

陕西关中人群骨质疏松性骨折与雌激素受体 β 基因的关联分析

王金堂 武世勋 张宏

中图分类号: R681.6R683 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)10-0721-07

摘要:目的 探讨骨质疏松性髋部骨折(OHF)与雌激素受体 β (ER- β)基因多态性的相关性。方法 采用群体关联分析的方法,对来自陕西关中人群的 400 例骨质疏松性髋部骨折患者和 400 例正常对照进行 3 个单核苷酸多态性(SNP)位点和单体型病例对照研究。结果 共 700 个个体分型成功, haploview 关联分析的结果表明 rs7154455, rs960070 的多态性对骨折有影响,单体型分析的结果表明, ER- β 单体型 GGT 和 CCT 与骨折存在关联。结论 ①ER- β 基因和我们所研究的陕西关中汉族群体的 OF 发病率关联;②ER- β 基因可能对中国陕西关中汉族人群髋部 OF 发病率的变化起到影响。

关键词: 骨质疏松症; 雌激素受体 β 基因; 单核苷酸多态性; 单体型; 骨折

doi: 10.3969/j.issn.1006-7108.2009.10.002

Association analysis of estrogen receptor- β gene polymorphisms with osteoporotic fracture in a large sample of Shanxi Guanzhong WANG Jintang, WU Shixun, ZHANG Hong. Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, Medical School, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between Osteoporotic hip fracture(OHF) and estrogen receptor- β (ER- β) gene polymorphisms. **Methods** We used the method of association analysis to study the crowded who come from Shanxi Guanzhong, include 400 samples who suffer osteoporotic hip fracture and 400 samples who were normal as control, to study the case-control study of three Single nucleotide polymorphisms (SNP) sites and haplotype. **Results** 700 samples were successfully genotyped. Association analysis showed that rs7154455, rs960070 and GGT and CCT of ER- β were associated with hip osteoporotic fracture. **Conclusions** Gene of ER- β has association with the incidence of osteoporosis fracture of the crowded which we study from Shanxi Guanzhong. Gene of ER- β may have influence on indication of osteoporotic hip fracture of the crowded from Shanxi Guanzhong area in China.

Key words: Osteoporosis; Estrogen receptor- β gene; Single nucleotide polymorphisms; Haplotype; Fracture

骨质疏松症(OP)是种严重危害老年人健康的代谢性骨病,其中髋部骨折的致残率和死亡率极高,造成了很大的社会负担,大大缩短了患者的预期寿命。我国中老年人骨量减少的患病率为 38.5%^[1],人们已经对骨质疏松进行了大量的探讨,亦积累了不少宝贵经验。但以往的研究表型多集中在骨密度和骨形态,对骨质疏松性骨折缺乏直接研究。本研究随机选取 800 个髋部骨质疏松性骨折的老年患者和健康老人作为对象,在排除了继发性骨质疏松症

及其他引起骨强度改变的因素后,直接以骨质疏松性骨折做为研究表型,对雌激素受体 β 基因的 3 个 SNP 进行了分型实验。根据分型结果,我们利用 Haploview 进行了单体型识别,以探讨骨质疏松性骨折决定基因 ER- β 上候选基因位点与骨质疏松性骨折的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

所有样本来自中国陕西关中地区,为 1 组随机抽取的髋部骨质疏松性骨折的老年汉族患者。均自愿参加加入本研究且签署了知情同意书。DNA 提取所用的试剂盒(百泰克生物公司),TaqMan 通用 PCR

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30570875)

作者单位:710061 西安 西安交通大学第一附属医院骨科(王金堂、武世勋),西安唐城医院骨科(张宏)

通讯作者:王金堂,Email: aids610610@yahoo.com.cn

扩增预混试剂(美国 ABI 公司)、单核苷酸多态性基因分型试剂(美国 ABI 公司)、紫外分光光度计(德国 Eppendorf 公司)、MicroAmp 光学 384 孔反应板(美国 ABI 公司)、HT7900 实时定量 PCR 仪器(美国 ABI 公司)、5810R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)、Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司)、WH-2 微型漩涡混合器(上海沪西分析仪器厂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 ①在装有 10 mL 抗凝全血的离心管中加入 30 mL 红细胞裂解液,室温放置 10 min ; ②4000 rpm 离心 10 min ,弃红色上清后留下完整的管底白细胞团和大约 50 μ L 的残留上清(若离心裂解很不充分,应该重复 1、2 步骤。)③涡旋振荡重悬后充分分散白细胞团;④加入 10 mL 细胞核裂解液到重悬的白细胞,涡旋振荡几秒混匀以裂解白细胞,立刻停止吹打,颠倒旋转离心管;⑤加入蛋白沉淀液,在涡旋振荡器上高速连续振荡混匀;⑥4000 rpm 离心 10 min ;⑦用枪头将中间层的 DNA 液吸取到含 10 mL 异丙醇的离心管中并轻轻混匀;⑧将 DNA 吸

取到 Eppendorf 离心管,用酒精清洗后离心,去除酒精、干燥;⑨干燥后加入 100 μ L DNA 溶解液,脱色摇床上混匀 24 h ;⑩DNA 液于 -70℃ 以下保存。

1.2.2 DNA 点样及准备反应板 ①DNA 稀释:测定 DNA 的浓度,用无菌水稀释 DNA 至 20 ng/2.25 μ L。②准备反应预混试剂:每个反应孔的反应预混试剂的体积为 2.75 μ L。③点样:吸取 2.75 μ L 的反应预混试剂对应加入 384 反应板中的反应孔中;1~21 号孔中,A 至 C 依次加入 3 种 SNP 对应的反应预混试剂。吸取 2.25 μ L 的溶液加入指定反应孔:反应孔 1~20(A 至 M)加入对应的样本 DNA,21(A 至 M)加入无菌水。21(A 到 M)为无模板对照(NTC),即不包含模板的样本。NTC 显示背景信号并用作阴性对照。整个点样的过程都在冰上进行,每个反应孔的最终体积均为 5 μ L。④完成点样后,用平板高透光度盖膜覆盖反应板,1000 rpm 离心 2 min,在微型漩涡混合仪上点振,再 1000 rpm 离心 2 min,消除反应板孔中气泡。将反应板装入 HT7900 中。

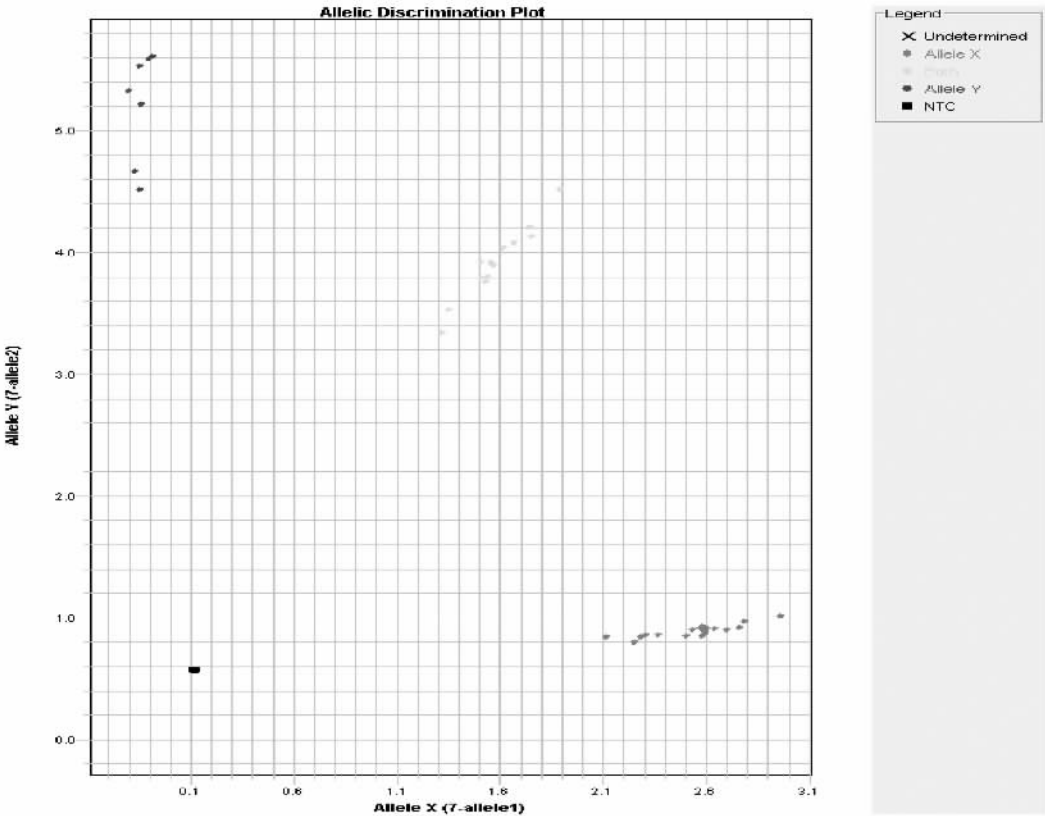


图 1 某 DNA 样本 SNP 的等位基因自动分型结果示意图

注 ①图谱的右下角为等位基因 1 的纯合;②图谱的左上角等位基因 2 的纯合;③位于等位基因 1 与 2 纯合之间等位基因 1 和 2 的杂合;④图谱的左下角无模板对照(NTC)

1.2.3 创建绝对定量(AQ)反应板文件:为 DNA 样

本创建一个 AQ(绝对定量)反应板文件,将探针添加

到反应板文件中 ,为每个反应孔指定探针、报告基因和任务。等位基因 1 的报告基因为 VIC ,等位基因 2 的报告基因为 FAM。空白对照的任务选定为 NTC ,所有未知样品的任务则为 Unknown。

1.2.4 执行扩增程序 :按 HT7900 实时定量 PCR 仪器的操作说明进行。

1.2.5 读取扩增后荧光信号 :为 DNA 样本创建一个 Allelic Discrimination(等位基因鉴别)反应板文件 ;步骤基本同创建 AQ 文件。最后单击 Post ~ Read ,开始读取扩增后荧光信号。读取过程结束后 ,选择 Result 选项卡。HT7900 自动对 SNP 位点的等位基因进行分型。

1.2.6 SNP 位点基因型的判断 :一般直接采用自动分型的结果 ,但是当手动点样致使孔中经常会残留气泡或者 DNA 样本的纯度太低而影响分型效果时 ,自动分型无法判断 ,此时必须参考扩增曲线 ,手动分型确定结果。

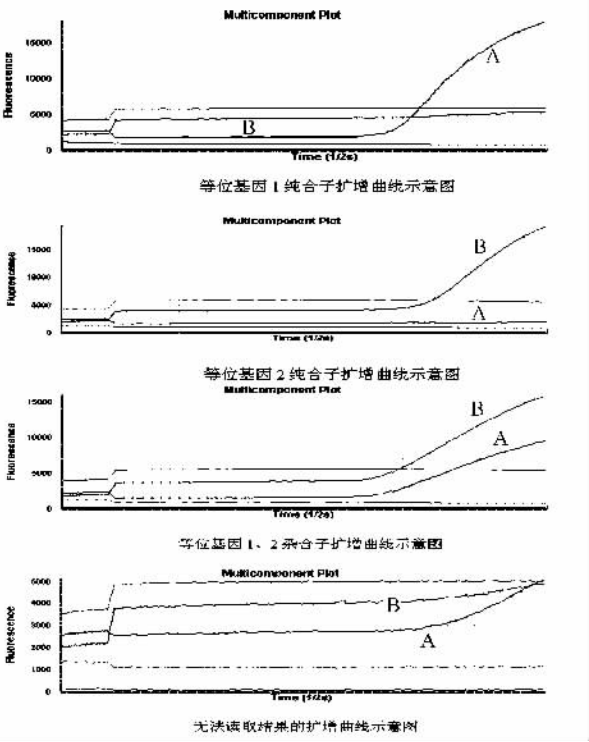


图 2 ER-β 等位基因扩增曲线示意图

注 ①图中起伏的 A 代表 VIC 荧光信号 ,B 代表 FAM 荧光信号。图中如果只有 VIC 信号强度明显上升 ,则为等位基因 1 的纯合子 ,如果只有 FAM 信号强度明显上升 ,则为等位基因 2 的纯合子。如果 VIC ,FAM 信号强度均明显上升 ,则可判断为等位基因 1 2 的杂合子。如果两种信号强度不明显时 ,仍然无法判读时 ,则这个样本的这个 SNP 位点需要重新分型。②依靠扩增曲线读取数据 ,具有较大的主观性 ,所以我们点样时应特别小心 ,尽量保证仪器可以自动读取分型结果

2 结果

2.1 实验结果

2.1.1 分型结果 :共有 700 例分型成功。如表 1 所示。

表 1 分型结果

ID	% Geno ⁽¹⁾	MAF ⁽²⁾	M. A. ⁽³⁾
rs7154455	98.9	0.225	C
rs17226046	99.2	0.099	C
rs960070	91.3	0.232	C

注 ①% Geno :SNP 分型成功率 ;②MAF :Minor Allele Frequency ,最小等位基因频率 ;③M. A. :最小等位基因

2.1.2 利用 haploview 进行单体型识别和关联分析

(1)研究样本的基本信息 :所有的分析均在 haploview 中进行。分型成功的样本基本信息见表 2。

表 2 样本基本信息

	年龄 (岁)	性别	人数	体重 (kg)	身高 (cm)	年龄均值
OF 患者	55 ~ 65	M	23	56	165	62.2
		F	36	57	163	61.7
	66 ~ 75	M	64	55	162	70.4
		F	84	63	161	71.3
	76 ~ 85	M	56	58	160	79.2
		F	74	60	157	78.8
	86 ~	M	6	62	155	88.6
		F	9	59	153	89.1
	年龄 (岁)	性别	人数	体重 (kg)	身高 (cm)	年龄均值
对照组	55 ~ 65	M	29	66	167	60.2
		F	33	63	163	61.4
	66 ~ 75	M	66	64	164	69.4
		F	75	67	163	70.7
	76 ~ 85	M	58	65	160	80.2
		F	71	69	158	78.3
	86 ~	M	6	70	159	87.5
		F	10	69	154	88.6

(2) Haploview 识别单体型的基本原理 :本研究利用 Haploview 识别单体型。Haploview 是从最初的基因型数据中得出连锁不平衡的计算结果和人群的单体型模式的强有力的工具。① Hardy-Weinberg 平衡 :Hardy-Weinberg 平衡 (HWE)是指 :假设一个基因座上有 2 个等位基因 A 和 a ,等位基因 A 的频率为 p ,等位基因 a 的频率为 q ,如果某个群体中 ,基因型 AA ,Aa ,aa 的频率为 p^2 , $2pq$, q^2 ,那么则称该群体达

到 Hardy-Weinberg 平衡。在此状态下,基因型频率完全取决于等位基因的频率。在本研究中我们只对达到 HWE 的 SNP 位点进行单体型识别。⑥ Haploview 识别单体型的原理:Haploview 在通过计算排除不符合 Hardy-Weinberg 平衡的 SNP 和分型成功率小于 50% 的个体。Haploview 计算出两两 SNP 之间的 D' 值,并依据 D' 与预先所确定的域值范围的关系划分出染色体上单体域。然后,以群体处于 Hardy-Weinberg 平衡状态为假设前提,Haploview 采用 EM 算法进行样本单体型频率的最大似然估计,它可以直接求得单体型频率。

(3) 单体型识别和关联分析:将分型实验得到的基因型数据整理成 Haploview 所能识别的文件类型,然后进行 Haploview 识别单体型。① info 文

```
rs6557192      152464656
rs6930355      152463505
rs1884152      152469294
rs1884051      152375393
rs1569788      152420730
rs3020314      152362786
rs3778089      152485875
```

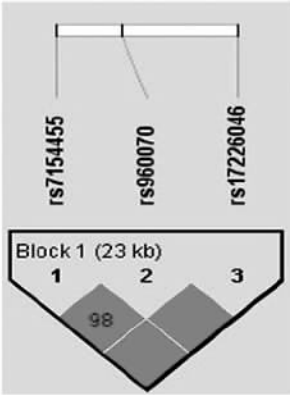
(a) info文件

```
(rs682429, rs312014)
5.6 kb
D': 0.976
LOD: 247.16
r-squared: 0.897
D' conf. bounds: 0.95-0.99
Frequencies:
GC = 52.3%
GG = 0.6%
AG = 45.1%
AC = 2.1%
```

(c) SNP之间的连锁不平衡数值

件 两列信息,第一列是 SNP 的 id,第二列是各个 SNP 在染色体上的位置(图 3(a))。② Ped 文件:主要记载样本的基本信息和基因型信息。③ 单体型识别:将文件载入 Haploview,即可以自动生成分析结果。载入 ER- β 的 info 和 ped 文件进行运算。④ 本研究中,序号为 3、8、10 的 SNP 因为不符合 Hardy-Weinberg 平衡而被排除。根据所选定的阈值,生成的连锁不平衡图谱如图 3(b)所示:右击图 3(b)中的方格可出现如图 3(c)的数值图:该图列出了两两 SNP 之间的 D' 、 r^2 值和 D' 的置信区间。 r^2 值越高,对应的连锁不平衡图中方格的颜色越深。本研究中,Haploview 从 ER- β 的所有 SNP 中划分出两个单体域。

生成的单体型图如图 3(d)所示:



(b) ER β 连锁不平衡图



(d) ER β 单体型图

图 3 单体型识别和关联分析

注:图内显示了 ER- β 基因的的单体型、每个单体型在人群内所占的频率以及单体域之间的关系。交叉点处的多等位基因的 D' 值显示了两个单体域的重组水平(这里的只计算图中所显示的单体型之间的 D' 值,因此效力不高)。单体型上面是 SNP 的序号

2.2 统计分析结果

2.2.1 SNP 位点统计分析结果:本研究主要在 700 个陕西关中汉族人群中对 ER- β 基因的 3 个 SNP 位点进行分型,统计分型结果,并且对分型结果进行了初步的统计学分析。首先我们采用自由度为 1 的 χ^2 检验验证 SNP 位点是否达到 HWE,结果发现以

下 SNP 位点达到 HWE:rs7154455,rs960070。没达到 HWE 的原因有^[2]:非随机婚配、遗传漂移、群体分层等。如果可以判断导致不平衡的原因,我们还有可能对结果进行校正。多位点分子标记的方法已经可以用来发现群体分层^[3]。如果研究中包含不平衡的 SNP 和全为 HWE 的 SNP,若两者的结果

一致 ,表明结果是稳定的 ,但是如果不一致 ,则没有包含不平衡的 SNP 位点的研究结果将更为有效^[4]。

2.2.2 利用 haploview 进行关联分析的结果 :利用 haploview 进行关联分析的结果表明上面 2 个达到 HWE 的 SNP 位点在 2 组人群中的差异具有统计学意义($P < 0.05$) ,其中基因位点 Rs960070 在 2 组中具有统计学显著性差异($P < 0.01$) ,ER- β 基因位点多态性对骨质疏松性骨折有影响。

表 3 haploview 关联分析结果

gene	ID	MAF ⁽²⁾	M. A. ⁽³⁾	<i>P</i> value
ER- β	rs7154455	0.225	G/C	0.0395
	rs960070	0.232	G/C	0.0071
	rs17226046	0.099	T/C	0.6527

注 ① P 值小于 0.05 的以斜体显示。②haploview 关联分析的结果表明 ,rs7154455 ,rs960070 的多态性对骨折有影响

2.2.3 利用 haploview 进行的单体型关联分析结果 :由于本研究中 ER- β 基因的单体型都有两个或者两个以上的 SNP 组成 ,单个 SNP 与骨折不存在关联不代表不同的单体型对表型没有影响。可能 SNP 之间不同的组合方式会对表型产生影响。所以有必要分析每个单体型不同的单体型与 OF 之间的相关性。利用 haploview 进行的单体型关联分析结果见表 4。

表 4 ER- β 单体型关联分析结果($\bar{x} \pm s$)

	SNPs	htSNP	Freq.	<i>P</i> Value
Block 1	1 ~ 3	1 2 3		
GGT			0.648	0.0453
CCT			0.226	0.0338
GGC			0.099	0.6758
GCT			0.025	0.2834

利用 haploview 进行的单体型关联分析结果表明 ,ER- β 单体型 GGT 和 CCT 都与骨折存在关联 ,在病例组和对照组中的差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

1994 年 Morrison 等^[5]对维生素 D₃ 受体基因的多态性进行了研究 ,发现骨质疏松与遗传因素有关 ,二者之间的关系从而受到人们的重视。现认为骨质疏松症是受多基因调控的疾病 ,目前国内外研究较多的主要有维生素 D 受体(VDR)基因、雌激素受体(ER)基因、I 型胶原 α 1(COL-1 α 1)基因、甲状旁腺素(PHT)基因、白细胞介素(IL)基因、护骨素(OPG)基

因等。

本研究以骨质疏松性骨折做为研究表型 ,采用关联分析的方法 ,对 ER- β 基因的 3 个 SNP 进行了分型实验。根据分型结果 ,我们利用 Haploview 进行了单体型识别 ,以探讨 ER- β 基因上候选位点与骨质疏松性骨折的关系。

3.1 雌激素受体与骨代谢

1988 年首次发现成骨细胞和骨细胞均有雌激素受体 ,从而证明雌激素能直接作用于成骨细胞 ,促进骨的形成 ,抑制骨的吸收。人的骨密度增加在 30 ~ 40 岁达峰值 ,以后随年龄增加而骨量渐渐降低。妇女绝经后骨量丢失速度最快 ,说明雌激素对维持骨量起着非常重要的作用^[6] ,临床观察已经证实 ,绝经后 ,骨量丢失速度加快 ,补充雌激素后 ,骨量丢失受到有效的抑制^[7]。1988 年以前 ,人们一直认为雌激素对骨起间接作用 ,后 Komm 等^[8]在成骨细胞中发现雌激素受体 ,明确了雌激素对骨细胞的直接作用 ;1990 年 Penlser 等^[9]又在破骨细胞上发现雌激素受体 ,更加明确了雌激素与骨细胞的直接作用关系。为了阐明雌激素在骨代谢中的作用机制 ,人们对骨细胞、成骨细胞和破骨系细胞进行了多方面的研究 ,取得了较大的进展 ,发现在成骨细胞中雌激素受体依赖于细胞周期。还发现除骨细胞以外 ,雌激素对其他组织细胞 ,尤对产生细胞因子的细胞的作用 ,间接对绝经后骨代谢产生重要影响。最近的一项人群研究显示 ,雌激素对与维持骨代谢的稳定是必需的 ,这种作用和位于细胞质和细胞核中的特定的雌激素受体相关^[10]。

3.2 雌激素受体结构与功能

人体中的雌激素受体包括 ER- α 和 ER- β 。ER- α 是骨骼中主要的雌激素受体 ,对于骨转换和维持骨量有显著作用。最近在骨骼中发现的 ER- β 的作用仍不清楚 ,但在不同的体外和体内研究中发现 ,ER- β 能够通过形成异源二聚体抑制 ER- α 的转录激活 ,然而在缺乏 ER- α 时 ,ER- β 能部分替代它的作用^[11]。雌激素受体基因及其表现型存在着多样性 ,包括氨基酸上的多态性、突变及在 mRNA 水平上检测到的同工型。雌激素受体是一种核内受体 ,也有雌激素结合域和 DNA 结合域 ,雌激素与其受体结合后形成二倍体 ,经过与包括热休克蛋白等多种核内蛋白质的相互作用 ,与 DNA 分子上特定的部位-雌激素受体反应元件(estrogen responsive element ,ERE)结合 ,使近端基因在转录水平上活化 ,产生基因产物^[12]。

3.3 雌激素受体 β 基因多态性

1998 年 Tsukamoto 等^[13]描述了日本人群中 ER- β 内含子 5 的 CA 双核苷酸的高度多态性,认为有 26 个 CA 重复序列等位基因的绝经后妇女的腰椎骨密度较高。后来对墨西哥人^[14]的一项队列研究也证实 CA 重复序列多态性和骨密度相关,但结论并不相同,认为绝经前妇女中有 20 个 CA 重复序列的人有较高的 BMD,而绝经后妇女中没有观察到这种现象,提示 CA 重复序列可能和峰量骨值的获得有关而非骨量减少的标志。后来系统性的突变筛查又发现了几个不同的变异序列,第一个是外显子 7 上的 T1421C,第二个是外显子 5 配体结合域上的 G1082A,两者均为无义突变。第三个是外显子 8 的 3'端非编码区上的 A1730G 单核苷酸多态性。这种多态性的作用机制尚不清楚,但已经发现高加索人群和亚洲人群的基因型分布不同。最近在非洲人群中发现了 5 个新的多态性,其中有 3 个(C143T in exon 1, A566T in exon 2, and T1100G in exon 5)为无义突变。其他两个可以翻译为 ER- β 上的氨基酸序列,第一个是外显子 1 的 A105G 单核苷酸多态性,其第三个位置上的异亮氨酸转化为缬氨酸,第二个是外显子 5 的 T1057G 单核苷酸多态性,其第 320 个位置上的缬氨酸转化为甘氨酸,这两个序列均参与组成 ER- β 配体结合域的第 4 个螺旋^[15]。

3.4 雌激素受体 α (ER- β) 基因多态性在男性与女性骨质疏松中的地位

首先,ER α 和 ER β 在同一个个体的组织分布上存在明显的差异。ER β 在组织分布上也可能存在性别差异,ER α 也是如此。而且许多研究是基于动物,实验结果不能直接推广于人类。其次,ER α 和 ER β 的表达与骨矿物质密度之间存在着复杂关系,两者共同参与雌激素的骨保护效应,其中 ER α 为主要介导者,ER β 与之存在着竞争而互补的关系。也有人^[16]认为 ER α 比 ER β 在激活基因转录上作用显著,而 ER β 在抑制基因转录上比 ER α 作用强。雌激素受体 β 的发现比 α 晚 10 年,其研究不如雌激素受体 α 广泛和深入。目前尚未见到雌激素受体 β (ER- β) 基因多态性在骨质疏松中的作用的性别差异的报道。雌激素受体 β (ER- β) 基因多态性在男性和女性骨质疏松中的地位目前难以确定,这也是今后我们研究工作中的一个重要努力方向。

我们的研究结果表明,位点 rs7154455,rs960070 与髌部骨质疏松性骨折相关,这证明 ER- β 基因在调节骨代谢方面起了重要的作用。研究结果表明 ER- β 基因和陕西关中汉族群体的 OF 发病率关联。ER-

β 基因可能对中国陕西关中汉族人群髌部 OF 发病率的变化起到影响。但具体作用机制及易感人群等方面仍不清楚,而且外伤作用具有偶然性,可能会影响本研究的结果,我们将对之更加深入研究。

【参 考 文 献】

- [1] Rob J, Van TH, Stuart H. Nitric oxide and bone. *Immunology*, 2001, 103: 2552-2611.
- [2] Ammarin Thakkinstian, Patrick M, et al. A Method for meta-analysis of molecular association studies. *Statistics in Medicine*, 2005, 24: 1291-1306.
- [3] Reich DE, Goldstein DB. Detecting association in a case-control study while correcting for population stratification. *Genetics and Epidemiology*, 2001, 20: 4-16.
- [4] Balding DJ. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat Rev Genet*, 2006, 7(10): 781-791.
- [5] Morrison NA, George PM, Vaughan T, et al. Vitamin D receptor genotypes influence the success of calcitriol therapy for recurrent vertebral fracture in osteoporosis. *Pharmacogenet Genomics*, 2005, 15(2): 127-135.
- [6] Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev*, 1994, 15: 275-300.
- [7] Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, et al. Relationship of serum sex steroid levels to longitudinal changes in bone density in young versus elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86: 3555-3561.
- [8] Bodine PV, Harris HA, Komm BS. Suppression of ligand-dependent estrogen receptor activity by bone-resorbing cytokines in human osteoblasts. *Endocrinology*, 1999, 140(6): 2439-2451.
- [9] Pensler JM, Patel PK, Langman CB. Osteoblast-directed osteoclast metabolism from patients with premature coronal synostosis. *Plast Reconstr Surg*, 1997, 99(6): 1518-1521.
- [10] Grundberg E, Akesson K, Kindmark A, et al. The impact of estradiol on bone mineral density is modulated by the specific estrogen receptor-alpha cofactor retinoblastoma-interacting zinc finger protein-1 insertion/deletion polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(6): 2300-2306.
- [11] Lindberg MK, Moverare S, Skrtic S, et al. Estrogen receptor (ER)-beta reduces ERalpha-regulated gene transcription, supporting a "ying yang" relationship between ERalpha and ERbeta in mice. *Mol Endocrinol*, 2003, 17: 203-208. Bibliographic Links Library Holdings.
- [12] Ciana P, Scarlatti F, Biserni A, et al. The dynamics of estrogen receptor activity. *Maturitas*, 2006, 54(4): 315-320.
- [13] Tsukamoto K, Inoue S, Hosoi T, et al. Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J Hum Genet*, 1998, 43: 73-74.
- [14] Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, et al. Association of the CT gene (CA) polymorphism with BMD in osteoporotic Mexican women. *Clin Genet*, 2006, 70(5): 402-408.

(上接第 726 页)

- [15] Zhao C , Xu L , Otsuki M , et al. Identification of a functional variant of estrogen receptor beta in an African population. *Carcinogenesis* , 2004 ,25 :2067-2073.
- [16] An J , Ribeiro RC , Webb P , et al. Estradiol repression of tumor

necrosis factor-alpha transcription requires estrogen receptor activation function-2 and is enhanced by coactivators. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1999 ,96 :15161-15166.

(收稿日期 :2009-06-02)