

ER α 基因 SNPs 与乳腺癌芳香化酶抑制剂治疗所致骨代谢异常的关系

周悦¹ 陈红风^{2*} 叶媚娜² 胡升芳² 张卫红² 盛佳钰³

1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032

2. 上海中医药大学附属龙华医院中医乳腺科, 上海 200032

3. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院乳腺科, 上海 200437

中图分类号: R737.9, R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 08-0998-06

摘要: 目的 探讨接受芳香化酶抑制剂(AIs)治疗的乳腺癌患者 ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点单核苷酸多态性(SNPs)与 AIs 所致骨代谢异常的相关性。方法 随机选取 160 名接受 AIs 治疗的乳腺癌术后患者,排除影响骨代谢的疾病,提取全基因组 DNA 并进行 PCR 扩增,对 rs9340799、rs2234693 位点进行单向测序;用双能 X 线吸收法测定腰椎(L1-4)骨密度(BMD)。结果 ER α 基因 rs9340799 位点各基因型受试者的腰椎 BMD 存在显著性差异($P < 0.01$),A/A 型高于 A/G 型及 G/G 型($P < 0.01$);rs2234693 位点各基因型间的腰椎 BMD 亦存在显著性差异($P < 0.01$),T/T 型、C/T 型均高于 C/C 型($P < 0.01$)。去除绝经年数的影响,两位点各基因型受试者间腰椎 BMD 的差异仍具有统计学意义($P < 0.01$)。根据接受 AIs 治疗时间分层分析,两位点 SNPs 与服药 1 年内受试者的腰椎 BMD 相关($P < 0.01$),在服药 1 年及以上的受试者中,rs9340799 位点 SNP 与腰椎 BMD 相关($P < 0.05$)。结论 ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 与接受 AIs 治疗的乳腺癌患者的腰椎 BMD 存在显著性关联。与纯合基因型 A/A 型、T/T 型相比,杂合基因型 A/G 型、C/T 型及纯合基因型 G/G 型、C/C 型更具有发生骨代谢异常的可能。

关键词: ER α 基因;单核苷酸多态性;乳腺肿瘤;芳香化酶抑制剂;骨质疏松;骨密度;骨代谢

Genetic polymorphism of ER α gene is associated with bone loss in women taking aromatase inhibitor for breast cancer

ZHOU Yue¹, CHEN Hongfeng^{2*}, YE Meina², HU Shengfang², ZHANG Weihong², SHENG Jiayu³

1. Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032

2. Department of Breast Disease, Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032

3. Breast Disease Department, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Corresponding author: CHEN Hongfeng, Email: chhfluk@126.com

Abstract: **Objective** The objective of this study is to determine the influence of the polymorphisms of the ER α gene on bone loss among patients taking Aromatase inhibitors (AIs) for estrogen receptor positive (ER+) breast cancer. **Methods** The subjects consisted of 160 postmenopausal women with ER+ breast cancer who were taking third-generation AIs. Those who had conditions which affect bone metabolism were excluded. Whole genome was extracted from each participant's peripheral blood and target region was amplified and sequenced. Bone mineral density (BMD) was measured by dual energy x-ray absorptiometry. **Results** Women with G/G genotype for the rs9340799 or with C/C genotype for the rs2234693 showed significantly greater bone loss at the spine relative to patients carrying the A allele (A/A, A/G) or T allele (T/T, T/C), both $P < 0.01$. Eliminated the influence of postmenopausal years and the length of taking AIs, the results were mostly similar. **Conclusion** Patients with the A/G and G/G genotype for the rs9340799 or C/T and C/C genotype for the rs2234693 polymorphism in the ER α gene are at risk for AI-associated bone loss and deserve close follow-up during long-term AIs therapy.

Key words: ER α ; Polymorphisms; Breast cancer; Aromatase inhibitors; Osteoporosis; Bone mineral density; Bone metabolism

基金项目: 上海市中医药事业发展三年行动计划资助(ZY3-CCCX-2-1002)

* 通讯作者: 陈红风, Email: chhfluk@126.com

近年来,针对绝经后乳腺癌患者内分泌治疗的研究取得了丰硕的成果,普遍认为芳香化酶抑制剂 (aromatase inhibitors, AIs) 可作为替代或序贯他莫昔芬 (Tamoxifen, TAM) 的标准治疗。ATAC^[1]、BIG1-98^[2]、TEAM^[3] 等国际多中心临床研究,通过不同时间的随访,证实阿那曲唑、来曲唑、依西美坦用于绝经后乳腺癌的起始内分泌治疗,无病生存率 (disease free survival, DFS)、总生存率 (overall survival, OS) 均优于 TAM, 复发、远处转移的风险有所降低。ABCSC^[4]、IES^[5] 等大型临床研究则发现, TAM 序贯 AIs 治疗的无复发生存率 (recurrence-free survival, RFS) 较维持 5 年 TAM 治疗更高。2014 年 ASCO 年会报道了一项包括 36889 例绝经后乳腺癌患者的 Meta 分析,无论是持续或序贯 AIs 治疗,在防治乳腺癌复发转移及死亡方面均优于 TAM 单药治疗 5 年甚至 10 年,持续 AIs 治疗的复发率略低于 TAM 序贯 AIs 治疗^[6]。

然而, AIs 治疗在提高乳腺癌生存率的同时,所引起的骨代谢异常也影响了患者治疗的依从性和生活质量。国内外研究均证实雌激素受体 (estrogen receptor, ER)- α 基因多态性与绝经后女性骨质疏松状况密切相关,对骨折发生风险具有一定的预测作用。对于中国绝经后女性, rs9340799、rs2234693 位点单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与骨密度 (bone mineral density, BMD) 降低及骨折风险相关,但关于 AIs 引起的骨代谢异常与 ER α 基因多态性的关系尚无研究涉及。因此,本研究旨在探究 ER α 基因 SNPs 与乳腺癌 AIs 治疗所致骨代谢异常的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

所有病例来自于 2015 年 6 月-2016 年 3 月至上海中医药大学附属龙华医院门诊或住院治疗的乳腺癌术后患者,共 160 例。

纳入标准:长期居住在长三角地区,年龄 45 ~ 80 岁;经病理及免疫组织化学诊断为乳腺癌;已接受芳香化酶抑制剂 (来曲唑、阿那曲唑、依西美坦) 治疗满 1 个月;完成知情同意及相关告知。

排除标准:影响骨代谢的疾病 (如库欣综合征、甲状腺功能亢进症、风湿或类风湿性关节炎等);研究前应用类固醇类激素或抗惊厥药物 > 6 个月或 6 个月内曾使用激素替代治疗;45 岁前行子宫、卵巢切除术。

1.2 试验方法

1.2.1 骨密度测定:采用双能 X 线吸收法测量腰椎 (L1-4) BMD (生产公司:HOLOGIC, 型号:QDR4500),按照常规腰椎检测条件及体位,并对年龄、体重指数 (body mass index, BMI) 等影响 BMD 的因素进行修正。每日开机后均用模体校正,错误率为 0.5%,常年错误率 < 1%。

1.2.2 ER α 基因多态性检测:所有受试者抽取外周静脉血 500 μ L 置于 EDTA 抗凝管中,4 $^{\circ}$ C 保存待检测,采用 DNA 提取试剂盒统一提取 DNA。对目标片段进行 PCR 扩增,PCR 反应体系为 50 μ L,其中基因组 DNA 模板 1 μ L,巢式引物 Fi 1 μ L,巢式引物 Ri 1 μ L, dNTP 混合物 (10 mmol/L) 1 μ L, Taq 反应缓冲液 5 μ L, MgCl₂ (25 mmol/L) 5 μ L, Taq 酶 (5 U/ μ L) 0.5 μ L, 水 35.5 μ L。引物由生工 (上海) 生物工程有限公司合成, rs9340799-F5' TTGTT ATTTTTTTGACACATGTTCT 3', rs9340799-R 5' AAAATGACAAAATG AAATTAGCTG 3', rs2234693-F 5' ATCCAGGGTTATGTGGCAAT 3', rs2234693-R 5' CTAATAGACTTAATGTTTTTGCAGG 3'。PCR 反应体系首先在 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 然后进行 35 个循环扩增 (每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s、55 $^{\circ}$ C ~ 60 $^{\circ}$ C 退火 35 s、72 $^{\circ}$ C 延伸 40 ~ 50 s), 循环完毕后进行 72 $^{\circ}$ C 修复延伸 5 ~ 8 min。产物于 1% 琼脂糖电泳 (150 V、100 mA) 20 min 电泳观察,见图 1。PCR 产物送于生工 (上海) 生物工程有限公司进行单向测定,测序仪型号为 3730XL (美国 ABI),结果使用 Chromas 软件分析,见图 2。

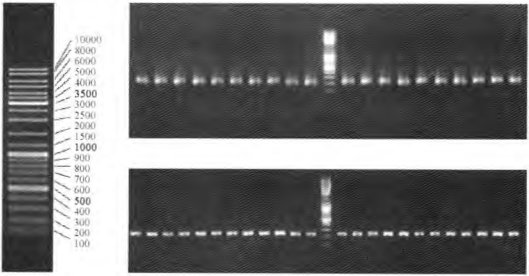


图 1 ER α 基因 PCR 产物琼脂糖电泳观察图

Fig.1 Observation of ER α gene PCR products by agarose electrophoresis

1.3 统计分析

用基因计数法分别统计各位点基因型和等位基因频率,经 Hardy-Weinberg 基因平衡检验。使用 SPSS18.0 软件进行统计分析。计量资料组间比较采用方差分析 (ANOVA), 两两比较采用 *t* 检验;计

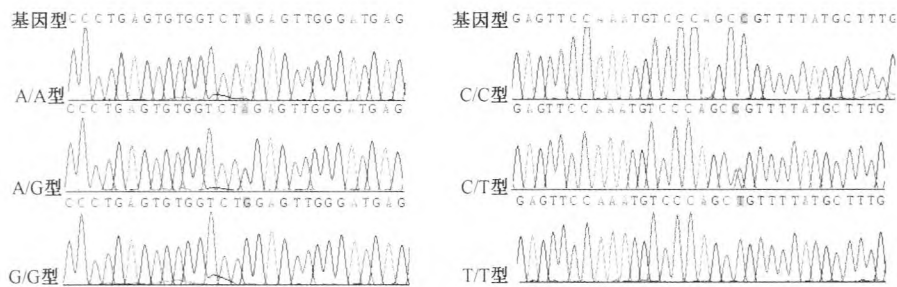


图 2 ERα 基因 rs9340799、rs2234693 位点测序图
Fig.2 Locus sequencing of ERα gene rs9340799 and rs2234693

数资料组间比较用 χ^2 检验。所有统计检验均采用双侧检验,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料分析

160 名乳腺癌术后接受 AIs 内分泌治疗的患者参加了本研究,排除/失访 0 例;所有受试者年龄为(60.87 ± 7.18)岁,绝经年数为(9.08 ± 5.99)年,接受 AIs 治疗 0 ~ 6.5 年,服用 AIs 时间 < 1 年、1 ~ 2 年、2 ~ 3 年、3 ~ 4 年、4 年以上的分别有 64 例、45 例、21 例、22 例及 8 例。其中左侧乳腺癌 80 例,右侧乳腺癌 77 例,双侧乳腺癌 3 例;病理诊断为浸润性导管癌的 131 例,导管原位癌 13 例,浸润性导管癌伴高级别导管原位癌 9 例,浸润性小叶癌 4 例,粘液腺癌 3 例;术后经过化疗及放疗者 75 例,仅经过化疗者 62 例,未经化疗及放疗者 23 例;口服来曲唑、阿那曲唑、依西美坦的分别有 65 例、51 例、44 例。各基因型组临床资料基线均衡, $P > 0.05$ 。

2.2 ERα rs9340799、rs2234693 位点基因型及等位基因分布

经 Hardy-Weinberg 基因平衡检验及基因型分

析,ERα 基因 rs9340799 位点存在 A/A、A/G、G/G 3 种基因型(测序峰图见图 2),其中 A/A 型 88 例,A/G 型 55 例,G/G 型 17 例,A/G 等位基因分布频率分别为 72%、28%, $\chi^2 = 2.97$, $P > 0.05$ 。rs2234693 位点存在 C/C、C/T、T/T 3 种基因型,分别为 26 例、75 例、59 例,C 等位基因分布频率为 40%,T 等位基因分布频率为 60%, $\chi^2 = 0.19$, $P > 0.05$,样本具有群体代表性。

2.3 ERα 基因 rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 与 BMD 的关系

对 ERα 基因 rs9340799 位点各基因型乳腺癌患者的腰椎(L1-4)BMD 进行统计分析,结果如表 1,该位点各基因型受试者间腰椎 BMD 存在显著性差异($P < 0.01$)。A/A 型组腰椎 BMD 高于 A/G 型组及 G/G 型组($P < 0.01$),携带 G 等位基因(A/G 型、G/G 型)与腰椎骨量降低有较大关联。对 rs2234693 位点 SNP 与腰椎 BMD 的关系分析显示,该位点各基因型受试者间 BMD 亦存在显著差异($P < 0.01$)。3 种基因型组间比较,腰椎 BMD 的差异均具有统计学意义,T/T 型、C/T 型组腰椎 BMD 均高于 C/C 型组($P < 0.01$)。

表 1 ERα 基因 SNPs 与腰椎 BMD 的关系

Table 1 The relationships between SNPs of ERα gene and BMD

SNPs	Type	n	BMD(g/cm ²)	P	P ^a	P ^b	P ^c
rs9340799	A/A	88	0.953 ± 0.141	<0.01	0.002	<0.01	0.001
	A/G	55	0.875 ± 0.141				
	G/G	17	0.741 ± 0.143				
rs2234693	C/C	26	0.803 ± 0.162	<0.01	0.004	<0.01	0.086
	C/T	75	0.904 ± 0.143				
	T/T	59	0.948 ± 0.150				

注:P^a表示 rs9340799 位点 A/A 型与 A/G 型、rs2234693 位点 C/C 型与 C/T 型组间比较;P^b表示 rs9340799 位点 A/A 型与 G/G 型、rs2234693 位点 C/C 型与 T/T 型组间比较;P^c表示 rs9340799 位点 A/G 型与 G/G 型、rs2234693 位点 C/T 型与 T/T 型组间比较。

进而将全部受试者分为绝经 10 年以下 (n = 95)、绝经 10 年及以上(n = 65)两组,以去除绝

经年数对于 BMD 的影响。分别对各绝经年数段受试者的腰椎 BMD 及 ERα 基因 SNPs 的关系进行分析,结果表明两位点各基因型间 BMD 仍存在显著差异 ($P < 0.01$),见表 2。rs9340799、rs2234693 位点

纯合基因型 A/A 型、T/T 型乳腺癌患者的腰椎 BMD 高于含 G、C 等位基因的杂合及纯合基因型,说明携带 A 及 T 等位基因对 BMD 的维持具有一定的优势。

表 2 ERα 基因 SNPs 与不同绝经年数段腰椎 BMD 的关系
Table 2 The relationships between SNPs of ERα gene and BMD according to menopausal years

SNPs	Type	< 10 年			≥10 年		
		<i>n</i>	BMD (g/cm ²)	<i>P</i>	<i>n</i>	BMD (g/cm ²)	<i>P</i>
rs9340799	A/A	60	0.948 ± 0.132	0.003	28	0.963 ± 0.161	< 0.01
	A/G	27	0.899 ± 0.146		28	0.852 ± 0.135	
	G/G	8	0.773 ± 0.154		9	0.713 ± 0.135	
rs2234693	C/C	10	0.813 ± 0.204	0.038	16	0.797 ± 0.136	0.014
	C/T	47	0.923 ± 0.137		28	0.873 ± 0.150	
	T/T	38	0.943 ± 0.129		21	0.956 ± 0.185	

根据接受 AIs 治疗时间将受试者分为服药 1 年以下 ($n = 64$)、1 年及以上 ($n = 96$) 两组,分别分析各服药时间段受试者的腰椎 BMD 与 ERα 基因 SNPs 的关系。如表 3,在接受 AIs 治疗 1 年以内的受试者中,腰椎 BMD 与 rs9340799、rs2234693 位点

SNPs 存在显著性关联,含 G、C 等位基因的受试者的腰椎 BMD 低于纯合基因型 A/A、T/T 型 ($P < 0.01$);在服药 1 年及以上的受试者中,rs9340799 位点 SNP 与腰椎 BMD 相关 ($P < 0.05$)。

表 3 ERα 基因 SNPs 与不同服药年数腰椎 BMD 的关系
Table 3 The relationships between SNPs of ERα gene and BMD according to years of taking AIs

SNPs	Type	< 1 年			≥1 年		
		<i>n</i>	BMD (g/cm ²)	<i>P</i>	<i>n</i>	BMD (g/cm ²)	<i>P</i>
rs9340799	A/A	30	0.974 ± 0.134	< 0.01	58	0.942 ± 0.145	0.017
	A/G	26	0.814 ± 0.133		29	0.930 ± 0.128	
	G/G	8	0.676 ± 0.148		9	0.799 ± 0.117	
rs2234693	C/C	11	0.695 ± 0.103	< 0.01	15	0.882 ± 0.153	0.237
	C/T	33	0.889 ± 0.163		42	0.915 ± 0.127	
	T/T	20	0.941 ± 0.149		39	0.952 ± 0.152	

3 讨论

3.1 乳腺癌 AIs 治疗所致的骨代谢异常

乳腺癌内分泌治疗是通过阻断雌激素合成、降低雌激素水平以及全部或部分阻断 ER 活性等方法,来改变激素依赖性肿瘤生长所需的内分泌环境^[7]。绝经后女性雌激素大部分来源于外周组织的芳香化酶,AIs 通过抑制芳香化酶活性以降低循环中的雌激素水平,从而抑制雌激素对肿瘤生长的促进作用。但是,雌激素也是人体内重要的调节骨代谢的激素之一^[8],AIs 的作用降低了体内雌激素水平,破坏了骨吸收和骨形成间的动态平衡,导致严重的高转换型骨代谢异常。因此,接受 AIs 治疗的乳腺癌患者 BMD 降低的发生率及速率高于健康绝经后女性,称为 AIs 相关性骨丢失 (aromatase

inhibitor-associated bone loss, AIBL)。口服阿那曲唑 1、2、5 年后腰椎 BMD 分别降低 2.3%、4.0% 及 6.1%,髌部 BMD 分别降低 1.4%、3.9% 及 7.2%;口服来曲唑 1、2 年后,腰椎 BMD 分别降低 3.3%、5.3%,髌部 BMD 分别降低 1.4%、3.6%;服用依西美坦 6 个月、24 个月后,腰椎 BMD 分别降低 1.7%、1.0%,髌部 BMD 分别降低 1.4%、0.8%^[9]。ATAC^[1]、IES^[5]等临床试验的间接结果也显示,阿那曲唑组腰椎 BMD 大约每年下降 2%~4%。Meta 分析显示,使用 5 年阿那曲唑,腰椎和髌部 BMD 分别降低 6.1%、7.2%,使用 2 年来曲唑,两部位 BMD 分别降低 5.3%、3.6%,使用 2 年依西美坦治疗后,两部位 BMD 分别降低 4.0%、2.0%^[10]。

3.2 ERα 基因多态性与骨代谢异常的相关性研究
并不是所有接受 AIs 治疗的乳腺癌患者均会发

生骨代谢异常,即使出现了骨代谢异常,在使用 AIs 相同时间的情况下,BMD 降低的程度也存在巨大差异。除了个体后天获得骨量的差异(如体育锻炼、饮食中钙含量等环境因素的影响),近年来,遗传因素越来越受到重视,成为研究的重点。一种基因决定一种性状,而基因多态性使得同类基因对同一种信号的反应存在程度上的差异。

雌激素主要通过 ER α 受体结合发挥作用,ER α 基因多态性可以改变 ER 的表达水平及功能,从而影响雌激素的生物学效应。ER α 基因位于 6q25.1,由 8 个外显子和 7 个内含子组成,其第一内含子中有增强子和启动子等非常重要的基因调节序列,它的突变就有可能引起 ER α 在表达与功能上产生差异。因此,目前与骨代谢异常有关的 ER α 基因多态性的研究主要集中在其第一内含子上两个 SNP 位点 rs9340799 (即 XbaI A351G)、rs2234693 (即 PvuII T397C)。

针对不同国家及地区的不同人种进行的研究,结果不尽一致。对于中国绝经后女性的研究,由于地区的差异,结果也略有差异。汪曾荣^[11]对广东地区 120 名 60~76 岁老年健康女性的研究发现,PvuII 限制性内切酶片段多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP) PP 基因型女性的 P 等位基因对于老年女性 BMD 的维持有一定作用;而 XbaI-RFLP 与老年女性股骨颈、大转子与 Ward's 三角的 BMD 均无显著关联。在上海绝经后妇女中,XbaI-RFLP 与股骨干 BMD 相关,xx 组股骨干 BMD 明显低于 Xx 组^[12]。Wang^[13]对涉及 16 个研究,包括 4297 例中国女性的研究资料进行了 Meta 分析,发现中国女性 PvuII-RFLP 与股骨颈 BMD 有弱相关性,XbaI-RFLP 与股骨颈和腰椎 BMD 均无显著相关性。在其它国家及地区,与之结果相似的是对于土耳其绝经后妇女的研究,p 等位基因携带者 BMD 低于 P 等位基因携带者,XbaI-RFLP 与各部位 BMD 无明确相关性^[14]。但在日本绝经后妇女中,PPxx 基因型携带者 BMD 明显低于其他人^[15]。除以上两个位点外,Tranah 等^[16]在 6752 名绝经后白人女性中发现 rs1801132 位点 SNP 增加椎体骨折风险。Luo 等^[17]检测 1753 名中国绝经后女性的腰椎(L2-4)、股骨颈、髋关节 BMD 及骨代谢生化指标,发现 rs1999805 位点(A/G)、rs6929137 位点(A/G)与发生骨折的风险相关,rs4870044 位点(C/T)C/C 基因型女性髋部 BMD 较低。

3.3 ER α 单核苷酸多态性与 AIs 所致骨代谢异常的关系

虽然国内外研究均表明 ER α 基因多态性与绝经后女性 BMD 改变及骨折风险相关,但研究对象主要集中于自然雌激素降低(自然绝经)的人群。本研究探索 ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 与 AIs 治疗相关性骨代谢异常有无关联,将目标人群限定为长期居住在长三角地区的无亲缘关系的乳腺癌患者,以去除因人种、地区差异引起的基因改变。采用单向测序法检测的 ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点各基因型及等位基因分布频率与近年的文献报道相似(包括患乳腺癌人群、绝经后骨质疏松人群及正常人群),表明该基因 SNPs 在中国东南部女性人群中的分布可能无明显差异^[18]。

本研究分析了 ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点各基因型与腰椎 BMD 的关系,结果显示两位点 SNPs 与 AIs 导致的 BMD 降低确存在关联,一定程度上起到预判断 AIBL 的作用。进一步去除绝经年数的影响后发现,不论是绝经 10 年以下或是绝经 10 年及以上乳腺癌患者中,rs9340799 位点 A/A 型组腰椎 BMD 均高于 A/G 型、G/G 型组,表明携带 A 等位基因可能是维持骨量的保护因素,而 G 等位携带者有更高的发生骨质疏松的风险。rs2234693 位点 T/T 型、C/T 型受试者的腰椎 BMD 明显高于 C/C 型者,说明 T 等位基因可能对于腰椎骨量有一定的维持作用,而 C 等位携带者有更高的发生 BMD 降低的概率。在去除了接受 AIs 治疗时间的影响后,在服药 1 年以内的受试者中发现腰椎 BMD 与 rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 均存在显著性关联,与在所有受试者中的表现相同,纯合基因型 A/A 型、T/T 型组 BMD 高于含 G、C 等位基因组,在服药 1 年及以上的受试者中,仅发现 rs9340799 位点 SNP 与腰椎 BMD 相关。ER α 基因 rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 对腰椎 BMD 的影响可能与接受 AIs 治疗的时间有关,但尚需进一步研究证实。

综上所述,绝经后乳腺癌的内分泌治疗是通过抑制芳香化酶的功能,本研究发现 AIs 治疗引起雌激素水平降低而导致的骨代谢异常可能与特殊的基因型相关,rs9340799、rs2234693 位点 SNPs 与 AIs 所致的骨代谢异常存在关联。含 G、C 等位基因的女性可能更易发生 AIBL。因此,对特殊基因型女性,在使用长期的 AIs 治疗时,应进行更密切的观察及检测以及时发现骨丢失,采取有效地预防及治疗,或可缓解伴随骨代谢异常所产生的全身骨关节疼痛,

降低骨质疏松及骨折的发生率。

【参 考 文 献】

- [1] Cuzick, Sestak I, Baum M, et al. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol*, 2010, 11(12): 1135-1141.
- [2] Colleoni M, Giobbie-Hurder A, Regan MM, et al. Analyses adjusting for selective crossover show improved overall survival with adjuvant letrozole compared with tamoxifen in the BIG 1-98 study. *J Clin Oncol*, 2011, 29(9): 1117-1124.
- [3] Fontein DB, Seynaeve C, Hadi P, et al. Specific adverse events predict survival benefit in patients treated with tamoxifen or aromatase inhibitors: an international tamoxifen exemestane adjuvant multinational trial analysis. *J Clin Oncol*, 2013, 31(18): 2257-2264.
- [4] Dubsky PC, Jakesz R, Mlineritsch B, et al. Tamoxifen and anastrozole as a sequencing strategy: a randomized controlled trial in postmenopausal patients with endocrine-responsive early breast cancer from the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. *J Clin Oncol*, 2012, 30(7): 722-728.
- [5] Bliss JM, Kilburn LS, Coleman RE, et al. Disease-related outcomes with long-term follow-up: an updated analysis of the intergroup exemestane study. *J Clin Oncol*, 2012, 30(7): 707-717.
- [6] Burstein HJ, TEmin S, Anderson H, et al. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: american society of clinical oncology clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol*, 2014, 32(21): 2255-2269.
- [7] Tang SC. Women and bone health: maximizing the benefits of aromatase inhibitor therapy. *Oncology*, 2010, 79(1-2): 13-26.
- [8] Ghazi M, Roux C. Hormonal deprivation therapy - induced osteoporosis in postmenopausal women with breast cancer. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2009, 23(6): 805-811.
- [9] Seeman E. Bone quality: the material and structural basis of bone strength. *Bone Miner Metab*, 2008, 26(1): 1.
- [10] Obiorah I, Jordan VC. Progress in endocrine approaches to the treatment and prevention of breast cancer. *Maturitas*, 2011, 70(4): 315-321.
- [11] 汪曾荣. 雌激素受体基因多态性与老年妇女的骨密度. *中国组织工程研究*, 2015, 19(2): 182-186.
Wang ZR. Correlation between estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density in elderly women. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2015, 19(2): 182-186. (in Chinese)
- [12] 张秀珍, 李颖, 钱国锋, 等. 绝经后妇女雌激素受体基因多态性与骨和脂代谢的相关性研究. *现代妇产科进展*, 2004, 13(5): 345-348, 361.
Zhang XZ, Li Y, Qian GF, et al. Relationship of estrogen receptor gene polymorphism and bone metabolism and lipid metabolism in postmenopausal women. *Prog Obstet Gynecol*, 2004, 13(5): 345-348, 361. (in Chinese)
- [13] 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. *Osteoporos Int*, 2007, 18(3): 295-305.
- [14] Kurt O, Yilmaz-Aydogan H, Uyar M, et al. Evaluation of ER α and VDR gene polymorphisms in relation to bone mineral density in Turkish postmenopausal women. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(6): 6723-6730.
- [15] Kitamura I, Ando F, Koda M, et al. Effects of the interaction between lean tissue mass and estrogen receptor alpha gene polymorphism on bone mineral density in middle-aged and elderly Japanese. *Bone*, 2007, 40(6): 1623-1629.
- [16] Tranah CJ, Taylor BC, Lui LY, et al. Genetic variation in candidate osteoporosis genes, bone mineral density, and fracture risk: the study of osteoporotic fracture. *Calcif Tissue Int*, 2008, 83(3): 155-166.
- [17] Luo LM, Xia WB, Nie M, et al. Association of ESR1 and C6orf97 gene polymorphism with osteoporosis in postmenopausal women. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(5): 3235-3243.
- [18] 宋传贵, 胡震, 袁文涛, 等. ER 基因多态性与无 BRCA1/2 基因突变的有遗传倾向的乳腺癌的关系. *中华普通外科杂志*, 2006, 21(9): 637-640.
Song CG, Hu Z, Yuan WT, et al. ER- α gene polymorphisms and the risk of non-BRCA1/2 hereditary breast cancer. *Clin J Gen Surg*, 2006, 21(9): 637-640. (in Chinese)

(收稿日期: 2016-02-21)