

绝经后妇女桡骨远端骨质疏松性骨折相关因素的研究

朱秀英 权晓慧 聂英坤 张瑞 李旋

摘要：目的 探讨绝经后妇女桡骨远端骨质疏松性骨折的危险因素，雌激素受体- α (ER- α) 基因多态性与骨密度的关系。方法 以哈尔滨地区自然绝经后妇女 108 名为研究对象，采用问卷调查的方式，测量腰椎(L₂₋₄)、股骨近端和桡骨远端的骨密度，分为桡骨远端骨质疏松性骨折组、骨质疏松症组和正常对照组。利用 PCR-限制性片段长度多态技术检测 ER- α 基因的 Pvu II 和 Xba I 的酶切多态性，分析基因多态性与骨密度之间的关系。结果 骨折组各部位骨密度均低于正常对照组各部位骨密度，差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$)，骨折组与骨质疏松症组各部位骨密度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Ca、P、AKP 在不同组间无统计学意义 ($P > 0.05$)。文化程度高、身高较高、月经初潮较早、钙制剂、牛奶饮用量、VD、体重指数大是桡骨远端骨质疏松性骨折的保护性因素，有统计学意义 ($P < 0.05$)，绝经年龄早、绝经年限长、妊娠次数多、多产次、身高缩短为桡骨远端骨质疏松性骨折的危险因素，有统计学意义 ($P < 0.05$)。ER- α 基因 Pvu II 多态性与股骨颈、大转子及桡骨远端骨密度有统计学意义 ($P < 0.05$)，PP 基因型较 P_p 及 p_p 型具有更低的骨密度值，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，Xba I 多态性与骨密度无相关性 ($P > 0.05$)。结论 文化程度高、身高较高、月经初潮较早、钙制剂、牛奶饮用量、VD、体重指数大是桡骨远端骨质疏松性骨折的保护性因素，绝经年龄早、绝经年限长、妊娠次数多、多产次、身高缩短为桡骨远端骨质疏松性骨折的危险因素。ER- α 基因 Pvu II 多态性与股骨颈、大转子及桡骨远端骨密度具有相关性。

关键词：骨质疏松症；绝经后；受体；雌激素；骨密度

Study on relative factors for distal radius osteoporosis fracture in postmenopausal women ZHU Xiuying, QUAN Xiaohui, NIE Yingkun, et al. Department of Geriatrics, Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Abstract : **Objective** To examine the risk factors of distal radius osteoporosis fracture in postmenopausal women and the relationship of estrogen receptor- α (ER- α) gene polymorphisms and bone mineral density. **Methods** 108 healthy postmenopausal women living in Harbin district were selected and asked to complete a questionnaire to obtain information. They were divided into fracture, osteoporosis and control groups. Bone mineral density (BMD) was measured by dual energy X-ray absorptiometry, ER- α gene Pvu II, Xba I polymorphisms were determined by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP). **Results** There was significant difference between fracture and control groups ($P < 0.01$), BMD at any sites in fracture and osteoporosis groups were not different ($P > 0.05$), Ca, P, AKP were not significantly different in three groups ($P > 0.05$) either. Culture, calcium, milk, body mass index were protective factors for women in distal radius osteoporosis fracture ($P < 0.05$) and menarche, menopause and height shortening were risk factors for fractures ($P < 0.05$). Pvu II and Xba I genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium. No significant differences were found between three groups in frequencies of alleles and genotypes in ER- α . There were significant relationships in bone mineral density between the Pvu II genotypes at the femoral neck, troch and distal radius ($P < 0.05$). Xba genotypes have no relationship with BMD at all sites

基金项目：黑龙江省科技攻关基金资助项目 (GC02C162)

作者单位：150086 哈尔滨，哈尔滨医科大学附属第二医院老年病科(朱秀英、李旋)、风湿科(聂英坤) 西安市第一医院干部病房(权晓慧) 哈尔滨市第二医院急诊科(张瑞)

通讯作者：朱秀英, Email: xiuying51@hotmail.com

($P > 0.05$). **Conclusions** Body mass index, culture, calcium, milk, et al were protective factors for women in distal radius osteoporosis fracture, and menarche, menopause, height shortening, et al were risk factors for fractures. There was a significant relationship in BMD at the femoral neck, troch and distal radius with the Pvu II genotypes.

Key words: Osteoporosis; Postmenopausal; Receptors, estrogen; Bone mineral density

随着人口的老龄化,骨质疏松症与其伴随骨折已成为危害老年人尤其是绝经后妇女健康和生活方式的严重社会问题。已知,骨质疏松症是遗传和环境因素共同作用的结果,遗传对骨密度(BMD)值的影响达 60% ~ 80%,有研究发现维生素 D、雌激素、甲状旁腺激素受体的基因多态性与绝经后妇女骨密度有关。笔者旨在探讨雌激素受体- α (ER- α)基因的多态性与骨密度的关系,以及桡骨远端骨质疏松性骨折危险因素的研究。

1 材料和方法

1.1 研究对象

2004 年 4 月至 2005 年 8 月在哈尔滨地区长期居住的自然绝经的汉族妇女,共 163 名(自然绝经超过 1 年),选取 108 名,年龄 51 ~ 70 岁,按骨质疏松症诊断标准(腰椎或股骨近端 2 个部位以上骨密度值低于正常年轻妇女骨密度平均值减去 2.5 s)分为骨质疏松性骨折组(骨折组)34 名(新发桡骨远端骨折 1 年以内)、骨质疏松症组(骨质疏松组)29 名、正常对照组(正常组)45 名。

入选对象均填写问卷调查,问卷内容包括一般情况、出生日期、文化程度、初潮年龄、绝经年龄、绝经年限、骨折部位、骨折方式、妊娠次数、产次、身高缩短是否超过 3 cm 等,排除骨骼疾病及影响骨代谢的疾病,如糖尿病、甲亢、甲旁亢,是否使用过糖皮质激素,抗癫痫药物,严重肝肾疾病,任何疾病所致的长期卧床,特殊职业人员除外,符合要求者进行体检及有关实验室检查—血清碱性磷酸酶(AKP)、钙(Ca)、磷(P)。

1.2 方法

1.2.1 骨密度测定:采用美国 Lunar 公司生产的 DPX-MD 型双能 X 线骨密度检测仪进行检测,骨折患者测量健侧桡骨超远端骨密度,骨质疏松组和正常组测定左侧桡骨超远端,所有病例均同时测量腰椎 2-4 正位椎体及左侧股骨近端(股骨颈、Ward 三角、大转子),每日测量前均进行仪器质量控制, CV < 0.5%。

1.2.2 DNA 提取 取全血 2 ml,用基因组 DNA 提取

试剂盒(美国 Promega 公司产品)按照说明书提取,溶于 TE 缓冲液中。

1.2.3 ER 基因片段的 PCR 扩增:PCR 反应体系为 50 μ l,含 10 mmol/L Tris-HCl、缓冲液(2 mmol/L $MgCl_2$)5 μ l,100 μ mol/L dNTP、2 μ l 引物(上下游各 10 pmol/ μ l)DNA 模板 1 ~ 3 μ l,Taq DNA 聚合酶 2.5 uo Pvu II 及 Xba I 位点多态性的序列相同,正向:5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTCTCTATTCTCC-3',反向:5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCGATTATCTGA-3',扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,然后 94 $^{\circ}$ C 40 s,62 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 90 s,共 32 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,扩增产物长 1.3 kb。

1.2.4 限制性酶切分析:应用限制性内切酶 Pvu II 和 Xba I 分别对 PCR 产物进行酶切,经 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果。Pvu II 酶切出现 3 种基因型 缺乏 Pvu II 酶切位点的 PP 型(1.3 kb 1 条带),杂合子 Pp 型(1.3 kb、850 kb 和 450 kb 3 条带),存在 Pvu II 酶切位点的 pp 型(850 kb 和 450 kb 2 条带)。Xba I 酶切出现 3 种基因型 缺乏 Xba I 酶切位点的 XX 型(1.3kb 1 条带),杂合子 Xx 型(1.3 kb、910 kb 和 390 kb 3 条带),存在 Xba I 酶切位点的 xx 型(910 kb 和 390 kb 2 条带)。

1.3 统计学处理

全部资料输入计算机,用 SPSS 12.0 统计软件包进行统计学处理,使用 χ^2 检验分析等为基因频率分布是否符合 Hardy-Weinberg 定律,以及骨折、骨质疏松、正常组等位基因和基因型频率分布是否有差异,采用 t 检验对多组均数间进行比较,将影响因素行 Logistic 逐步回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义, $P < 0.001$ 为差异有极显著统计学意义, $P > 0.05$ 为差异无统计学意义。

2 结果

2.1 骨折、骨质疏松、正常组与不同部位骨密度、骨代谢指标之间的关系。

骨折组各部位骨密度均显著低于正常组各部位骨密度($P < 0.01$),骨折组与骨质疏松症组各部位

骨密度差异无统计学意义($P > 0.05$)。Ca、P、AKP 在不同组间差异无显著性($P > 0.05$)。见表 1、2。

表 1 骨折与骨质疏松组不同部位骨密度、骨代谢指标之间的比较

组别	L ₂₋₄	股骨颈	Ward 三角	大转子	桡骨远端	Ca	P	AKP
骨折组	0.880 ± 0.120	0.702 ± 0.113	0.540 ± 0.134	0.629 ± 0.093	0.284 ± 0.032	2.42 ± 0.16	1.17 ± 0.14	74.88 ± 13.61
骨松组	0.839 ± 0.127	0.678 ± 0.066	0.531 ± 0.081	0.593 ± 0.075	0.268 ± 0.033	2.41 ± 0.19	1.13 ± 0.15	75.14 ± 17.08
P 值	0.094	0.187	0.657	0.356	0.409	0.912	0.601	0.713

表 2 骨折与正常组不同部位骨密度、骨代谢指标之间的比较

组别	L ₂₋₄	股骨颈	Ward 三角	大转子	桡骨远端	Ca	P	AKP
骨折组	0.880 ± 0.120	0.702 ± 0.113	0.540 ± 0.134	0.629 ± 0.093	0.284 ± 0.032	2.42 ± 0.16	1.17 ± 0.14	74.88 ± 13.61
正常组	1.001 ± 0.104	0.773 ± 0.083	0.638 ± 0.104	0.705 ± 0.080	0.335 ± 0.038	2.42 ± 0.12	1.18 ± 0.13	70.26 ± 11.95
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.937	0.411	0.124

2.2 骨折与骨质疏松组危险因素的分析

Logistic 逐步回归分析表明,文化程度高、身高较高、月经初潮较早、钙制剂、牛奶饮用量、VD、体重指数大是骨折患者的保护性因素(回归系数 $b < 0$), ($P < 0.05$) 绝经年龄早、绝经年限长、妊娠次数多、多产次、身高缩短为危险因素(回归系数 $b > 0$), ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 附图

2.4 Pvu II、Xba I 多态性与骨密度的关系

ER-α 基因 Pvu II 多态性与股骨颈、大转子及桡骨远端骨密度值相关 ($P < 0.05$)。PP 基因型较 Pp 及 pp 型具有更低的骨密度值, ($P < 0.05$), Xba I 多

态性与骨密度无相关性($P > 0.05$)。见表 4。

表 3 骨折与骨质疏松症危险因素分析

项目	回归系数 b	Wald χ^2	P 值
文化程度	-1.375	6.399	0.033
身高	-1.268	6.459	0.043
体重指数	-2.316	7.172	0.000
初次月经	-1.479	6.276	0.017
绝经年龄	0.634	1.219	0.270
绝经年限	-1.382	6.367	0.029
钙制剂	-1.833	5.689	0.013
牛奶饮用	-1.412	6.308	0.021
VD	-1.231	6.501	0.044
妊娠次数	1.216	6.533	0.046
产次	1.292	6.414	0.039
身高缩短	2.668	9.982	0.000



附图

表 4 ER-α 基因 Pvu II、Xba I 多态性与受试者各部位骨密度值的相关关系(g/cm^2)

组别	基因型	例数	L ₂₋₄	股骨颈	Ward 三角	大转子	桡骨远端
Pvu II	PP	18	0.865 ± 0.144 *	0.657 ± 0.101 *	0.517 ± 0.141 *	0.604 ± 0.098 *	0.277 ± 0.035 *
	Pp	63	0.899 ± 0.150	0.732 ± 0.120	0.550 ± 0.142	0.671 ± 0.099	0.297 ± 0.043
	pp	27	0.915 ± 0.132	0.724 ± 0.084	0.551 ± 0.103	0.662 ± 0.086	0.309 ± 0.036
P 值			0.515	0.036	0.501	0.035	0.033
Xba I	XX	14	0.918 ± 0.066	0.696 ± 0.092	0.523 ± 0.112	0.641 ± 0.081	0.303 ± 0.053
	Xx	27	0.909 ± 0.164	0.709 ± 0.120	0.547 ± 0.143	0.645 ± 0.111	0.307 ± 0.042
	xx	67	0.906 ± 0.152	0.700 ± 0.121	0.556 ± 0.142	0.635 ± 0.120	0.299 ± 0.046
P 值			0.957	0.929	0.715	0.908	0.758

注: * PP 基因型与 Pp、pp 型骨密度比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

3 讨论

骨质疏松性骨折的发生率随着年龄、骨密度的

降低而增加。文献报道,低骨密度患者有 1/2 发生骨折^[1]。骨质疏松性骨折通常在轻微外力作用下发生,这是由于骨质疏松患者骨骼的脆性增加所致。

本研究发现,骨质疏松症组较骨质疏松性骨折组患者具有更低的骨密度而并未发生骨折,说明低骨量不是骨折的惟一原因,但所有的骨折患者均有跌倒摔伤史,证明摔伤史是骨折的主要原因之一,而 Kelsey 等^[2,3]研究证实既往身体相对健康,具有良好神经肌肉功能,骨密度较低的妇女跌倒后容易发生桡骨远端骨折。为此,本研究选取桡骨远端骨质疏松性骨折与骨质疏松症患者进行比较,对可能影响绝经后妇女骨质疏松性骨折的有关因素进行 Logistic 回归分析,表明文化程度高、身高较高、月经初潮较早、补充钙、VD、饮用牛奶、体重指数是骨质疏松性骨折患者的保护性因素,体重指数是最重要的保护性因素,说明较高的体重指数是预防骨质疏松性骨折发生的重要因子。已有研究表明^[4],文化程度可以影响骨密度,是因为文化程度高的人群经济状况好,能更多的了解骨质疏松的危险性,充裕的经济状况使其有条件预防骨质疏松。月经初潮早,雌激素产量相对较多,骨密度就偏高^[5]。国内外对于牛奶能增加骨密度尚存在争议,国外有研究报道,饮用大量奶制品不能增加女性髋部骨密度,但服用钙或含有高浓度钙的奶制品可以增加女性髋部骨密度^[6-8],笔者在调查牛奶摄入量时发现研究对象饮用牛奶的人群中,90%以上人群每日牛奶摄入量较少,但笔者认为摄入含钙的牛奶对增加骨量还是有一定作用的。绝经年龄早、绝经年限长、妊娠次数多、多产次、身高缩短为危险因素,其中身高缩短超过 3 cm 骨折的发生率会明显增加。绝经年龄早、绝经年限长容易发生骨质疏松症及骨质疏松性骨折,这与国内外的一些相关报道一致^[9,10]。关于妊娠和产次与骨密度的关系历来都有争论^[11,12],笔者的研究结果认为多次妊娠、多产的女性在老年时易患骨质疏松症,可能是当时的女性在怀孕期间没有科学补充钙和维生素 D 的常识和习惯,故其产次越多,骨量丢失越多,骨密度值越低,绝经后骨质疏松性骨折的危险性就越大。

雌激素通过其受体对妇女峰值骨量的获得和骨量丢失起重要作用,近 10 年来,关于 ER- α 基因 Pvu II、Xba I 多态性与妇女骨密度值关系的研究发表文章很多,但研究结果差异很大。Kobayashi 等^[13]报道 286 例日本绝经后妇女 Pvu II 多态性与股骨近端 Troch 部位骨密度值相关,韩国研究^[14] 229 例绝经后妇女 Pvu II、Xba I 多态性分别与腰椎和股骨颈骨密度值相关,扶世杰等^[15]研究 PP、xx、Pp_{xx}、PP_{xx} 4 种基因型的携带者比正常人骨质疏松的易患程度分别

高 2.46、2.97、2.20、15 倍,PP_{xx} 复合基因型可能由于叠加作用危险度最大;一项荟萃分析^[16] 30 个研究项目,共 5834 例绝经后妇女,ER-a XX 基因型比 X 基因型骨密度值高且骨折风险低,但与 Pvu II 多态性无相关。本研究发现 ER-a 基因 Pvu II 多态性与股骨颈、大转子及桡骨远端各部位骨密度值相关,PP 基因比 Pp 及 pp 骨密度值更低($P < 0.05$)。提示 ER-a 基因 Pvu II、PP 基因型亦可能是绝经后妇女桡骨远端骨质疏松性骨折相关因素,但要得出确切结论还需要更大的样本量,进行更深入的研究。对绝经后妇女已有骨量减少或其他骨质疏松危险因素,应做好预防骨质疏松症及骨质疏松性骨折的宣教工作是非常重要的。

分析出现上述研究结果的不一致性,除与种族、地域、样本量、绝经年限、年龄、体重等因素影响外,环境因素、生活习惯、检测技术、基因与基因相互作用等也是不可忽视的重要因素。随着分子生物学技术的不断发展,从 RNA 和 DNA 水平去分析验证,筛查出骨质疏松症及骨质疏松性骨折的遗传易感因子,对诊断、预防骨质疏松症及骨质疏松性骨折、药物筛选、药物疗效判定均具有重要的临床意义。

【 参 考 文 献 】

- [1] 林华,包丽华,韩祖斌,等. DEXA, QUS 在绝经后骨质疏松性脊柱骨折诊断中的应用与探讨. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6 (2) :13.
- [2] Kelsey JL, Browner WS, Seeley DG, et al. Risk factors for fractures of the distal forearm and proximal humerus. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Am J Epidemiol, 1992, 135 (5) :477-489.
- [3] Kelsey JL, Prill MM, Keegan TH, et al. Reducing the risk for distal forearm fracture: preserve bone mass, slow down, and don't fall! Osteoporos Int, 2005, 16 (6) :681-690.
- [4] 颜兴伟,杨玉金,王国平,等. 骨质疏松症危险因素的病例—对照研究. 中国慢性病预防与控制, 2005, 13 (2) :69-72.
- [5] 张清学,冬梓,文军,等. 中老年女性骨密度相关因素的临床分析. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11 (1) :68-70.
- [6] McCabe LD, Martin BR, McCabe GP, et al. Dairy intakes affect bone density in the elderly. Am J Clin Nutr, 2004, 80 (4) :1066-1074.
- [7] Chee WS, Suriah AR, Chan SP, et al. The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. Osteoporosis Int, 2003, 14 (10) :828-834.
- [8] Francis RM. Calcium, vitamin D and involutional osteoporosis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006, 9 (1) :13-17.
- [9] 周起敬,明庆华,徐汝昌,等. 昆明女性髋部骨密度及骨质疏松调查. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11 (1) :58-60.

(下转第 168 页)

(上接第 196 页)

- [10] van Der Voort DJ, van Der Werjer PH, Barentsen R. Early menopause: increased fracture risk at older age. *Osteoporos Int*, 2003,4(6):525-530.
- [11] Sadat-Ali M, Al-Habdan, Al-Mulhim AA, et al. Effect of parity on bone mineral density among postmenopausal Saudi Arabian women. *Saudi Med J*, 2005,26(10):1588-1590.
- [12] 秦林林,陈金标,葛崇华,等. 781 例 15~50 岁健康者骨密度与影响因素分析. *中华预防医学杂志*, 1999,33:282-285.
- [13] Kobayashi N, Fujino T, Shirogane T, et al. Estrogen receptor alpha polymorphism as a genetic marker for bone loss, vertebral fractures and susceptibility to estrogen. *Maturitas*, 2002,41:193-201.
- [14] Kim JG, Lim KS, Kim EK, et al. Association of Vitamin D receptor and estrogen receptor gene polymorphisms with bone mass in postmenopausal Korean women. *Menopause*, 2001,8:222-228.
- [15] 扶世杰,王旭生,唐三元,等. ER 基因多态性与中国南方妇女绝经后骨质疏松症的病例对照研究. *中国骨质疏松杂志*, 2006,12(4):346-349.
- [16] Ioannidis JP, Stavrou I, Trikalinos TA, et al. ER-alpha Genetics Meta-Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res*, 2002, 17:2048-2060.

(收稿日期:2006-07-30)