

雌激素受体 α 基因多态性与新疆维、汉两民族妇女腰椎峰值骨密度的关系

马华 赵圆 刘文亚

中国分类号: R58 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2012)04-0350-04

摘要: 目的 探讨新疆地区维吾尔族(维族)、汉族两民族妇女雌激素受体(ER- α)基因多态性与腰椎峰值骨密度的关系。方法 分别对乌鲁木齐地区无亲缘关系、年龄 20~40 岁的 160 例汉族健康妇女和 135 例维吾尔族健康妇女进行 PCR-RFLP 测定雌激素受体 α 基因 XbaI 及 Pvu II 多态性,用定量 CT(QCT)骨密度仪测定腰椎骨密度(BMD)。结果 维、汉族女性骨密度均值比较,差异有显著性($P < 0.05$)。维、汉族妇女 ER- α 的基因型及等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律;XbaI 及 Pvu II 多态性基因型频率及等位基因频率在维、汉两民族妇女中比较,差异均有显著性($P < 0.05$)。协方差方法分析各基因型与 BMD 的关系显示:仅 Pvu II 多态性与维族妇女 L_{2-4} BMD 值显著相关($P < 0.05$),Pp/pp 基因型在 L_{2-4} BMD 值明显低于 PP 基因型,差异有显著性($P < 0.05$)。结论 ER- α 基因 XbaI 多态性对新疆地区维、汉族妇女腰椎峰值骨量无潜在影响;Pvu II 多态性对维族妇女腰椎峰值骨量的达到和维持有关,与汉族无关。

关键词: 骨密度; 雌激素受体; 基因多态性

Relationship between polymorphism of estrogen receptor- α gene and peak bone mass at the lumbar vertebra in the Uyghur and Han women in Xinjiang MA Hua, ZHAO Yuan, LIU Wenya, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Corresponding author: LIU Wenya, Email: wenyaliu2002@yahoo.com.cn

Abstract: **Objective** To investigate the association between estrogen receptor- α gene and peak bone mass at the lumbar vertebra in Uyghur and Han in women Urumqi. **Methods** XbaI and PvuII genotypes of ER- α were determined using PCR-RFLP in 135 Uyghur and 160 Han unrelated healthy women aged 20~40 years old in Urumqi. Bone mineral density (BMD) of the lumbar vertebra was measured using QCT. **Results** The mean of BMD between the Uyghur and the Han was significantly different ($P < 0.05$). The distribution of ER- α gene polymorphism in the Uyghur and Han was accordant to Hardy-Weinberg Equilibrium. There was significant difference in Pvu I and Xba I polymorphisms between the Uyghur and the Han. Only a significant association was found between Pvu II genotype and BMD at L_{2-4} in the Uyghur women ($P < 0.05$). Pp/pp genotype was lower than that of PP genotype at lumbar vertebra ($P < 0.05$). **Conclusion** The XbaI polymorphism of ER- α gene do not potentially impact peak bone mass in the Uyghur and the Han women. The attainment and maintenance of peak bone mass at the lumbar vertebra are associated with Pvu II polymorphism in the Uyghur, but not in the Han women.

Key words: Bone mineral density; Estrogen receptor; Gene polymorphism

骨质疏松症是由遗传因素和环境因素共同参与的复杂疾病。峰值骨密度(Peak of Bone Mineral Density, PBMD)被广泛认为是最重要的预测骨质疏松

性骨折的危险因子,有证据表明,遗传是决定骨密度(BMD)的重要因素,家系和孪生子研究显示^[1-3],骨密度变异的 50%~80% 是由基因决定的。雌激素受体 α (Estrogen receptor- α , ER- α) 基因是研究最广泛的骨质疏松症候选基因,但不同国家、地区、人种间的研究结果一直存在分歧。本研究针对新疆地区维吾尔族、汉族青年妇女人群 ER- α 基因多态性

作者单位: 830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院影像中心

通讯作者: 刘文亚, Email: wenyaliu2002@yahoo.com.cn

(PvuII 和 XbaI) 及骨密度的检测,探讨两个民族间 ER- α 基因多态性的分布差别及与峰值骨密度的关系,为研究新疆地区维、汉两民族妇女骨质疏松的遗传学机制奠定必要的理论基础,为早期、有效的防治骨质疏松提供宝贵的遗传学依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象

长期居住在新疆(汉族需符合 20 年以上居住史,维吾尔族必须符合 3 代纯系该民族),2010 年 9 月至 2011 年 6 月在我院进行体检的健康维、汉族妇女,年龄 20~40 岁,无亲缘关系,其中维族 135 例,汉族 160 例,均详细询问病史及体格检查、实验室检查(血钙、磷、碱性磷酸酶,血糖,肝、肾功能等),排除子宫、卵巢切除,自然绝经及一年内有生育哺乳史者,排除患有各种影响骨代谢的疾病及服用过影响骨代谢药物者,排除有吸烟史、酗酒史、长期饮茶或咖啡及从事重体力劳动者。

1.2 方法

1.2.1 骨密度测定:采用美国 GE 公司生产的 lightspeed plus16 排多层螺旋 CT 机和 QCT3000 骨密度分析系统测试所有受试者的腰椎 2~4(前后位)的骨密度。按照常规腰椎检查条件和体位,将标准参考体模置于腰椎下方,在扫面定位像上设置穿过第 2、3、4 腰椎椎体中央并平行于椎间隙的三条扫描线,扫描结束后,测量并记录各个椎体中央松质骨的 CT 值和相应层面参考体模中 4 个不同药物浓度区域的 CT 值,将数据输入 QCT3000 骨密度分析系统,自动得到骨密度分析结果。

1.2.2 ER 等位基因测定:(1)白细胞 DNA 提取:血液基因组 DNA 提取试剂盒,由天根生物技术有限公司合成。(2)引物设计与合成:参照有关文献^[4],引物 1:5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTTCCTATTCTCC-3';引物 2:5'-CTCTTCTCTGCCACCCTGGCGTCGATTATCTGA-3' 特异性扩增产物的片段为 1300bp,由上海生物工程有限公司合成。(3)PCR-RFLP 方法鉴别基因类型:PCR 反应体系 20 μ l,即 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 10 μ l,引物各 0.8 μ l,ddH₂O 4.4 μ l,模板 4 μ l。PCR 反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 5min,变性 95 $^{\circ}$ C 1min,退火 61 $^{\circ}$ C 1min,延伸 72 $^{\circ}$ C 90s,共 34 个循环,最后再延伸 72 $^{\circ}$ C 10min。PCR 产物 6 μ l 经 1% 琼脂糖凝胶电泳,电压 120v,约 30min,放入凝胶成像系统观察扩增是否成功。(4)扩增产物限制性酶切:ER 受体 PCR 扩增产物 10 μ l 分别用 XbaI 及 Pvu II 限制性内切酶酶

切,37 $^{\circ}$ C 水浴 3h 以上。酶切产物分别置于 1% 琼脂糖凝胶电泳,以 DNA 片段长度为参考,凝胶成像系统下确定基因型。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件。所得数据以均数 $\pm$ 标准差表示, X^2 检验 ER- α 各基因型和等位基因频率是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律;计量资料比较用单因素方差分析,计数资料用 X^2 检验,用协方差(ANCOVA)分析经年龄、身高和体重调整后的各基因型与骨密度的关系。

2 结果

2.1 一般资料

维、汉两组的年龄分布、身高、体重、BMI 基本相似,无统计学差异(均 $P > 0.05$)。

2.2 维、汉族女性骨密度均值比较

维、汉族女性骨密度均值比较(见表 1),差异有显著性($P < 0.05$)。

表 1 维、汉两民族腰椎骨密度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	腰椎骨密度(mg/cm^3)	P 值
维吾尔族	135	187.939 $\pm$ 23.774	0.01
汉族	160	178.014 $\pm$ 23.832	

2.3 ER- α 基因 XbaI、PvuII 多态性分析

ER- α 基因 XbaI、PvuII 多态性分别用 P 和 p, X 和 x 表示,ER- α 基因判定方法:存在 XbaI 酶切位点的为 xx 型(900bp、400 bp),缺乏 XbaI 酶切位点的为 XX 型(1300bp),杂合子为 Xx 型(1300bp、900bp、400 bp);存在 PvuII 酶切位点的为 pp 型(850bp、450 bp),缺乏 PvuII 酶切位点的为 PP 型(1300bp),杂合子为 Pp 型(1300bp、850bp、450 bp)。

2.4 维、汉两民族 ER- α 基因型和等位基因频率分布

维、汉两民族 ER- α 基因 XbaI、PvuII 等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。XbaI 及 PvuII 多态性基因型频率及等位基因频率在维、汉两民族妇女中比较(见表 2),差异均有显著性($P < 0.05$)。

表 2 维、汉 ER- α 基因 XbaI 基因型和等位基因频率分布比较

组别	例数	XbaI 基因型			等位基因	
		XX	Xx	xx	X	x
维族	135	24(0.178)	39(0.289)	72(0.533)	87(0.322)	183(0.678)
汉族	160	12(0.075)	42(0.311)	106(0.614)	66(0.206)	254(0.794)
X^2 值			8.548			10.254
P 值			0.014			0.001

2.5 维、汉两民族 ER- α 基因多态性与 BMD 的关系

160 例汉族女性年龄(30.9 ± 5.5)岁,身高(162.2 ± 4.7)cm,体重(56.2 ± 7.3)kg,腰椎 BMD

(178.014 ± 23.832) mg/cm³。135 例维族女性年龄 (31.2 ± 5.6) 岁, 身高 (162.1 ± 5.0) cm, 体重 (56.2 ± 7.8) kg, 腰椎 BMD 单位 (187.939 ± 23.774) mg/cm³。将年龄、身高和体重调整后的 BMD 值与各基因型作关联性分析显示: (1) ER-α 基因 XbaI 多态性与维、汉族妇女腰椎 BMD 均无关联。 (2) ER-α 基因 PvuII 多态性与汉族妇女腰椎 BMD 无关联。 (3) ER-α 基因 PvuII 多态性与维族妇女腰椎 BMD 值相关, Pp/pp 基因型在 L₂₋₄ BMD 值明显低于 PP 基因型 (P < 0.05), Pp 型和 pp 型比较无显著性差异 (P > 0.05)。见表 4、5。

表 3 维、汉 ER-α 基因 PvuII 基因型和等位基因频率分布比较

组别	例数 n	PvuII 基因型			等位基因	
		PP	Pp	pp	P	p
维族	135	34(0.251)	63(0.467)	38(0.282)	131(0.485)	139(0.515)
汉族	160	24(0.150)	63(0.393)	73(0.457)	111(0.347)	209(0.653)
χ ² 值			10.496			11.579
P 值			0.005			0.001

表 4 维族妇女不同 ER-α 基因型的腰椎骨密度水平比较 (x̄ ± s)

基因	例数	年龄 (year)	身高 (cm)	体重 (kg)	腰椎骨密度 (mg/cm ³)
XX	24	30.6 ± 7.2	162.2 ± 4.0	55.7 ± 6.3	189.746 ± 17.7155
Xx	39	30.3 ± 5.3	162.5 ± 5.4	55.5 ± 8.2	192.462 ± 32.1198
xx	72	31.9 ± 5.2	161.8 ± 5.2	56.8 ± 8.1	184.331 ± 19.9882
P 值					0.352
PP	34	30.9 ± 5.0	161.9 ± 4.6	55.3 ± 8.7	198.088 ± 20.712
Pp	63	30.6 ± 5.9	162.8 ± 5.1	56.5 ± 7.2	184.916 ± 21.489
pp	38	32.5 ± 5.5	162.1 ± 5.0	56.6 ± 8.2	183.871 ± 27.6285
P 值					0.019

表 5 汉族妇女不同 ER-α 基因型的腰椎骨密度水平比较 (x̄ ± s)

基因	例数	年龄 (year)	身高 (cm)	体重 (kg)	腰椎骨密度 (mg/cm ³)
XX	12	32.4 ± 5.7	164.5 ± 3.6	56.6 ± 9.5	174.320 ± 21.532
Xx	42	31.4 ± 7.8	163.4 ± 5.3	56.9 ± 8.6	183.467 ± 21.380
xx	106	30.5 ± 5.6	161.4 ± 4.4	55.9 ± 6.5	176.716 ± 23.675
P 值					0.217
PP	24	29.3 ± 5.8	162.7 ± 4.6	56.9 ± 8.3	186.887 ± 18.094
Pp	63	31.9 ± 5.7	162.8 ± 4.8	56.3 ± 7.4	177.730 ± 21.050
pp	73	30.1 ± 6.8	161.4 ± 4.6	55.9 ± 7.0	175.990 ± 25.574
P 值					0.179

2.6 维、汉两民族 ER-α 基因 XbaI 及 Pvu II 多态性共同与 BMD 的关系

将 XbaI 及 Pvu II 两种多态性之间与各部位的 BMD 的关系进行协同分析显示: 各基因型与 BMD 无显著相关。

万方数据

3 讨论

本研究结果显示: 新疆地区维、汉两民族正常妇女 ER-α 基因 XbaI、PvuII 等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。维吾尔族妇女 ER-α 基因 XbaI、PvuII 等位基因的频率分别与汉族妇女间均有显著性差异。维吾尔族妇女 ER-α 基因 XbaI、PvuII 等位基因的频率与 Deng 等^[5]报道的高加索人种 XbaI、PvuII 等位基因的频率 (P = 0.454, p = 0.546, X = 0.370, x = 0.630) 很接近。汉族妇女 ER-α 基因 XbaI、PvuII 等位基因频率分布与中国上海、朝鲜妇女 (P = 0.379, p = 0.621, X = 0.249, x = 0.751) 一致^[6,7], p、x 等位基因占绝大多数, 但是维族人群的 XbaI 基因型频率分布与 Deng 等^[5]报道的高加索人种有差异, 汉族人群 PvuII 基因型频率分布与上海地区的汉族女性有所不同, 其原因尚待进一步研究。

雌激素对峰值骨量的到达及骨量的丢失均起到重要的作用, 因此雌激素受体 α 基因多态性与 BMD 的关系备受重视。本研究未发现汉族妇女的峰值 BMD 与 ER-α 基因多态性有相关性, 仅发现 ER-α 基因 Pvu II 多态性与维族妇女 L₂₋₄ 峰值 BMD 有相关性, 而与 XbaI 多态性无关, 并且 Pp/pp 基因型的 L₂₋₄ BMD 值明显低于 PP 基因型。Han 等^[8]研究发现朝鲜妇女峰值 BMD 与 XbaI、PvuII 多态性无关联。Wang CL 等^[9] Meta 分析发现, Pvu II 的基因多态性与汉族妇女的股骨颈 BMD 有关, XbaI 基因多态性与股骨颈及腰椎 BMD 无关。Mc Guigan 等^[10] 对 216 名绝经前妇女研究发现, XbaI、PvuII 多态性与腰椎峰值 BMD 无相关, PvuII 多态性与股骨颈峰值 BMD 相关。Jeedigunta Y 等^[11] 对 887 名印度南部绝经前妇女进行研究发现, 拥有 pp 基因型及 p、x 等位基因的 BMD 明显低于 PP 及 XX 基因型的妇女。Willing 等^[12] 对 22 ~ 46 岁的美国妇女研究显示, pp 基因型腰椎 BMD 值明显低于 Pp 或 PP 基因型。就人种学来说汉族与朝鲜族都是蒙古人种, 研究结果均未发现妇女腰椎峰值 BMD 与 ER-α 基因 XbaI、PvuII 多态性有关, 而维族属于高加索人种, 众多研究结果显示高加索人种妇女峰值 BMD 与 ER-α 基因 XbaI、PvuII 多态性有关。很显然, 尽管不同地区同一民族的研究结果有差异, 但仍可以推测 ER-α 基因多态性与峰值 BMD 的关系存在明显的人种差异, 不同人种的峰值骨量的到达具有不同的遗传背景, 同时存在不同环境、饮食等多种因素的影响。

骨质疏松是多基因复杂疾病,在国内多骨质疏松候选基因的研究主要涉及汉族人群,对少数民族的研究较少。本研究显示 ER- α 基因 XbaI、PvuII 多态性对新疆地区汉族妇女腰椎峰值骨量无潜在影响,ER- α 基因 PvuII 多态性与新疆地区维吾尔族妇女腰椎峰值骨量的达到有关。提示了新疆地区汉族与维族在骨质疏松发病上可能有不同的遗传背景,为了进一步揭示新疆地区维、汉两民族妇女骨质疏松的遗传学机制,今后还必须重视多基因相互作用和环境等多种因素对骨质疏松的影响。

【参 考 文 献】

- [1] 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.
- [2] Lau HH, Ng MY, Ho AY, et al. Genetic and environmental determinants of bone mineral density in Chinese women. *Bone*, 2005, 36(4): 700-709.
- [3] Valero CF, Zarraheita MT, Hernandez JL, et al. Bone mass in young adults: relationship with gender, weight and genetic factors. *Intern Med*, 2005, 258(6): 554-562.
- [4] Mizunuma H, Hosoi T, Okano H, et al. estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density at the lumbar spine of pre- and postmenopausal women. *Bone*, 1997, 21: 379-383.
- [5] Deng HW, Li J, Li JL, et al. Change of bone mass in postmenopausal Caucasian women with and without hormone replacement therapy is associated with vitamin D receptor and estrogen receptor genotypes. *Hum Genet*, 1998, 103: 576-585.
- [6] He JW, Huang QR, Zhang ZZ, et al. Association of polymorphism of estrogen receptor- α and vitamin D receptor genes with peak bone mass in Shanghai women. *Chin J Endocrinol Metab*, 2004, 20: 140-142.
- [7] Han K, Choi J, Moon I, et al. Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean Pre-, Peri-, and Postmenopausal women. *Osteoporosis Int*, 1999, 9: 290-295.
- [8] Han K, Choi J, Moon I, et al. Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean Pre-, Peri-, and Postmenopausal women. *Osteoporosis Int*, 1999, 9: 290-295.
- [9] Wang CL, Tang XY, Chen WQ, et al. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density in Chinese women: a meta-analysis. *Osteoporosis Int*, 2007, 18: 295-305.
- [10] Mc Guigan, FEA, Murray L, Gallagher A, et al. Genetic and environmental determinants of peak bone mass in young men and women. *J Bone Miner Res*, 2002, 17: 1273-1279.
- [11] Jeedigunta Y, Bhoomi Reddy PR, Kolla VK, et al. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with BMD and their effect on estradiol levels in pre- and postmenopausal women in south Indian population from Andhra Pradesh. *Clin Chim Acta*, 2010, 411: 597-600.
- [12] Willing M, Sowers M, Aron D, et al. Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res*, 1998, 13: 695-705.

(收稿日期: 2011-12-15)

(上接第 346 页)

其腰椎骨密度在 55~65 岁阶段和 70~79 岁年龄段丢失明显加快,而 65~70 岁年龄段骨密度丢失速率相对平缓。老年女性髌部骨密度丢失以 65 岁以后逐渐加快,这也正是髌部骨折好发年龄。体重指数是影响女性骨密度的因素之一,但脂肪含量与骨密度的正相关性还需要扩大样本进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] 郭世绶,罗先正,邱贵兴. 骨质疏松基础与临床. 天津: 天津科学技术出版社. 第 1 版, 2001: 1-3.
- [2] 刘明珠. 从全球的角度看亚洲骨质疏松症的流行病学. 国外医学·内分泌学分册, 2004, 2(4): 222-224.
- [3] KM Jordan, C Cooper. Epidemiology of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2002, 16(5): 795-806.
- [4] 刘崇静, 关立, 孙积慧. 腰椎各椎体骨密度的分析. 中国骨质疏松杂志, 1999, 5(1): 32-34.
- [5] 廖二元, 谭利华. 代谢性骨病学. 湖南: 人民卫生出版社. 第 1 版: 2003: 861-862.
- [6] Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, et al. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes*, 1998, 47(5): 699-714.
- [7] 冯波, 倪亚芳, 孙勤, 等. 肥胖的 2 型糖尿病患者体质成分变化及对骨密度的影响. 中国临床康复, 2002, 6(5): 702-703.
- [8] 魏维楠, 苗懿德. 肥胖与骨质疏松. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(1): 814-816.

(收稿日期: 2011-10-08)