

COL4A1 基因多态性与 230 例健康男性体检人群骨密度关系研究

李得春¹ 杨国安¹ 吴涤^{2*}

- 1. 包头医学院第一附属医院, 内蒙古 包头 014010
- 2. 包头医学院细胞生物教研室, 内蒙古 包头 014010

中图分类号: R580 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2013) 11-1113-03

摘要: **目的** 研究 COL4A1 基因多态性与健康男性骨密度关系。**方法** 采用病例-对照研究方法。收集来自包头医学院第一附属医院进行健康体检的 230 例男性流行病学资料, 用双能 X 线吸收仪对研究对象进行骨扫描。应用 PCR-RFLP 方法检测 COL4A1 基因型。采用 Logistic 回归法分析 COL4A1 多态性与骨密度间的关系。**结果** 调整主要混杂因素后, COL4A1 基因 TT 基因型与男性骨量流失及骨质疏松无显著相关性($P=0.785$)。**结论** COL4A1 基因 TT 基因型与男性体检人群骨量流失和骨质疏松无显著相关性。
关键词: IV 型胶原 $\alpha 1$ 链(COL4A1); 基因; 多态性; 骨密度(BMD)

Relationship between polymorphisms of COL4A1 gene and bone mineral density in 230 healthy men in health screening

LI Dechun¹, YANG Guoan¹, WU Di²

- 1. The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, China
- 2. Department of Cell Biology, Baotou Medical College, Baotou 014010, China

Corresponding author: WU Di, Email: wudiwangtong@163.com

Abstract: Objective To investigate the relationship between genetic polymorphisms of collagen type IV alpha 1 gene (COL4A1) and bone mineral density (BMD) in healthy men. **Methods** A case-control study was conducted. The epidemiologic data of 230 healthy males, who were from the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, were collected. BMD of all subjects was detected using dual-energy X-ray absorptiometry. PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was applied to examine polymorphisms of the COL 4A1 gene. The logistic regression was used to analyze the relationship between genetic polymorphisms of COL 4A1 gene and BMD. **Results** After adjusting for environmental covariates, no significant correlation was found between the TT genotype of the COL4A1 gene and bone loss and osteoporosis in the males ($P=0.785$). **Conclusion** There is no significant relationship between the TT genotype of COL4A1 gene and bone loss and osteoporosis in healthy men with physical examination .
Key words: Collagen type IV alpha 1 (COL4A1); Gene; Polymorphism; Bone mineral density

骨质疏松症是一种复杂的多因素疾病, 由遗传和环境因素共同决定。其中遗传因素在研究中被认为在原发性骨质疏松症的发病机制中发挥了核心作用^[1]。因为胶原蛋白占骨组织的 80% 以上, 胶原蛋白家族的基因研究逐渐深入, 吴涤等^[2-4]首次发现 COL4A1 和 COL4A2 与不同性别不同部位骨密度相关。本研究中, 我们将探讨 COL4A1 基因的一个新

SNP rs3783107 与男性骨密度的关系, 为骨质疏松症发病机制的研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 一般资料

采用临床流行病学调查方法, 收集包头医学院第一附属医院 2009 ~ 2011 年 230 名男性体检者资料, 自行设计统一问卷调查表, 由经过培训的调查员以逐一询问方式获得详细的人口统计资料及补充钙剂、吸烟、饮酒、饮茶、劳动强度等状况。

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助(2010MS1108)
* 通讯作者: 吴涤, Email: wudiwangtong@163.com

1.2 方法

1.2.1 骨密度测定:用 DXA(双能 X 线吸收)测定体检者腰椎 L₂-L₄ 和股骨颈骨密度值(mg/cm²)及 T 值(T≤-2.0 判断为骨质疏松;-2.0<T≤-1.0 判断为骨量流失;T>-1.0 判断为正常对照)。以上样本选择均排除继发性和药物性骨质疏松患者。

1.2.2 血样收集和 DNA 提取:用乙二胺四乙酸(EDTA, K2)抗凝管抽取受检者静脉血 2 ml,-20℃ 保存。融化后用全血细胞基因组 DNA 提取试剂盒抽提白细胞中基因组 DNA。

1.2.3 基因型检测:PCR 扩增引物(F:5'-CTCCAGTATCTCTTTTGT-3', R:5'-TATTTCTATGAGCCACCT-3')。25 μl PCR 反应体系中含有 2×Taq Master Mix 12.5 μl,DNA 5 μl,10 uM 上游引物 1 μl,10 μM 下游引物 1 μl,nuclease-free water 5.5 μl。PCR 反应条件:94℃ 预变性 7 min,然后 94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,共进行 35 个

循环;最终延伸温度为 72℃,7 min。PCR 产物用限制性内切酶 Hae III 37℃ 水浴过夜,酶切产物进行 15% 聚丙烯酰胺凝胶电泳。CC 基因型显示 332bp 片段,TT 基因型显示 174bp、158bp 俩个片段,TC 基因型显示 332bp、174bp、158bp 三个片段。

1.2.4 统计分析:采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行统计分析。根据等位基因的频率,对 COL4A1 基因 SNPrs3783107 T>C 多态位点三种基因型分布进行遗传平衡检验。采用 Logistic 回归法排除混杂因素,分析 COL4A1 基因型多态性与骨密度间的关系。

2 结果

2.1 一般特征比较

男性正常骨量体检者 174 名、骨量流失及骨质疏松体检者 56 名。经 χ^2 检验结果见表 1。剂量资料经 *t* 检验结果见表 2。

表 1 各组一般特征比较
Table 1 Comparison of general characteristics

组别	吸烟	饮酒	饮茶	补钙	教育程度			劳动强度	
					高中	大专	大专以上	轻度	中度
正常对照组	77(44.3%)	91(52.3%)	72(41.4%)	61(35.1%)	28(16.1%)	75(43.1%)	71(40.8%)	110(63.2%)	57(32.8%)
骨量流失及骨质疏松组	36(64.3%)	42(75.0%)	26(46.4%)	8(14.3%)	11(19.6%)	23(41.1%)	22(39.3%)	30(53.6%)	22(39.3%)
χ^2	7.515	8.952	0.442	8.704	0.38			2.035	
<i>P</i>	0.006*	0.003*	0.506	0.003*	0.827			0.361	

注: *表示 *P*<0.05

表 2 各组骨密度比较($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of bone mineral density ($\bar{x} \pm s$)

	年龄	BMI	腰椎 L ₂ BMD	腰椎 L ₃ BMD	腰椎 L ₄ BMD
正常对照组	50.29 ± 11.10	29.24 ± 12.14	1148.57 ± 659.34	974.82 ± 628.89	1079.25 ± 600.31
骨量流失及骨质疏松组	50.67 ± 11.89	29.60 ± 10.39	941.27 ± 406.70	968.68 ± 548.18	919.08 ± 570.27
<i>t</i>	-0.212	-0.216	2.221	0.07	1.805
<i>P</i>	0.832	0.829	0.03	0.944	0.072

注: * *P*<0.05

2.2 COL4A1 基因型分布比较

男性的基因型分布见表 3。男性正常对照组 T 等位基因频率为(53.7%),骨量流失及骨质疏松组为(52.7%)。经检验,差异无显著性(*P* = 0.702)。COL4A1 基因基因型分布经 χ^2 检验符合 Hardy-Weinberg 平衡(χ^2 = 0.051,*P*>0.05)。

2.3 COL4A1 基因多态性与骨密度间关系分析

在调整年龄、体重指数、劳动强度、吸烟、饮酒、饮茶、补充钙剂营养食品情况等影响因素后,与 CC

表 3 男性 COL4A1 基因型分布比较
Table 3 Comparison of the distribution of COL4A1 gene types in men

组别	COL4A1 基因型		
	TT	TC	CC
正常对照组	51 (29.3%)	85 (48.9%)	38 (21.8%)
骨量流失及骨质疏松组	18 (32.1%)	23 (41.2%)	15 (26.7%)
χ^2	0.162	1.029	0.585
<i>P</i>	0.687	0.31	0.445

注: * *P*<0.05

基因型比较, 男性 TT 基因型个体显示与不同部位 骨密度无显著相关性($P=0.785$), 结果见表 4。

表 4 COL4A1 基因多态性与骨密度间的关系

Table 4 Relationship between the polymorphisms of COL4A1 gene and bone mineral density

COL4A1 基因型	n	回归系数 $\beta \pm Se^*$	P 值	OR	95% CI
CC	53	—	—	—	—
TC	108	-0.378 $\pm$ 0.385	0.327	0.685	0.322 ~ 1.458
TT	69	-0.112 $\pm$ 0.410	0.785	0.894	0.400 ~ 1.967

调整因素: 年龄、体重指数、劳动强度、吸烟、饮酒、饮茶、补充钙剂营养食品情况, * 表示 $P<0.05$

3 讨论

现在原发性骨质疏松是一个全球性的公共卫生问题,受到世界各国的日益关注。研究显示原发性骨质疏松的发病原因遗传度可达 50% 以上^[5]。近些年,胶原蛋白家族的基因研究逐渐深入。以往研究中显示 COL4A1 基因突变与新生儿和成人脑出血^[7]、微动脉瘤^[8-10]、眼部表型和肾病^[11]等相关。IV 型胶原蛋白基因作为骨质疏松的候选基因研究甚少,吴涤等通过检测 COL4A1 基因 A 到 C 突变,使 1334 位氨基酸由谷酰氨酸变为组氨酸,首次发现 COL4A1 基因的多态性与中国农村男性股骨颈骨密度的降低呈显著的相关性^[4];与女性股骨颈、腰椎 2~4 骨密度无显著相关性^[2]。我们进一步研究发现 COL4A1 基因 SNP rs3783107 位点多态性与包头地区女性骨密度呈显著的相关性。COL4A1 基因编码 IV 型胶原 $\alpha 1$ 链,是构成所有组织基底膜的主要成分。基底膜结构的完整性有利于成骨细胞的附着与生长,是骨骼健康保证。本研究通过检测 COL4A1 SNPrs3783107 多态位点的基因型,分析显示男性 TT 基因型与 CC 基因型相比,TT 基因型与骨量流失及骨质疏松的发生无显著相关性,与女性研究结果不同。其原因可能是骨密度的高低与多种内外因素有关,虽然我们分析时校正了一些影响因素,但有些内在因素如体内激素水平、日常体育锻炼等因素在男女间差别较大,也可能影响骨密度值。因此 COL4A1 SNPrs3783107 多态位点与骨密度的关系需进一步扩大样本量深入研究,并考虑基因与基因及基因与环境的交互作用,为骨质疏松症发病机理研究提供理基础。

【参 考 文 献】

[1] Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. N

Engl J Med. 2008;358 (22): 2355-2365.

[2] WU Di, HONG Xiumei, JIANG Yingjun, et al. The relationship between polymorphism of COL4A1 gene and bone mineral density in Chinese women[J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2007, 13 (1): 42-44, 58.

[3] WU Di, HONG Xiumei, YANG Tianpeng, et al. The relationship between Gly683Ala polymorphism of COL4A2 gene and bone mineral density in Chinese rural men [J]. Journal of Baotou Medical College, 2007, 23(1): 5-7.

[4] WU Di, HONG Xiumei, YANG Tianpeng, et al. Significant associations of the COL4A1 gene Q1334H polymorphism with bone mineral density in Chinese men [J]. China Journal of Modern Medicine, 2007, 17(3): 269-271.

[5] 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]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(4): 1808-1816.

[6] Niu T, Chen C, Cordell H, et al. A genome-wide scan for loci linked to forearm bone mineral density. Human Genetics. 1999, 104(3): 226-233.

[7] Gould DB, Phalan FC, Breedveld GJ, et al. Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly [J]. Science, 2005, 308(5725): 1167-1171.

[8] Plaisier E, Alamowitch S, Gribouval O, et al. Autosomal-dominant familial hematuria with retinal arteriolar tortuosity and contrac-tures; a novel syndrome[J]. Kidney Int, 2005, 67(6): 2354-2360.

[9] Vahedi K, Kubis N, Boukobza M. COL4A1 mutation in a patient with sporadic, recurrent intracerebral hemorrhage [J]. Stroke, 2007, 38(5): 1461-1464.

[10] Shah S, Kumar Y, McLean B. A dominantly inherited mutation in collagen IV A1 (COL4A1) causing childhood onset stroke without porencephaly[J]. Eur J Paediatr Neuro, 2010, 14(2): 182-187.

[11] Van Agtmael T, Schlotzer-Schrehardt U, McKie L, et al. Dominant mutations of Col4a1 result in basement membrane defects which lead to anterior segment dysgenesis and glomerulopathy [J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(21): 3161-3168.

(收稿日期: 2012-11-04)

研究

作者：[李得春](#)，[杨国安](#)，[吴涤](#)，[LI Dechun](#)，[YANG Guoan](#)，[WU Di](#)
作者单位：[李得春, 杨国安, LI Dechun, YANG Guoan \(包头医学院第一附属医院, 内蒙古包头, 014010\)](#)，[吴涤, WU Di \(包头医学院细胞生物教研室, 内蒙古包头, 014010\)](#)
刊名：[中国骨质疏松杂志](#)

ISTIC

英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：2013(11)

参考文献(11条)

1. [Styrkarsdottir U;Halldorsson BV;Gretarsdottir S Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures 2008\(22\)](#)

2. [WU Di;HONG Xiumei;JIANG Yingjun The relationship between polymorphism of COL4A1 gene and bone mineral density in Chinese women\[期刊论文\]-Chinese Journal of Osteoporosis 2007\(01\)](#)

3. [WU Di;HONG Xiumei;YANG Tianpeng The relationship between Gly683Ala polymorphism of COL4A2 gene and bone mineral density in Chinese rural men\[期刊论文\]-Journal of Baotou Medical College 2007\(01\)](#)

4. [WU Di;HONG Xiumei;YANG Tianpeng Significant associations of the COL4A1 gene Q1334H polymorphism with bone mineral density in Chinese men\[期刊论文\]-China Journal of Modern Medicine 2007\(03\)](#)

5. [Khosla S;Riggs BL;Atkinson EJ Relationship of estrogen receptor genotypes to bone mineral density and to rates of bone loss in men 2004\(04\)](#)

6. [Niu T;Chen C;Cordell H A genome-wide scan for loci linked to forearm bone mineral density 1999\(03\)](#)

7. [Gould DB;Phalan FC;Breedveld GJ Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly 2005\(5725\)](#)

8. [Plaisier E;Alamowitch S;Gribouval O Autosomal-dominant familial hematuria with retinal arteriolar tortuosity and contractions:a novel syndrome 2005\(06\)](#)

9. [Vahedi K;Kubis N;Boukoba M COL4A1 mutation in a patient with sporadic, recurrent intracerebral hemorrhage 2007\(05\)](#)

10. [Shah S;Kumar Y;McLean B A dominantly inherited mutation in collagenIVA1 \(COL4A1\) causing childhood onset stroke without porencephaly 2010\(02\)](#)

11. [Van Agtmael T;Schlotzer-Schrehardt U;McKie L Dominant mutations of Col4a1 result in basement membrane defects which lead to anterior segment dysgenesis and glomerulopathy 2005\(21\)](#)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201311001.aspx