99 ± 7.92)岁。所有入组对象均经询问病史和相关检查,排除各种可能影响骨代谢的疾病,及服用可能影响骨代谢药物者。

1.2 BMD 的测定

全部受试者均经双能 X 线骨密度仪(型号 Charllenger 99)检测左侧髋部,包括股骨颈(Neck), Ward's 三角和股骨粗隆区(trock)。按骨密度 BMD T 值 - 2.5 SD 为骨质疏松者,分为骨质疏松组和非骨质疏松组。

1.3 CTR 基因分型

1.3.1 Taq DNA 聚合酶, dNTP, 10 × PCR 缓冲液, Alu I 限制性内切酶等均为 MBI Fermentas 公司产品。

1.3.2 CTR 基因分型:采用聚合酶链反应-限制性长度多态性(PCR-RFLP)技术进行。①引物设计参考文献^[1,2],序列为:5'-CTCAGTGATCACCATACT-GTG-3'和 5'-TTCAGTGGAACCAGCGTTGG-3',由上海

基金项目:深圳市科技局基金资助项目(200304020)

作者单位:518020 深圳市罗湖区东门北路 1017 号院暨南大学医学院附属深圳市第一人民医院老年病科、中心实验室

通讯作者:吴伏娜, Email: wufuna2000@163.com

生物工程服务有限公司合成 ;取抗凝外周血 200 μ L ,用 QIAamp DNA Blood Mini Ki(QIAGEN)按试剂盒说明方法提取全血 DNA ;PCR 反应体系 :引物浓度 0.4 μ mol/L ,Taq 酶 0.5 U ,MgCl₂ 1 mmol/L ;PCR 循环 94℃ 预变性 2 min 随后 94℃ 50 s ,61℃ 40 s ,72℃ 40 s ,38 循环 ,72℃ 延伸 2 min ;PCR 产物经电泳确定后酶切。
②PCR 产物的酶切鉴定 :取 PCR 产物 5 μ L ,Alu I 限制性内切酶 10 U ,于 10 μ L 反应体系 ,37℃ 酶切 2 h ,产物经 15% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 ,溴乙锭染色 ,拍照并判断结果。

1.4 统计学处理

表型频率及基因型频率采用基因计数法计算 ,组间比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 基因型判定

根据 Alu I 酶切情况 ,CTR 基因表型有 3 种 :无 Alu I 酶切位点的 CC 纯合子仅显示 228 bp 1 条带 ,有 Alu I 酶切位点的 TT 纯合子显示 120 bp 和 108 bp 2 条带 ,TC 杂合子则显示上述 3 条带。CTR 等位基因电泳图谱见图 1。

CTR-PCR 产物及酶切产物电泳图。DNA Marker 片断从上到下大小依次为 234、124、104 bp ,图中 1 为 CTR 的 PCR 产物 2 为 CC 型 3 为 TT 型 4 为 CT 型 ;5 为 DNA Marker。

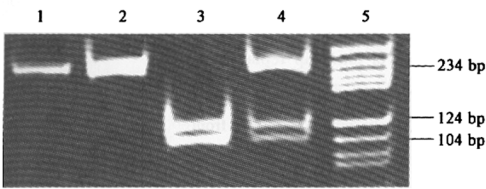


图 1 CTR 等位基因电泳图谱

2.2 老年男性骨质疏松组与非骨质疏松组 CTR 基因型频率的分布(见表 1)。

表 1 CTR 基因型频率的分布

基因类型	表型		合计
	非骨质疏松组	骨质疏松组	
基因型频率			
CC	0.94(48)	0.61(16)	64
CT	0.05(3)	0.38(10)	13
合计	51	26	

注 : $P = 0.0006 < 0.01$

2.3 等位基因频率的分布(见表 2)。

表 2 等位基因频率的分布

基因类型	表型		合计
	非骨质疏松组	骨质疏松组	
基因频率			
C	0.97(99)	0.80(42)	141
T	0.02(3)	0.19(10)	13
合计	102	52	

注 : $P = 0.001 < 0.01$

2.4 77 例老年男性中 ,据表 1 所列数据 CC、CT、TT 基因型频率分别为 0.831、0.169、0 ($P = 0.0006$) ,两组间差异有统计学意义 ,据表 2 所列数据 C 和 T 等位基因频率分别为 0.916、0.084 ($P = 0.001$) ,两组间结果差异有统计学意义。

3 讨论

骨质疏松是一种多因素疾病 ,遗传因素占 80% ,环境因素占 20%。遗传基因相关研究集中在维生素 D 受体基因型和降钙素受体基因型与骨密度的相关性 ,主要在绝经前后妇女中进行。CTR 基因表型频率分布白种人和亚洲人不一致 ,白种人以 TT 型和 TC 型为主 ,亚洲人以 CC 型为主 ,对于 CTR 基因型与骨密度相关性的研究结果各家报道不一致。意大利的 Masi 等^[1]报道 :男性 CC 型腰椎和髌部的骨密度最低 ;法国 Taboulet 等^[2]报道 :绝经后妇女 TC 型股骨颈骨密度显著升高 ;日本 Nakamura 等^[3]报道 :绝经后妇女骨密度在 CC、CT、TT 3 个基因型间无差异 ;章振林^[4]报道 :年轻妇女组 TC 基因型者在腰椎和股骨大转子部位的骨密度值均高于 CC 基因型的相应部位 ($P < 0.05$) ,绝经后妇女不同基因型各部位骨密度值无差别。赵红燕^[5]报道 :绝经后妇女组 ,CC 型的股骨颈 BMD 明显高于 CT 和 TT 型 ($P < 0.01$)。绝经前组不同基因型的各部位 BMD 无差异。李杰文^[6]报道 :CTR 基因型分布和等位基因频率在绝经前后妇女骨质疏松组间差异均无显著性。

国内有关降钙素受体基因型与男性骨密度相关性的研究尚未见报道。男性骨质疏松发病无明确的标志性时间 ,只有骨密度检查来判断是否有骨质疏松发生 ,而男性髌部骨折的发生率明显高于女性 ,本研究显示了男性降钙素受体基因型频率与髌部骨密度有良好的相关性 :CC 基因型频率与 C 等位基因频率均显示非骨质疏松组高于骨质疏松组(分别为 $P = 0.0006$; $P = 0.001$)。而 CT 基因型频率和 T 等位基因频率骨质疏松组为高。基因型频率分布符合

(上接第 151 页)

Hardy-Weinberg 平衡。这一结果与北京协和医院和上海瑞金医院及一项日本报道的频率相近似($P > 0.05$),与他们报道的不同之处,本研究是关于男性人群。研究提示男性 CT 型基因者可能为髋部骨质疏松的易患人群。因此,降钙素受体 CT 型基因加骨密度低于 2.5 SD 的男性应考虑作为男性骨质疏松的重点防治对象。

致谢 感谢医学统计学硕士李岚老师在统计学方面给予的指导!

【 参 考 文 献 】

[1] Masi L ,Becherini L ,Cennari L. Allelic variants of human calcitonin receptor : distribution and assoiation with bone mass in postmenopausal Italian women. Biochem Biophys Res Commun ,

1998 ,245(2) 622-624.

- [2] Taboulet J , Frenkian M ,Frendo JL. Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in postmenopausal women. Hum Mol Genet ,1998 ,7(13) 2129-2131.
- [3] Nakamura M , Mocimoto S , Zhang Z. Calcitonin receptor gene polymorphysm in Japanese women : correlation with body mass and bone mineral density. Calcif Tissue Int 2001 ,68(4) 211-213.
- [4] 章振林,孟迅吾,周学瀛,等. 妇女降钙素受体基因型与骨密度的关系. 基础医学与临床 ,2000 ,20(3) 69-72.
- [5] 赵红燕,刘建民,宁光,等. 降钙素受体基因多态性与上海地区妇女骨密度的关系. 中国医学科学院学报 ,2003 ,25(3) : 259-261.
- [6] 李杰文,韦蓉梅. 绝经妇女骨质疏松症与降钙素受体基因多态性的相关性的初步探讨. 现代临床医学生物工程学杂志 , 2004 ,10(2) :132-133.

(收稿日期 :2006-06-24)