

• 论 著 •

长春市汉族人群 COL1A1 启动子区多态性与骨质疏松症的相关性

张萌萌 李强 卢颖 高堃 高远

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2010)08-0547-04

摘要: 目的 研究长春市汉族人群 I 型胶原 $\alpha 1$ 链基因 (COL1A1) 启动子区 -1997G/T、+1245G/T 多态性及其与骨质疏松的关系。方法 (1) 抽取受试人群外周静脉血 5 ml, 提取血清 DNA。(2) 应用实时荧光定量 PCR 仪扩增目的基因的 DNA 片段。(3) 采用 TaqMan 探针法对 -1997G/T 及 +1245G/T 位点进行等位基因鉴别。(4) 应用双能 X 线骨密度仪测定骨密度 (BMD), 将 374 例受试人群分为骨密度正常、骨质疏松、骨质疏松性骨折 3 组。结果 长春市汉族正常人群 COL1A1 -1997G/T 转换中, GG 基因型占 38.40%, GT 基因型占 46.38%, TT 基因型占 15.22%, 以 GT 基因型为主; 骨质疏松患者女性 GG 等位基因型所占比例大于男性, GG 基因型占 44.39%, GT 基因型占 43.37%, TT 基因型占 12.24%; 骨质疏松骨折患者 GG 基因型为主, 占 47.50%, GT 基因型占 35.00%, TT 基因型占 17.50%。骨质疏松组女性 GG 基因型 BMD 低于 GT、TT 基因型, 但差异无统计学意义 (P 均 >0.05); 骨质疏松骨折组女性 GG 基因型 BMD 显著低于 GT、TT 基因型 (P 均 <0.05)。COL1A1 +1245 位点 G/T 转换, 在正常人群中发现 GT 杂合型 2 例, 占总数的 0.53%, 其余均为 GG 基因型。结论 COL1A1 -1997G/T 转换中正常人群以 GT 基因型为主, 骨质疏松患者和骨质疏松骨折患者以 GG 基因型为主。骨质疏松患者和骨质疏松性骨折患者女性 GG 基因型 BMD 均低于 GT、TT 基因型。COL1A1 -1997G/T 与 BMD 显著相关, +1245G/T 与 BMD 无相关性。

关键词: I 型胶原基因 $\alpha 1$ 链; 多态性; 骨质疏松; 相关性

The relationship between polymorphism in promoter region of COL1A1 and osteoporosis of Han nation in Changchun city ZHANG Mengmeng, LI Qiang, LU Ying, et al. Bone Metabolism Research Lab, The Fourth Hospital in Jilin University, Changchun 130011, China

Corresponding author: ZHANG Mengmeng, Email: zhmm5866@163.com

Abstract: Objective To study -1997G/T、+1245G/T polymorphism of COL1A1 gene of Han nation in Changchun city and explore their correlation with Osteoporosis. **Methods** (1) To collect venous blood 5 ml and abstract DNA of serum. (2) To amplify the DNA by real-time PCR system. (3) To indentificate the polymorphism of -1997G/T and +1245G/T allele gene in COL1A1 by the TaqMan probes. (4) To measure bone mineral density of them by using DTX-200 detector, the 374 persons were divided into three groups: group normal、group osteoporosis and group osteoporosis fracture. **Results** In the transformation of -1997G/T allele gene of COL1A1, Genotype GT was major in normal group, genotype GT was 46.38%, genotype TT was 15.22%, and genotype GG was 38.40%. Genotype GG in female was more than that in male in osteoporosis group. Genotype GG was 44.39%, genotype GT was 43.37%. Genotype GT was 35.00%, and genotype TT was 17.50% in osteoporosis fracture group. The BMD of genotype GG of female was less than those of genotype GT and TT of female in osteoporosis group and osteoporosis fracture group, but their differences in osteoporosis group were not obvious (all $P > 0.05$), while those in osteoporosis fracture group were obvious (all $P < 0.05$). The transformation of +1245 allele gene of COL1A1 was indentificated in the three groups, two cases of genotype GT were found, and the rest was genotype GG.

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(200805119)

作者单位: 130011 长春, 吉林大学第四医院

通讯作者: 张萌萌, Email: zhmm5866@163.com

Conclusion Genotype GT is major in -1997 allele gene of COL1A1 of the group normal, while genotype GG is major in osteoporosis group and osteoporosis fracture group. The BMD of carriers with genotype GG of female are lower than those of genotype GT and genotype TT of female in osteoporosis group and osteoporosis fracture group. The genotypes in -1997 allele gene of COL1A1 are correlated significantly with the BMD. The genotypes of the +1245 allele gene of COL1A1 is not correlated with BMD.

Key words: COL1A1; Polymorphism; Osteoporosis; Relationship

近年来的研究表明^[1],除维生素 D 受体基因,雌激素受体基因与 OP 密切相关外,I 型胶原(COL1A1)被认为是调节骨量的重要候选基因。而 COL1A1 启动子区 -1997G/T、+1245G/T 被认为新的多态性位点^[2]。本文报道了长春市 374 例汉族人群 COL1A1 -1997G/T、+1245G/T 多态性研究结果,并分析其与骨质疏松的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2007 年 6 月~2009 年 12 月吉林大学第四医院健康体检及门诊就诊的长春市汉族人群,共 374 例,年龄在 34~82 岁之间,平均年龄为 66.7 ± 7.7 岁。排除严重肝、肾疾病、甲状旁腺机能亢进、糖尿病、类风湿等疾病患者。排除长期应用皮质激素、雌激素、双膦酸盐、降钙素、活性维生素 D₃ 等药物者。根据 WHO 骨质疏松诊断标准分为正常人群(138 例)、骨质疏松(196 例)、骨质疏松性骨折(40 例)共 3 组。

1.2 实验仪器及试剂

实时荧光定量 PCR (7500 Real-Time PCR System, 美国应用生物公司);血清 DNA 提取试剂盒由美国应用生物公司提供;引物及探针由美国应用生物公司代设计合成;骨密度仪(DTX-200, 美国 Osteometer Medi Tech 公司)。

1.3 方法

1.3.1 提取血清 DNA: 抽取 374 例受试人群外周静脉血 5 ml,离心分离血清。采用美国应用生物公司生产的血清 DNA 提取试剂盒,严格遵守操作说明提取 DNA。

1.3.2 等位基因分型: 采用实时荧光定量 PCR 对样本 DNA 进行扩增;采用 TaqMan 探针法对 COL1A1 -1997G/T 及 +1245G/T 位点进行等位基因的鉴别。

1.3.3 骨密度测定: 采用 DTX-200 型骨密度仪检测受试者非受力侧前臂桡、尺骨远端三分之一处骨密度(BMD);每次开机后均用模体校正,测量误差小于 0.5%。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 软件对 3 组受试人群的 COL1A1 -1997/+1245 位点基因型及 BMD 进行统计分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

正常人群、骨质疏松组、骨质疏松性骨折组 COL1A1 -1997 位点基因型分布见表 1;COL1A1 +1245 位点基因型见图 1、图 2;COL1A1 -1997 位点基因型别与 BMD 相关性见表 2。

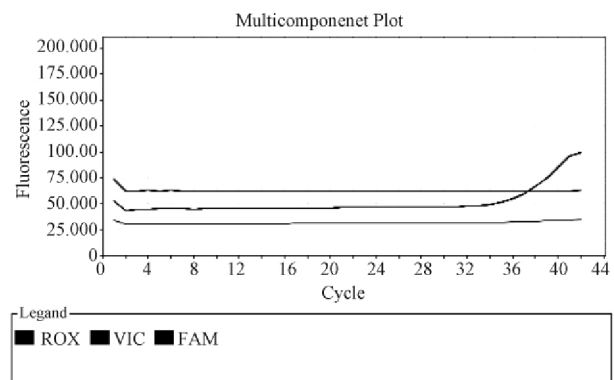


图 1 COL1A1 +1245 基因型 GG

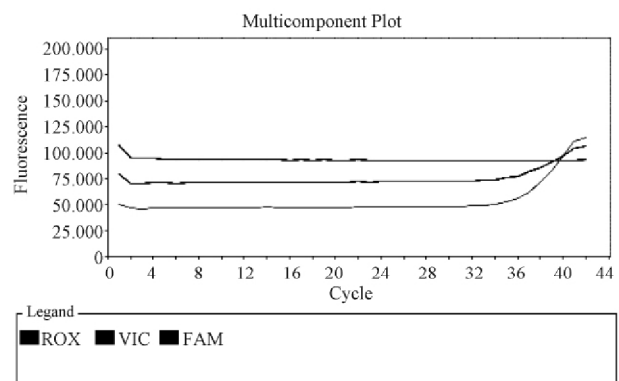


图 2 COL1A1 +1245 基因型 GT

正常人群 COL1A1 -1997G/T 转换以 GT 基因型为主,GG 大于 TT,同性别间不存在差异,无统计学意义。骨质疏松组女性 GG 等位基因型大于男性。男性 3 种基因型 BMD 不存在差异。女性 GG

携带者 BMD 低于 GT、TT, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 女性 GG 基因型 BMD 显著低于男性 GG, 存在差异 ($P < 0.05$)。骨质疏松骨折组 COL1A1 - 1997G/T 转换以 GG 型为主, GT 大于 TT。女性 GG

基因型 BMD 明显低于男性和女性 GT、TT 等位基因型, 与 BMD 显著相关 ($P < 0.05$)。COL1A1 + 1245G/T 转换在正常人群中发现 GT 杂合型 2 例, 占总数的 0.53%, 其余均为 GG 基因型。

表 1 正常组、骨质疏松组、骨质疏松性骨折组 COL1A1 - 1997 位点基因型分布

基因型	正常				骨质疏松				骨质疏松性骨折			
	<i>n</i>	男	女	%	<i>n</i>	男	女	%	<i>n</i>	男	女	%
GG	53	20	33	38.41	87	22	65	44.39	19	7	12	47.50
GT	64	24	40	46.37	85	27	58	43.37	14	6	8	35.00
TT	21	8	13	15.22	24	7	17	12.24	7	4	3	17.50
合计	138	52	86	100.00	196	56	140	100.00	40	17	23	100.00

表 2 COL1A1 - 1997 位点基因型与 BMD 相关性

基因型	例数	正常组		骨质疏松组		骨质疏松性骨折	
		BMD (男)	BMD (女)	BMD (男)	BMD (女)	BMD (男)	BMD (女)
GG	138	0.652 ± 0.201	0.516 ± 0.122	0.455 ± 0.162	0.325 ± 0.123	0.371 ± 0.162	0.269 ± 0.114
GT	196	0.645 ± 0.211	0.511 ± 0.142	0.447 ± 0.146	0.341 ± 0.171	0.368 ± 0.171	0.271 ± 0.092
TT	40	0.641 ± 0.198	0.517 ± 0.134	0.439 ± 0.142	0.359 ± 0.152	0.362 ± 0.143	0.281 ± 0.102
合计	374	0.653 ± 0.203	0.514 ± 0.135	0.447 ± 0.152	0.345 ± 0.143	0.367 ± 0.154	0.273 ± 0.098

3 讨论

本文报告的 374 例长春市汉族人群 COL1A1 - 1997 位点 G/T 转换显示, 正常组 GG 基因型占 38.41%, GT 基因型占 46.37%, TT 基因型占 15.22%; 骨质疏松患者女性 GG 基因型大于男性, GG 基因型占 44.39%, GT 基因型占 43.37%, TT 基因型占 12.24%; 骨质疏松性骨折患者 GG 基因型为主, 占 47.50%, GT 基因型占 35.00%, TT 基因型占 17.50%, 结果符合 Hardy-Weinberg 平衡。骨质疏松组女性 GG 等位基因型大于男性, 女性 GG 携带者 BMD 低于男性 GG 携带者, 骨质疏松骨折组女性 GG 基因型 BMD 明显低于男性和女性 GT、TT 等位基因型, 与 BMD 显著相关。与 Yanmda^[3] 的研究结果相近。

I 型胶原蛋白占骨组织有机成分的 90%, 维持骨结构的完整及生物力学特性。I 型胶原含量及其稳定性异常可导致骨质量、骨密度改变。COL1A1 - 1997G/T、+ 1245G/T 多态性影响 I 型胶原纤维排列, 羟基磷灰石晶体沉积及骨骼的弹性和韧性, 当骨盐失去依附、溶解增多, 导致骨结构破坏和断裂^[4]。Garcia-Giralt^[5] 首次发现 COL1A1 启动子区 - 1997 G 到 T 颠换到一新多态性位点, 并发现这一位点多态性与绝经后妇女腰椎 BMD 及股骨颈 BMD 相关。Liu PY 等^[6] 在高加索人群中也发现 COL1A1

- 1997 位点与 BMD 有强相关性。由于种族和地域差异, 以往关于 COL1A1 的研究也产生了不一致的结果。Yanmda 等^[3] 研究显示, 日本女性 GG 基因型者股骨颈和股骨大转子 BMD 显著低于 GT、TT 型, 而绝经前妇女和男性的 BMD 与 - 1997G/T 多态性无关。Zhang 等^[7] 发现在中国核心家庭内部股骨颈 BMD 与 - 1997 G/T 多态性显著相关。T 等位基因携带者 BMD 低于不含 T 等位基因者。目前对中国人群该位点多态性与 BMD 是否存在关联的研究报道甚少。

笔者检索了近 3 年的文献, 关于 COL1A1 + 1245G/T 转换的研究报告罕见, HuiLin 等^[8] 报道 + 1245 T 等位基因对 I 型胶原蛋白 DNA 的亲合力比 G 等位基因更高。本研究在正常人群中发现 2 例 GT 杂合基因, 占受试者总数的 0.53%, 无统计学意义。有待扩大样本量进一步研究。

COL1A1 多态性不仅与地域、种族密切相关, 而且不可忽视受试者饮食习惯、劳动强度、吸烟、嗜酒、体重指数、绝经年限及不同部位 BMD 等因素的影响。迄今为止, 我国东北地区人群 COL1A1 - 1997G/T、+ 1245G/T 多态性研究尚未见报道。

虽然 COL1A1 多态性与 OP 的相关性毋庸置疑, 但这种多态性导致 OP、骨质疏松性骨折的机制, 是由一个位点变异还是多个位点累计效应改变了

(下转第 552 页)

(上接第 549 页)

I 型胶原的合成及降解尚不明确, COL1A1 5'端 -1997G/T、+1245G/T 位点周围转录因子相互影响, 调控转录。因此应扩大样本量, 对多个位点共同多态性影响 I 型胶原代谢的效能进行研究, 为 OP 早期预防干预及个体化治疗提供分子生物学依据。

【参 考 文 献】

- [1] Yamada Y, Harada A, Hosoi T, et al. Association of transforming growth factor beta1 genotype with therapeutic response to active vitamin D for postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 2000, 15 (3) :415-420.
- [2] Han KO, Moon IG, Hwang CS, et al. Lack of an intronic Sp1 binding-site polymorphism at the collagen type I gene in healthy Korean women. *Bone*, 1999, 24:135-2137.
- [3] Yamada Y, Ando F, Niino N, et al. Association of a -1997G→T polymorphism of the collagen I alpha1 gene with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Human Biology*, 2005, 77 (1) :27-36.
- [4] Grant SF, Reid DM, Blake G, et al. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet*, 1996, 14 (2) :203-205.
- [5] Garcia-Giralt N, Enjuanes A, Bustamante M, et al. In vitro functional assay of alleles and haplotypes of two COL1A1-promoter SNPs. *Bone*, 2005, 36 (5) :902-908.
- [6] Liu PY, Long JR, Xu FH, et al. Common variants at the Pcol2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. *Journal of Medical Genetics*, 2004, 41 (10) :752-757.
- [7] Zhang YY, Lei SF, Mo XY, et al. The -1997G/T polymorphism in the COL1A1 upstream regulatory region is associated with hip bone mineral density (BMD) in Chinese nuclear families. *Calcif Tissue Int*, 2005, 76 (2) :107-112.
- [8] Huilin Jin, Rob J. van't Hof, Omar M. E. Promoter and intron 1 polymorphisms of COL1A1 interact to regulate transcription and susceptibility to osteoporosis. *Human Molecular Genetics*, 2009, 18 (15) :2729-2731.

(收稿日期: 2010-07-10)