

雌激素 β 受体基因与骨量关系的研究进展

陈志军 综述 邱勇 审校

摘要: 雌激素受体对骨量的获得与维持有着重要的作用,近 10 年来关于雌激素受体研究主要集中在 α 受体,而 β 受体的研究较少。笔者回顾了国内外关于雌激素 β 受体基因与骨密度关系文献,主要从骨量的遗传特性、雌激素受体的作用、雌激素 β 受体基因多态性及其分子机制研究进展等几个方面来阐述。

关键词: 雌激素受体; 基因多态性; 骨量

Research updates on relationship between estrogen receptor β gene and bone mass CHEN Zhijun, QIU Yong. Spine Surgery, Drum Tower Hospital, Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China

Abstract: Estrogen receptor is essential to acquiring and maintenance of bone mass. Many researches focus on estrogen receptor α in recent ten years. However fewer papers are about estrogen receptor β . In this paper, it reviewed the literature about association between estrogen receptor β gene and bone mass. And it mainly expressed the inherited characteristic of bone mass, the effect of estrogen receptor, polymorphism of estrogen β gene and its molecular mechanism research.

Key words: Estrogen receptor; Gene polymorphism; Bone mass

大量研究表明,骨量是一种多基因遗传性状。雌激素受体(ESR)基因是影响骨量较重要的候选基因之一。关于雌激素 α 受体(ESR α)基因与骨量的关系已有较多研究^[1],而对雌激素 β 受体(ESR β)基因与骨量的研究较少。现将近几年关于 ESR β 基因与骨量关系研究综述如下。

1 骨量的多基因遗传性状

骨量是代表骨矿物质含量的指标,随骨骼生长而增加,一般在生长停止几年内达到高峰,即峰值骨量^[2]。骨密度(BMD)是与骨量相关的可测量指标,反应了骨强度。峰值骨密度(fBMD)是老年性骨质疏松和骨折的重要决定因素,Hernandez^[3]预估 fBMD 增加 10% 可延迟骨质疏松发展 13 年。

BMD 主要由遗传和环境因素(如生活习惯、钙摄入、身体锻炼等)决定。家系和孪生子研究显示^[4,6],BMD 变异的 50% ~ 80% 是由基因决定的。目前认为 BMD 性状是多基因遗传,它是由多个微效基因累加,并不存在主基因效应^[7]。因此筛选 BMD

候选基因对于群体遗传学分析有十分重要意义。

2 雌激素 β 受体与骨量的关系

雌激素对骨量的获得和维持有着重要作用。绝经后妇女骨质疏松症与体内雌激素水平降低有关。雌激素受体 α 基因无效突变和芳香酶突变临床上都可表现为骨量极度丢失和 BMD 下降^[8]。

雌激素主要通过 ESR α 和 β 起作用。研究证实骨组织大量表达 ESR,皮质骨和松质骨都存在 α 、 β 受体, α 受体在骨皮质中起主要作用,而松质骨中 β 受体占优^[9]。通过基因敲除小鼠实验研究表明^[10],ESR β 和 ESR α 对骨骼的作用不一样,ESR β 可能只在雌性中起作用,它在不同的雌激素水平下起抑制或代偿 ESR α 的作用。

Zanchetta, Schiessl 及 Schoenau 等^[3]分别通过大规模临床试验证实,在青春期前男女骨量与瘦体重比值无明显差别,在青春期及青春后期女性骨量与瘦体重比值较男性高。Frost^[3]分析认为雌激素引起超生理活动需要的骨质沉积主要为了妊娠和哺乳储存钙质。雌激素主要通过 ESR α 促进骨内膜及骨小梁骨形成,而由 ESR β 抑制骨外膜形成,且 ESR β 这种抑制作用只存在与女性生育期^[11]。Saxon 等^[11]研究表明,ESR β 起着“抗力学稳定性作用”,它主要抑

作者单位: 210008 南京,南京大学医学院附属鼓楼医院脊柱外科

通讯作者: 陈志军, Email: chenzhijun2000@gmail.com

制骨外膜骨沉积,它对于生育期女性骨量的获得和维持有着重要的作用。

人类 ESR β 基因定位于染色体 14 q 22 ~ 24,是从大鼠 cDNA 库中克隆发现^[12]。Karasik^[13]和 Ichikawa^[4]分别通过基因筛查,对数量性状基因座位(QTL)定位,发现 BMD 性状基因标志与染色体 14 q 密切连锁,而这恰为 ESR β 基因所在位置。这提示 ESR β 基因可能与 BMD 有关联,特别对于生育期女性。

3 雌激素 β 受体基因多态性与骨量的关系

1998 年, Tsukamoto 等^[1]第一次在日本人群中报

道 ESR β 基因中存在高 CA 二核苷酸重复序列多态性。自后大量 ESR β 基因单个核苷酸多态性(SNPs)位点陆续被发现,到目前为止, PUBMED 的 SNP 数据库中可查到的人类 ESR β 基因 SNPs 位点有 180 个。目前主要关注的 SNP 位点包括第 5 外显子中的 RsaI(rs 1256049)和第 8 外显子中的 Alu(rs 4986938)等。

关联分析是多基因性状分析的重要工具。基因多态性与骨量关系的关联分析对于寻找 BMD 性状易感基因型有重要意义。关于 ESR β 基因多态性与 BMD 关系已在各人种群体中进行了研究,其文献回顾见表 1。

表 1 雌激素 β 受体基因多态性与 BMD 关系研究文献回顾

时间	研究人群	多态性位点	研究结论
2000 ^[14]	204 名日本妇女(70.5 ± 6.8y)	D14S1026	D14S1026 和腰椎 BMD 有意义($P < 0.05$)
2002 ^[16]	120 名(37.2 ± 7.8y) 和 205 名中国妇女(62.5 ± 8.6y)	D14S1026	D14S1026 和腰椎和股骨颈 BMD 在绝经前妇女有意义($P < 0.05$), 绝经后妇女无意义($P > 0.05$)
2002 ^[7]	79 名斯洛文尼亚妇女(65.2 ± 6.7y)	RsaI(rs1256049)	无意义($P > 0.05$)
2004 ^[18]	283 名意大利男性(22 ~ 90y)	Alu(rs4986938)	无意义($P > 0.05$)
2004 ^[27]	226 名白种女性(60 ~ 98y)	D14S1026	D14S1026 和腰椎、股骨颈有意义($P < 0.05$)
2004 ^[15]	723 名白种男性(60.1 ± 9.5y) 和 795 名女性(59.5 ± 9.2y)	D14S1026 rs1256031 rs1256041 rs1256059 rs94460	D14S1026 和股骨颈 BMD 有意义($P < 0.05$) (男、女); rs1256031、rs1256059 和股骨颈 BMD 有意义($P < 0.05$) (男); rs1256031-D14S1026-rs1256059 和髌、股骨颈、大转子及 ward 三角 BMD 有意义($P < 0.05$) (女)
2005 ^[5]	262 名绝经前和 269 名绝经后中国妇女	RsaI, AluI D14S1026	RsaI 和大转子 BMD 有意义($P < 0.05$) (绝经后)
2005 ^[26]	147 名意大利男性和 125 名女性(61 ~ 73y)	AluI	AluI 与腰椎、股骨颈 BMD 有关($P < 0.05$) (男、女)
2005 ^[4]	411 名白种男性(34.6 ± 10.8y) 和 1291 名白种妇女(33.2 ± 7.1y)	11 个 SNPs 位点	rs1256112、rs3020444、rs1152588 和腰椎 BMD 有关($P < 0.05$) (男); rs3020444 和腰椎 BMD 有关($P < 0.05$) (女)
2005 ^[6]	147 名西班牙男性和 194 名女性(22 ~ 45y)	D14S1026	D14S1026 和腰椎、髌 BMD 有关($P < 0.05$) (女)
2006 ^[21]	3800 名荷兰女性和 2543 名男性(> 55y)	6 个 SNPs 位点	rs1256031-rs4986938 单体型和 BMD 有关($P < 0.05$) (女); ESR α 型单体型与 β 有交互作用。
2006 ^[20]	1098 名丹麦绝经后女性	AluI(rs4986938)	AluI 与远端前臂骨量丢失有关($P < 0.05$), 和椎体骨量丢失无关($P > 0.05$)
2006 ^[17]	331 名西班牙绝经后妇女	D14S1026	无意义($P > 0.05$)
2006 ^[19]	147 名希腊妇女	RsaI(rs1256049) AluI(rs4986938)	无意义($P > 0.05$)
2006 ^[22]	16602 名妇女(295 名非洲 693 名白种 151 名华人 162 名日本)	rs1255998 rs12566030 rs1256065	rs1256030、rs1256065 和腰椎、髌 BMD 有意义($P > 0.05$) (华人妇女)
2006 ^[24]	107 名中国男性和 567 名妇女(> 40y)	RSAl, AluI, D14S1026	RSAl, AluI, D14S1026 和腰椎、髌 BMD 有意义($P > 0.05$) (女)
2006 ^[25]	752 名中国人(> 40y)	12 个 SNPs 位点	启动子序列中 T-1213C 与 BMD 显著相关(男、女)($P < 0.05$)

Ogawa 等^[14]2000 年提出在日本绝经后妇女中 ESR β 基因 CA 二核苷酸重复序列多态性与 BMD 有关系, ESR β 基因中包含 26 CA 重复序列妇女和高腰椎 BMD 有关。自后陆续有不同年龄和种族的 ESR β 基因 CA 二核苷酸重复序列多态性与 BMD 关系的报道。Shearman 等^[15]开展大规模 Framingham 临床

试验,对 795 名女性(包括绝经前和后)进行基因多态性分析,研究表明 CA 重复序列多态性与股骨颈 BMD 相关而与腰椎 BMD 无关,对绝经前、后妇女单独分析时结果亦然。香港大学 lau 等^[16]对 120 名绝经前和 205 名绝经后中国妇女研究发现,20 CA 重复序列与高腰椎、髌、股骨颈、大转子、Ward 三角 BMD

有关,但这种关联只出现于绝经前妇女。Valero^[6]对147名西班牙青年男性和194名女性分析,发现CA重复序列只与青年女性的BMD有关。然而lau等^[5]2005年再次对262名绝经前和269名绝经后中国妇女进行类似研究,却不能重复CA重复序列与BMD的关联性,他分析认为在绝经前妇女中ESR β 可能只是影响和调节ESR α 对BMD的作用,其单独对BMD的贡献还不是很清楚。Riancho等^[17]研究331名西班牙绝经后妇女也得出CA重复序列与BMD无关系的结论。

随着SNPs技术的发展,出现越来越多ESR β 基因SNPs位点与BMD关联分析研究。研究较多的是ESR β 基因中同义突变酶切位点,包括第5外显子中的RsaI(rs 1256049)和第8外显子中的AluI(rs 4986938)。大部分研究均显示RsaI和AluI这两个位点与BMD无关联^[4,5,7,18-20]。而香港大学lau^[5]研究发现对于绝经后妇女RsaI与大转子BMD有关联。2005年Dennison等^[26]进行类似实验,发现AluI位点与女性腰椎、股骨颈BMD相关。Silvestri等^[20]对1098名丹麦绝经后妇女分析发现AluI只与远端前臂骨量丢失有关,而和椎体骨量丢失无关。

由于SNPs基因分型高通量分析技术的发展,多个SNPs位点大样本筛查已经成为可能。Shearman等^[15]开展大规模Framingham临床试验,对795名女性(平均年龄 59.5 ± 9.2 岁)进行ESR β 基因4个多态性位点分析,结果显示在女性中rs 1256031-D 14 S 1026-rs 1256059单体型C-23 A-T与髌、股骨颈、大转子及ward三角BMD有显著意义,而就单个位点来分析并无意义。Ichikawa等^[4]对1291名白种绝经前妇女(平均年龄 33.2 ± 7.1 岁)ESR β 基因的11个SNPs位点进行分析,最后筛选出仅有启动子中rs 3020444位点与绝经前女性腰椎BMD关联,而其他位点与BMD无关系。2006年Rivadempira等^[21]进行了大规模的Rotterdam临床试验,对荷兰3800名女性(年龄 > 55 岁)进行雌激素受体多态性分析,选取ESR β 基因的6个多态性位点,结果显示,rs 1256031-rs 4986938单体型和女性BMD有关,而ESR β 基因与ESR α 基因存在交互作用。最近美国国家妇女健康研究所(SWAN)开展了一个NIH资助项目^[22],对世界各种族的16602妇女(295名非洲,693名白种,151名华人,162名日本)进行雌激素 β 受体基因多态性研究,发现ESR β 多态性位点rs 1256030、rs 1256065和华人女性腰椎、髌BMD有关联,但需要大样本的进一步证实。

近期香港大学lau等^[24]对家族中有低BMD先证者的177个家系中674名成员进行连锁和关联分析,发现ESR β 基因多态性位点RsaI、AluI、D 14 S 1026和腰椎、髌BMD有关联。最新文献报道香港大学Kung等^[25]对散发的752名中国人(年龄 > 40 岁)进行大规模SNPs位点筛选实验,对覆盖整个ESR β 基因的12个SNPs位点和BMD进行关联分析,发现启动子序列中多态性位点T-1213 C与BMD显著相关。

上面主要是关于女性ESR β 基因多态性研究,而对于男性的研究相对较少。在Framingham临床试验^[15]中发现CA重复序列与男性股骨颈BMD有关,而rs 1256031-D 14 S 1026-rs 1256059单体型C-23 CA-T仅和男性ward三角BMD关联。Ichikawa等^[4]研究表明rs 1256112、rs 3020444、rs 1152588和男性腰椎BMD有关。

4 雌激素 β 受体基因多态性与骨量关系的分子机制

ESR β 基因多态性影响骨量的分子机制目前还不是很清楚。可能的解释有以下几种情况:(1)ESR β 基因多态性使得mRNA选择性剪接机制发生改变。ESR β 基因是易发生选择性剪接的基因,其多态性位点常位于内含子或外显子的交接处,常为剪接控制元件^[15]。如果研究的位点是剪接机制控制元件部分,则可直接影响mRNA的剪切、转录和/或蛋白功能。另外当研究的多态性位点与剪接控制元件的位点连锁时,也可间接影响剪接机制改变。在体外实验中可观察到成骨细胞中ESR β 基因选择性剪切可导致受体亲和力下降或消失^[15]。(2)多态性位点与功能性外显子变异直接连锁^[16]。这样可直接引起转录产物的改变,从而影响蛋白功能。(3)多态性位点与BMD相关的相邻基因连锁^[16]。Ichikawa^[4]通过QTL对将BMD相关基因定位染色体14q,但ESR β 基因多态性并不能完全解释14q对BMD的贡献,他推测14q染色体存在其他与BMD相关基因。(4)通过改变雌激素的生物利用度起作用。研究表明^[23]低CA重复序列与高性激素结合蛋白(SHBG)相关。SHBG增加会降低雌激素生物利用度,从而使得游离雌激素水平下降,进而导致低BMD。

综上所述,雌激素 β 受体基因是影响骨量的重要相关基因,其多态性研究将有助于筛选出BMD性状易感基因型,为骨量相关疾病(如骨质疏松症和老

年性骨折等的预防和治疗提供重要依据。目前对于雌激素 β 受体基因研究较少且结果尚存在争议,这就需要一方面对现有研究加大样本量进行证实,另一方面对新的 SNPs 位点进行筛查,以求寻找出与 BMD 密切相关的位点或单体型。另外对于雌激素 β 受体基因影响骨量的分子机制的研究将有助于骨量相关疾病发病机制的深入了解及使分子药物靶向治疗成为可能。

【参 考 文 献】

- [1] Gennari L, Merlotti D, Paola V. Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: A HuGE Review. *Am J Epidemiol*, 2005, 161(4):307-320.
- [2] Yvette MH, Diana F, and Richard E. Attainment of peak bone mass at the lumbar spine, femoral neck and radius in men and women: relative contributions of bone size and volumetric bone mineral density. *Osteoporosis International*, 2004, 15(4):263-273.
- [3] Schoenau E. Bone mass increase in puberty: what makes it happen? *Horm Res*, 2006, 65(S2):S2-S10.
- [4] Ichikawa S, Koller DL, Peacock M, et al. Polymorphisms in the estrogen receptor beta (ESR2) gene are associated with bone mineral density in Caucasian men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(11):5921-5927.
- [5] Lau HL, Ng MY, Ho AY, et al. Genetic and environmental determinants of bone mineral density in Chinese women. *Bone*, 2005, 36(4):700-709.
- [6] Valero CF, Zarrabeitia MT, Hernandez JL, et al. Bone mass in young adults: relationship with gender, weight and genetic factors. *J Intern Med*, 2005, 258(6):554-562.
- [7] Arko BF, Prezelj J, Komel RF, et al. No major effect of estrogen receptor beta gene RsaI polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2002, 81(2):147-152.
- [8] Ralston SH, Crombrugge B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Genes Dev*, 2006, 20(18):2492-2506.
- [9] Bord SF, Horner AF, Beavan SF, et al. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(5):2309-2314.
- [10] Sims NA, Dupont S, Krust A, et al. Deletion of estrogen receptors reveals a regulatory role for estrogen receptors-beta in bone remodeling in females but not in males. *Bone*, 2002, 30(1):18-25.
- [11] Saxon LK, Turner CH. Estrogen receptor beta: the antimetastat? *Bone*, 2005, 36(2):185-192.
- [12] Mosselman S, Polman J, Dijkema R, et al. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett*, 1996, 391(1):49-53.
- [13] Karasik D, Myers RH, Cupples LA, et al. Genome Screen for Quantitative Trait Loci Contributing to Normal Variation in Bone Mineral Density: The Framingham Study. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(9):1718-1727.
- [14] Ogawa SF, Hosoi TF, Shiraki MF, et al. Association of estrogen receptor beta gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 269(2):537-541.
- [15] Shearman AM, Karasik D, Gruenthal KM, et al. Estrogen Receptor β Polymorphisms Are Associated With Bone Mass in Women and Men: The Framingham Study. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(5):773-781.
- [16] Lau HH, Ho AY, Luk KD, et al. Estrogen receptor beta gene polymorphisms are associated with higher bone mineral density in premenopausal, but not postmenopausal southern Chinese women. *Bone*, 2002, 31(2):276-281.
- [17] Riancho JA, Zarrabeitia MT, Valero C, et al. A gene-to-gene interaction between aromatase and estrogen receptors influences bone mineral density. *Eur J Endocrinol*, 2006, 155(1):53-59.
- [18] Khosla S, Riggs BL, Atkinson EJ, et al. Relationship of Estrogen Receptor Genotypes to Bone Mineral Density and to Rates of Bone Loss in Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(4):1808-1816.
- [19] Efstathiadou Z, Koukoulis G, Stakias N, et al. Correlation of estrogen receptor beta gene polymorphisms with spinal bone mineral density in peri- and post-menopausal Greek women. *Maturitas*, 2006, 53(4):380-385.
- [20] Silvestri S, Thomsen AB, Gozzini A, et al. Estrogen receptor alpha and beta polymorphisms: is there an association with bone mineral density, plasma lipids, and response to postmenopausal hormone therapy? *Menopause*, 2006, 13(3):451-461.
- [21] Rivadeneira F, van Meurs JB, Kant J, et al. Estrogen receptor beta (ESR2) polymorphisms in interaction with estrogen receptor alpha (ESR1) and insulin-like growth factor I (IGF1) variants influence the risk of fracture in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(9):1443-1456.
- [22] Greendale GA, Chu J, Ferrell R, et al. The association of bone mineral density with estrogen receptor gene polymorphisms. *Am J Med*, 2006, 119: S79-S86.
- [23] Westberg L, Baghaei F, Rosmond R, et al. Polymorphisms of the Androgen Receptor Gene and the Estrogen Receptor β Gene Are Associated with Androgen Levels in Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(6):2562-2568.
- [24] Lau HH, Ng MY, Cheung WM, et al. Assessment of linkage and association of 13 genetic loci with bone mineral density. *J Bone Miner Metab*, 2006, 24(3):226-234.
- [25] Kung AW, Lai BM, Ng MY, et al. T-1213C polymorphism of estrogen receptor beta is associated with low bone mineral density and osteoporotic fractures. *Bone*, 2006, 39(5):1097-1106.
- [26] Dennison E, Syddall H, Fall C, et al. Evidence of sexual dimorphism in relationships between estrogen receptor polymorphisms and bone mass: the Hertfordshire study. *J Rheumatol*, 2005, 32(12):2400-2404.
- [27] Scariano JF, Simplicio SG, Simplicio SF, et al. Estrogen receptor beta dinucleotide (CA) repeat polymorphism is significantly associated with bone mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74: 501-508.