

初发系统性红斑狼疮患者雌激素受体表达及与骨量异常的关系

郑一君 李治琴 戴青 陈盛 鲍春德 胡大伟*
上海交通大学医学院附属仁济医院风湿科,上海 200001

中图分类号: R593.24 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 03-0225-03

摘要: **目的** 探讨初发系统性红斑狼疮(Systemic lupus erythematosus, SLE)患者的骨量情况,研究其雌激素受体 α (ER- α)和雌激素受体 β (ER- β)的表达水平及与骨量之间的关系,为临床防治 SLE 患者骨质疏松提供依据。**方法** 收集未用激素治疗的初发 SLE 患者临床资料,采用双能 X 线检测受检者腰椎(L₁₋₄)和股骨近端的骨密度(bone mineral density, BMD),运用实时定量 PCR 法检测外周血淋巴细胞 ER- α 和 ER- β 的表达水平。**结果** 初发 SLE 患者骨密度明显低于正常对照组($P < 0.05$),骨量减少的发生率明显增高;初发 SLE 患者 ER- β 基因 mRNA 表达水平高于正常对照组($P < 0.01$),但骨量减少组和骨量正常组之间的无显著差异($P > 0.05$)。ER- α 表达水平在初发 SLE 组和正常对照组之间的无显著差异($P > 0.05$)。ER- α 和 ER- β 表达水平与 SLE 患者骨量间不存在相关性($r = 0.028, P = 0.862; r = 0.134, P = 0.398$)。**结论** SLE 患者较正常人群更容易出现骨量减少;SLE 患者体内 ER β 基因表达增高,但与其骨量减少之间无明显相关性。
关键词: 系统性红斑狼疮;雌激素受体;骨密度

Relationship between the expression of estrogen receptor and bone mineral density in patients with initial systemic lupus erythematosus

ZHENG Yijun, LI Zhiqin, DAI Qing, CHEN Sheng, BAO Chunde, HU Dawei
Department of Rheumatology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200001, China
Corresponding author: HU Dawei, Email: hudawei@medmail.com.cn

Abstract: Objective To investigate the bone mineral density (BMD) in patients with initial systemic lupus erythematosus (SLE), to study its relationship with the expression of two kinds of estrogen receptors (ER- α and ER- β), and to provide basis for the prevention and treatment of osteoporosis in patients with SLE. **Methods** The clinical data of patients with initial SLE without hormone therapy were collected. BMD of the lumbar vertebrae (L₁₋₄) and the left proximal femur (the femoral neck) were detected using dual X-ray absorptiometry. The gene expression levels of ER- α and ER- β in lymphocytes in peripheral blood were determined using real-time PCR. **Results** BMD in patients with initial SLE was significantly lower than that in normal controls, and frequency of bone loss was also significantly higher ($P < 0.05$). The gene expression of ER- β in patients with initial SLE was higher than that in normal controls ($P < 0.01$), while no significant difference between osteopenia group and normal bone mass group was observed ($P > 0.05$). The expression of ER- α in patients with initial SLE showed no significant difference comparing with that in normal controls ($P > 0.05$). And no correlations between the expression levels of ER (ER- α and ER- β) and bone mass in patients with initial SLE were observed ($r = 0.028, P = 0.862; r = 0.134, P = 0.398$). **Conclusion** Patients with initial SLE are more likely to have lower BMD than normal controls. The expression of ER- β mRNA in SLE patients increases, but the increase is not correlated with the bone loss.

Key words: Systemic lupus erythematosus; Estrogen receptor; Bone mineral density

系统性红斑狼疮(Systemic lupus erythematosus, SLE)是一系统性自身免疫性疾病,临床上以免疫调节异常及多脏器累及为主要特征。随着 SLE 患者生存率的逐年提高,SLE 的并发症越来越受到重视,其中继发性骨质疏松和脆性骨折就是其中之一^[1]。SLE 患者血清中雌激素及其活性代谢产物明显升

基金项目: 上海重点学科建设项目资助(T0203);上海市临床医学中心 211 项目

* 通讯作者: 胡大伟,Email: hudawei@medmail.com.cn

高^[2],但未进行药物治疗的绝经前期 SLE 女性是否存在骨代谢异常以及与体内雌激素受体表达的关系等尚需进行进一步探讨,并可能为临床防治 SLE 骨质疏松提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集未进行激素治疗的初发 SLE 患者 42 例, SLE 诊断均符合美国风湿病学会 1997 年诊断标准。根据骨密度情况,将 SLE 患者分为骨量减少组和骨量正常组。正常对照组 42 例,均为健康体检者。

1.2 主要试剂及仪器

淋巴细胞分离液:购自北京鼎国生物技术有限责任公司; RNA 抽提试剂: Trizol, 购自美国 Invitrogen Life Technologies 公司; 定量检测试剂盒: SYBR PrimeScript™ RT-PCR Kit, 购自日本 TaKaRa 公司; ABI 7900 HTPCR 仪, 购自美国应用生物系统

公司; 双能 X 线骨密度仪: DISCOVERY-M, 购自美国 HOLOGIC 公司; 分光光度计: DU800, 购自美国 Beckman 公司。

1.3 实时定量 PCR 检测

外周血淋巴细胞 ER-α 和 ER-β mRNA 表达采用实时定量 PCR 方法检测。采集患者和正常健康体检者 5ml 外周静脉血, EDTA 抗凝。用淋巴细胞分离液从外周血中分离淋巴细胞, 然后 Trizol 抽提淋巴细胞总 RNA, SYBR PrimeScript™ RT-PCR Kit 一步法检测 ER-α 和 ER-β mRNA 的表达量, 以 GAPDH 为内参照, 每个样本均设三个复孔, 取其平均值进行比较。RQ-PCR 后获得其 CT 值(即循环阈值, 表示 RQ-PCR 过程中, 每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数), 以 ER-α、ER-β 与 GAPDH 的 CT 差值(ΔCT)表示 ER-α 和 ER-β 在淋巴细胞中的相对表达量。ER-α、ER-β 及 GAPDH 引物序列如图 1。

ER-α upstream primer	5'-GCCGACAAGGAGTTGTTACAC-3'
ER-α downstream primer	5'-CAGGCTGAGCTCCACAAAGC-3'
ER-β upstream primer	5'-TCTCGTCTGGCGCTCCAT-3'
ER-β downstream primer	5'-CTGTTCTCTGTCCAAGAGCAA-3'
GAPDH upstream primer	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'
GAPDH downstream primer	5'-GAAGATGGTGATGGGATTTTC-3'

图 1 ER-α、ER-β 及 GAPDH 引物序列

Fig. 1 Primer sequences of ER-α, ER-β, and GAPDH

1.4 骨密度测定

采用双能 X 线吸收仪, 分别测定腰椎(L₁₋₄)和股骨近端骨密度。骨量异常诊断标准: 按照 WHO 双能 X 线的诊断标准, -2.5 ≤ T ≤ -1.0 时诊断为骨量减少; T < -2.5 时, 诊断为骨质疏松, 腰椎和股骨颈只要有一个部位存在骨量减少或骨质疏松, 就可诊断为骨量减少或骨质疏松。

1.5 统计学处理

采用 SPSS11.0 软件处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用独立样本 t 检验, 比较初发 SLE 组和正常对照组间 ER-α 和 ER-β 表达水平。两组骨量异常的发病率采用连续性校正卡方检验; Spearman 法进行相关性检验。

2 结果

2.1 一般资料

初发 SLE 组 42 例, 年龄 11 ~ 57 岁, 平均 28.33 ± 11.58 岁。男 4 例, 女性 38 例, 其中围绝经期妇女占 4.76%, 绝经前期 SLE 患者占 85.71%, 就诊前均未服用过糖皮质激素类药物进行治疗, 并排除合并内分泌、肿瘤等其他可引起骨质疏松的相关疾病。正常对照组 42 例, 年龄 14 ~ 54 岁, 平均 31.58 ± 10.86 岁。男性 5 例, 女性 37 例, 其中围绝经期妇

女占 4.76%, 绝经前期妇女占 83.33%。

2.2 骨密度分析

初发 SLE 患者中骨量减少 13 例, 骨量异常的发病率为 30.95%。正常对照组 42 例, 出现骨量减少 2 例, 骨量异常的发病率为 4.76%。两组骨量异常发病率的差异有统计学意义(P = 0.002)。

2.3 ER-α 和 ER-β 基因表达水平

外周血 ER-α 和 ER-β 基因 mRNA 表达水平: 与正常对照组比较, 初发 SLE 组的 ER-β 基因表达显著增高, 两者间的差异有统计学意义(P < 0.01); 但两者 ER-α 基因表达无明显差异(P > 0.05)(见表 1)。在初发 SLE 患者中, 骨量减少组和骨量正常组之间 ER-α 和 ER-β 基因 mRNA 表达水平无显著差异(P > 0.05)(见表 2)。

表 1 初发 SLE 组与正常对照组 ER-α 和 ER-β 基因表达水平

Table 1 The gene expression levels of ER-α and ER-β in the initial SLE group and normal controls			
	ER-α 表达水平	ER-β 表达水平	
初发 SLE 组(n = 42 例)	12.73 ± 1.76	15.54 ± 1.80	
正常对照组(n = 42 例)	13.29 ± 1.38	16.61 ± 1.29	
t 值	-1.60	-3.12	
P 值	0.11	0.002	

2.4 ER-α 和 ER-β 基因表达水平与骨量异常之间的关系

初发 SLE 患者 ER-α 和 ER-β 基因表达水平与骨量减少之间不存在相关性($r=0.028$, $P=0.862$; $r=0.134$, $P=0.398$)。

表 2 初发 SLE 骨量减少组与骨量正常组 ER-α 和 ER-β 基因表达水平比较

Table 2 Comparison of the gene expression levels of ER-α and ER-β between the osteopenia group and BMD normal group in initial SLE patients		
组别(例数)	ER-α 表达水平	ER-β 表达水平
SLE 骨量减少组($n=13$ 例)	13.02 ± 2.43	15.98 ± 2.40
SLE 骨量正常组($n=29$ 例)	12.61 ± 1.40	15.35 ± 1.46
t 值	0.557	1.06
P 值	0.586	0.39

3 讨论

SLE 患者的骨量减少是多种因素共同作用的结果,包括与疾病相关因素(如炎症和某些激素的异常等)和非疾病相关因素(如环境、药物治疗等)^[3]。为了排除药物及病程可能对患者骨密度的影响,我们选择初发 SLE 患者进行研究,发现初发 SLE 患者骨量减少的发病率高于同年龄的正常人,与文献的报道相一致^[4],这提示 SLE 患者可能存在与疾病相关的骨代谢异常。我们以往研究显示,初发 SLE 患者存在着外周血中维生素 D 水平的降低和 VDR 表达的增高,但它们与患者的骨量异常无明显相关性^[5]。初发 SLE 组的细胞核因子-κB 受体激活剂配体(RANKL)和护骨素(OPG)基因表达显著降低,并且初发 SLE 患者 OPG 基因表达水平与骨量减少间存在正相关性。因此,我们考虑初发 SLE 患者的骨量异常可能与 OPG 的表达降低有关^[6]。

雌激素在骨形成和骨吸收过程中起着重要作用,雌激素水平及其受体的表达可能对骨形成与骨丢失关系密切。雌激素是人体内一种重要的性激素,它通过直接或间接作用于 B、T 淋巴细胞,对机体的体液免疫和细胞免疫进行调节^[7]。雌激素对 T 淋巴细胞的调节作用还可以通过基因机制,增加催乳素的合成、贮存和分泌来完成,从而使大量的催乳素作用于 T 淋巴细胞,调节干扰素的生成^[8]。雌激素引起的免疫异常是通过 ER 的变化而产生的。目前发现人类 ER 有两种亚型(ER-α 和 ER-β)。虽然这两种 ER 的结构相似,但 ER-β 对雌二醇的亲合力较 ER-α 低。通常 ER-α 在机体中扮演激活剂的角色,而 ER-β 起着 ER-α 拮抗物的作用^[9]。有研究发现 SLE 患者外周血淋巴细胞 ER 明显高于正常对照组^[10]。这个结果在我们对初发 SLE 患者外周血淋

巴细胞基因表达进行研究时也得到了验证,但略有不同。因为 ER 是 ER mRNA 的翻译产物,所以当 ER 水平增高时,必然存在着 ER mRNA 表达的增高。我们分别检测了初发 SLE 患者外周血淋巴细胞两种 ER 的 mRNA 表达水平,发现初发 SLE 患者外周血淋巴细胞 ER-β mRNA 表达较正常对照组明显增高,而 ER-α 基因表达情况与正常对照组间的差异无统计学意义。一般认为正常情况下雌激素绝大部分与 ER-α 结合,只有在循环雌激素水平升高时 ER-β 才能被大量激活^[11],初发 SLE 患者外周血白细胞 ER-β mRNA 表达增高,可能是机体的一种保护机制,因为只有通过大量翻译的 ER-β,才能与 ER-α 竞争和雌激素的结合,拮抗过量雌激素导致的生物学作用。

总之,本研究结果显示初发 SLE 患者的骨量减少,可能与 SLE 疾病本身多种因素有关。SLE 患者体内 ERβ 基因表达增高,但与其骨量减少之间无明显相关性。临床上在预防和治疗 SLE 患者的骨质疏松时,除了补充适量的钙剂和维生素 D 外,更重要的是尽早地控制患者的病情。

【 参 考 文 献 】

[1] Mak A, Lim JQ, Liu Y, et al. Significantly higher estimated 10-year probability of fracture in lupus patients with bone mineral density comparable to that of healthy individuals. Rheumatol Int, 2013; 33(2):299-307.

[2] Folomeev M, Dougados M, Beaune J, et al. Plasma sex hormones and aromatase activity in tissues of patients with systemic lupus erythematosus. Lupus, 1992, 1: 191-195.

[3] Lee C, Almagor O, Dunlop DD, et al. Disease damage and low bone mineral density: an analysis of women with systemic lupus erythematosus ever and never receiving corticosteroids. Rheumatology, 2006, 45:53-60.

[4] Li EK, Tam LS, Young RP, et al. Loss of bone mineral density in Chinese pre-menopausal women with systemic lupus erythematosus treated with corticosteroids. Br J Rheumatol, 1998, 37(4):405-40.

[5] ZHENG Yijun, HU Dawei, CHEN Sheng, et al. The significance of the Vitamin D and Vitamin D receptor in the initial systemic lupus erythematosus patients. Chinese Journal of Rheumatology, 2009,1(9):594-598.

[6] ZHENG Yijun, HU Dawei, CHEN Shunde, et al. The significance of the RANKL and OPG gene expression in the initial systemic lupus erythematosus patients. Chin J Osteoporos, 2009, 25(1):36-39.

[7] Mor G, Munoz A, Redlinger R Jr, et al. The role of the Fas/Fas ligand system in estrogen-induced thymic alteration. Am J Reprod Immunol, 2001, 46: 298-307.

[8] Rider V, Jones S, Evans M, et al. Estrogen increases CD40 ligand expression in T cells from women with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol, 2001, 28: 2644-2649.

[9] Nilsson S, Makela S, Treuter E, et al. Mechanisms of estrogen action. Physiol Rev, 2001, 81(4): 1535-1565.

[10] FAN Yi, CHEN Hong. Role of estrogen and its receptors in the pathogenesis of SLE. International Journal of Dermatology and Venereology, 2006,2(6):349-351.

[11] Dhaheer YY, Greenstein B, de Fougereolles Nunn E, et al. Strain differences in binding properties of estrogen receptors in immature and adult BALB/c and MRL/MP-lpr/lpr mice, a model of systemic lupus erythematosus. Int J Immunopharmacol, 2000, 22: 247-254.

(收稿日期: 2013-3-14)

作者：

郑一君

李治琴

戴青

陈盛

鲍春德

胡大伟

ZHENG Yijun

LI Zhiqin

DAI Qing

CHEN Sheng

BAO Chunde

HU Dawei

作者单位：

上海交通大学医学院附属仁济医院风湿科, 上海, 200001

刊名：

中国骨质疏松杂志

ISTIC

英文刊名：

Chinese Journal of Osteoporosis

年, 卷(期):

2014(3)

本文链接：

http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201403001.aspx