

# 石河子地区中老年人群 LRP5 基因 Q89R 位点多态性与骨质疏松的关联性分析

陈福宇<sup>1</sup> 李海涛<sup>1</sup> 孟德峰<sup>1</sup> 张蕾<sup>2</sup> 史晨辉<sup>1</sup> 王维山<sup>1\*</sup>

1. 石河子大学医学院第一附属医院骨科, 新疆 石河子 832002
2. 石河子大学医学院第一附属医院检验科, 新疆 石河子 832002

中图分类号: R592 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 04-0421-07

**摘要:** **目的** 本研究旨在探讨石河子地区中老年人群 LRP5 基因 Q89R 位点多态性与骨质疏松之间的关系。**方法** 通过采用聚合酶链反应限制性片段长度多态性技术(PCR-RFLP)对 115 例健康汉族中老年人、74 例骨量低下者和 33 例骨质疏松患者的 LRP5 基因 Q89R 位点进行分型,并计算其基因频率分布;全自动生化仪对生化指标进行检测;双能 X 线骨密度仪测定腰椎 L1-L4 和股骨颈、Ward's 三角区、大转子、股骨干的骨密度。**结果** 中老年男性人群 LRP5 基因 Q89R 位点各基因型之间的骨密度、生化指标均无统计学差异。中老年女性 LRP5 基因 Q89R 位点 QQ、QR、RR 基因型总基因频率分别为 82.14%、16.97%、0.89%;正常对照组分别为 88.10%、11.90%、0%;骨量低下组分别为 90.24%、9.76%、0%,骨质疏松组分别为 62.07%、34.48%、3.45%,QQ、QR 型在骨质疏松组与骨量低下组、正常对照组之间的基因频率存在显著性统计学差异;腰椎 L1-L3、大转子的骨密度与 Q89R 基因型相关;未发现腰椎第四节、Ward's 三角区、股骨颈、股骨干的骨密度值与 Q89R 基因型具有相关性;生化指标中,血清磷含量与基因型显著相关。**结论** LRP5 基因 Q89R 位点多态性具有种族、地区差异性。LRP5 基因 Q89R 位点基因多态性是石河子地区中老年女性骨质疏松的预测因素,提示 LRP5 基因是影响骨密度的候选基因之一。

**关键词:** LRP5 基因 Q89R 位点;骨质疏松;基因多态性;聚合酶链反应;限制性片段长度多态性

## Correlation analysis of LRP5 gene Q89R site polymorphisms and osteoporosis in middle-aged and older people in Shihezi area

CHEN Fuyū<sup>1</sup>, LI Haitao<sup>1</sup>, MENG Defeng<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>2</sup>, SHI Chenhui<sup>1</sup>, WANG Weishan<sup>1\*</sup>

1. Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, China
  2. Division of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, China
- Corresponding author: WANG Weishan, Email: wwsmc2002@sina.com

**Abstract:** **Objective** The aim of this study was to investigate the relationship between LRP5 gene Q89R site polymorphisms and osteoporosis among middle-aged and older people in the Shihezi area. **Methods** Q89R genotypes were analyzed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in 222 middle-aged and old people in Shihezi. The genotypes of LRP5 gene Q89R site were classified and the allele frequency distribution was calculated. Biochemical indicators were detected by automatic biochemical analyzer. Bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L1-L4), femoral neck, Ward's triangle area, trochanter and femoral shaft were measured by dual X-ray absorptiometry (DXA). **Results** There were no significant differences in BMD and biochemical parameters between the LRP5 gene Q89R site polymorphisms in middle-aged and older males. The total gene frequencies of QQ, QR and RR genotypes at the LRP5 gene Q89R site in middle-aged and older females were 82.14%, 16.97%, 0.89% (normal bone mass group 88.10%, 11.90%, 0%; osteopenia group 90.24%, 9.76%, 0%; osteoporosis group 62.07%, 34.48%, 3.45%). There were significant differences in the gene frequency between osteoporosis, osteopenia and normal control groups for QQ and QR genotypes. There were significant correlations between BMD of lumbar spine (L1-L3) and trochanter and Q89R genotype. No significant correlations were found between the BMD of lumbar spine (L4), Ward's triangle, femoral neck, femoral shaft and Q89R genotype. Among biochemical parameters, serum phosphorus was significantly correlated with

基金项目: 国家自然科学基金(项目编号:81360451);兵团科技创新团队专项基金资助课题(项目编号:2014CC002)

\* 通讯作者: 王维山, Email: wwsmc2002@sina.com

genotype. **Conclusion** There are ethnic and regional differences on the polymorphism of LRP5 gene Q89R site. LRP5 gene Q89R site polymorphism is a predictor of osteoporosis among middle-aged and older women in Shihezi area, suggesting that the LRP5 gene is one of the candidate genes that affect bone density.

**Key words:** LRP5 gene Q89R site; Osteoporosis; Genetic Polymorphism; Polymerase Chain Reaction (PCR); Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

LRP5 基因存在于染色体 11q13 区, 包含 23 个编码外显子, 编码 1615 个氨基酸组成的蛋白质, 是骨形成和成骨细胞增殖的重要调节子<sup>[1]</sup>。LRP5 基因功能缺失性突变(G171V)导致一种常染色隐性遗传性疾病, 具有眼发育异常、儿童期骨折、低骨量的特点, 称为骨质疏松-假神经胶质瘤综合征<sup>[2]</sup>。Little 等<sup>[3]</sup>的研究提示胞外区第一个  $\beta$ -螺旋结构内的点突变改变局部疏水环境从而可能影响 LRP5 和其他蛋白质之间的相互作用, 因而推测 LRP5 基因 Q89R 多态性位点可能通过改变 LRP5 蛋白质功能而影响了骨密度。由于新疆远离内陆地区, 气候、饮食等与内陆有一定的差别, 且汉族人口为中东部不同省份迁入, 目前尚无针对新疆地区汉族人群 LRP5 基因 Q89R 位点基因频率的相关文献报道, 因此本研究旨在探讨石河子地区中老年人 LRP5 基因 Q89R 位点与骨质疏松的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

本研究选取 2015 年 6 月至 2016 年 5 月在新疆石河子大学医学院第一附属医院骨科住院的汉族 45 岁及以上的中老年病人作为研究对象。纳入对象排除严重肝肾疾患、骨代谢相关疾病(糖尿病、甲状腺功能亢进、风湿性关节炎等)病史, 无半年内服用影响骨代谢药物的药物史。本研究根据骨密度情况将研究对象分为三组: 骨质疏松组、骨量低下组、骨量正常组。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 采集标本:** 血液标本采集研究对象均空腹 12~14 h, 抽取肘正中静脉血 6 mL 置于 EDTA 抗凝管中, Thermo -80 °C 冰箱保存; 取静脉血 4 mL 置于肝素抗凝管中, 1 h 内 2 500 r/min 离心 10 min, 取上层血清用于生化指标的检测。

**1.2.2 提取 DNA:** 取全血 1 mL, 试剂盒法(天根公司血液基因组 DNA 提取试剂盒, TIANamp Blood DNA Kit, 离心柱型)提取基因组 DNA。取 4  $\mu$ L DNA 产物与 1  $\mu$ L loading buffer(天根公司)混合, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳, Goldview 染色, 使用凝胶成像

仪(Bio-rad 公司)观察 DNA 提取是否成功。

**1.2.3 聚合酶链反应:** LRP5 基因 Q89R 位点引物按参考文献设计<sup>[4]</sup>, 序列为 Upstream primer: 5'-TCTGGGCATAGTGCTCCATC-3'; Downstream primer: 5'-TTCCGGGATGTGCCATTGAG-3'。反应体系为 25  $\mu$ L, 其中含 Thermo Mix 12.5  $\mu$ L; 三蒸水 9.5  $\mu$ L; 上游引物、下游引物各 0.5  $\mu$ L; 模板 DNA 2  $\mu$ L。置于 PCR 仪(日本 Takala 公司)中 95 °C 预变性 7 min, 按下列程序循环 34 次, 即 95 °C 变性 1 min, 56 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 72 °C 最终延伸 10 min。取 5  $\mu$ L PCR 产物, 经 1.5% 琼脂糖凝胶(Goldview 染色)电泳, 使用凝胶成像仪(Bio-Rad 公司)观察扩增是否成功。

**1.2.4 限制性酶切:** PCR 扩增产物 10  $\mu$ L(约 0.3  $\mu$ g)直接用 1U Ava II 酶切(快酶, Thermo 公司生产)反应体系共 30  $\mu$ L(1  $\mu$ L enzyme、Tango buffer、water、10  $\mu$ L PCR product), 温度为 37 °C, 反应时间为 20 min。酶切反应终止后, 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶(Goldview 染色)电泳, 以 DNA marker(DNA 片段的分子量为 100bp、200bp、300bp、400bp、500bp、600bp 的 DNA 片段)作为参考, 凝胶成像仪(Bio-Rad 公司)下观察结果并成像保存。

**1.2.5 基因测序:** PCR 产物由 3730XL 测序仪(北京六合华大基因科技股份有限公司)测定, 并使用 Chromas 软件分析, 结果见图 4。

**1.2.6 生化指标的测定:** 采用日立 7170 全自动生化分析仪测定碱性磷酸酶(AKP)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、载脂蛋白 A(APO-A)、钙(Ca)、磷(P)在血液中的浓度。

**1.2.7 骨密度(BMD)的测定:** 应用双能 X 线骨密度测量仪(美国 GE 公司 LUNAR 双能 X 线骨密度仪, 石河子大学医学院第一附属医院骨密度室)检测 BMD(单位为  $g/cm^2$ ), 测定受试者腰椎第一节、腰椎第二节、腰椎第三节、腰椎第四节、股骨颈(FN)、大转子(Troch)和 Ward's 三角区、股骨干(FS)的 BMD 值。每日测量前均进行仪器质量控制, 每月做 1 次腰椎模型, 符合质控要求后进行检查。

**1.2.8 统计学处理:** 统计软件采用 SPSS 17.0 for windows, 计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示。Hardy-Weinberg

平衡吻合度分析以及其它计数资料采用 Pearson 检验, QQ 组与 QR 组各参数的比较采用成组 *t* 检验, 检验水准为  $\alpha = 0.05$ , 以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 研究对象的基本情况

研究对象各项生化指标、骨密度数据见表 1。根据骨密度的差别将研究对象分为三组。

2.1.1 骨质疏松组: 骨科入院病人 33 例, 平均

67.7 ± 13.4 岁。男性 4 例, 平均 65.5 ± 4.0 岁; 女性 29 例, 平均 68.0 ± 12.2 岁。

2.1.2 骨量低下组: 骨科入院病人 74 例, 平均 59.8 ± 12.8 岁。男性 33 例, 平均 59.5 ± 15.4 岁; 女性 41 例, 平均 60.0 ± 10.4 岁。

2.1.3 骨量正常组: 骨科入院病人 115 例, 平均 54.1 ± 10.0 岁。男性 73 例, 平均 54.6 ± 10.8 岁; 女性 42 例, 平均 53.4 ± 8.6 岁。

表 1 石河子地区中老年人 Q89R 基因型之间生化指标、骨密度的比较

Table 1 Comparison of biochemical indexes and BMD among Q89R genotypes in middle-aged and older people in Shihezi area

	男性		女性		
	QQ	QR	QQ	QR	RR
Number	87	23	92	19	1
Age (years)	56.402 ± 13.335	56.609 ± 12.067	59.783 ± 11.834	58.444 ± 11.174	52
AKP (U/L)	68.200 ± 23.053	67.682 ± 22.672	68.467 ± 27.111	71.500 ± 22.168	46.000
LDL (mmol/L)	2.571 ± 1.249	3.051 ± 0.798	2.861 ± 0.839	2.642 ± 0.903	2.630
HDL (mmol/L)	0.937 ± 0.298	0.936 ± 0.238	1.159 ± 0.301	1.144 ± 0.293	1.450
Apo-A (g/L)	0.862 ± 0.261	0.895 ± 0.254	1.064 ± 0.256	1.061 ± 0.281	1.190
Ca (mmol/L)	2.221 ± 0.151	2.197 ± 0.145	2.225 ± 0.133	2.264 ± 0.103	2.190
P (mmol/L)	1.148 ± 0.233	1.092 ± 0.217	1.160 ± 0.187	1.257 ± 0.142 <sup>a</sup>	1.240
L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.057 ± 0.168	1.026 ± 0.143	0.954 ± 0.171	0.841 ± 0.157 <sup>b</sup>	0.734
L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.137 ± 0.171	1.126 ± 0.139	1.014 ± 0.194	0.869 ± 0.169 <sup>c</sup>	0.775
L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.201 ± 0.191	1.170 ± 0.152	1.094 ± 0.197	0.995 ± 0.206 <sup>d</sup>	0.915
L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.219 ± 0.222	1.176 ± 0.170	1.115 ± 0.206	1.025 ± 0.196	1.000
FN (g/cm <sup>2</sup> )	0.963 ± 0.164	0.933 ± 0.141	0.845 ± 0.172	0.792 ± 0.151	NA
Troch (g/cm <sup>2</sup> )	0.810 ± 0.206	0.773 ± 0.151	0.703 ± 0.142	0.621 ± 0.156 <sup>e</sup>	NA
Ward's (g/cm <sup>2</sup> )	0.831 ± 0.143	0.799 ± 0.112	0.664 ± 0.199	0.597 ± 0.211	NA
FS (g/cm <sup>2</sup> )	1.114 ± 0.234	1.121 ± 0.171	1.054 ± 0.204	0.974 ± 0.201	NA

注: 1. NA 代表信息缺失;

2. QR 组数据的右上标表示, 中老年女性 QQ 型与 QR 型各项指标比较, 差异有统计学意义。a、b、c、d、e 对应的 *P* 值依次为: 0.041、0.009、0.003、0.048、0.049

Note: 1. NA represents "not applicable";

2. The right superscript in QR group data represents statistical significance where the difference was indicated between QQ genotype and QR genotype as in the middle aged and old female population. The corresponding *P* values of a, b, c, d and e respectively were 0.041, 0.009, 0.003, 0.048, 0.049 in order

### 2.2 LRP5 基因 Q89R 位点多态性分布

本研究中, 各组基因型及等位基因频率符合遗传学 Hardy-Weinberg 定律 ( $P > 0.05$ ), 显示研究样本为遗传平衡群体。

### 2.3 基因型判定

从血液中提取人类基因组 DNA (图 1) 后, 再进行 PCR (图 2), 然后酶切得出结果。LRP5 基因 Q89R 位点酶切后分为三型: QQ 型 (436bp) 为野生型, QR 型 (436bp、274bp、162bp) 为杂合子, RR 型 (274bp、162bp) 为突变型。基因型可分别由酶切结

果 (图 3)、测序结果 (图 4) 判定。

### 2.4 基因型频率分布

石河子地区中老年人群 LRP5 基因 Q89R 位点基因型频率分布依次为 QQ 型 (80.63%)、QR 型 (18.92%)、RR 型 (0.45%), 中老年女性 LRP5 基因 Q89R 位点基因型频率分布依次为 QQ 型 (82.14%)、QR 型 (16.96%)、RR 型 (0.89%), 中老年男性 LRP5 基因 Q89R 位点基因型频率分布依次为 QQ 型 (79.09%)、QR 型 (20.91%)、RR 型 (0.00%)。

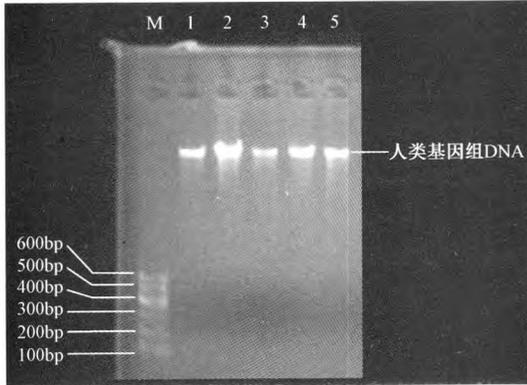


图1 用试剂盒从血液中提取的DNA的琼脂糖凝胶电泳图, M为marker, 1、2、3、4、5为人类基因组DNA

Fig. 1 The agarose gel electrophoresis of DNA extracted from the blood using TIANamp Blood DNA Kit, M stands for Marker, 1, 2, 3, 4, 5 stands for the human genome DNA

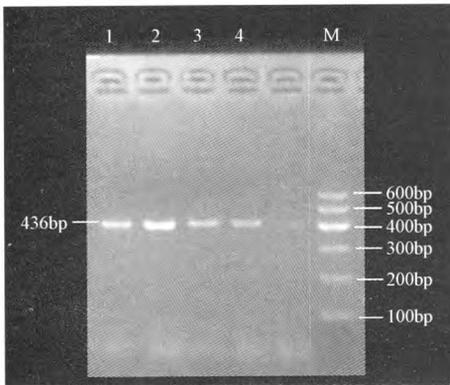


图2 经PCR产生的DNA片段的琼脂糖凝胶电泳图, M为marker, 1、2、3、4为目的DNA片段, 分子量大小为436bp

Fig. 2 The agarose gel electrophoresis of objective DNA fragment generated by PCR, M for marker, 1, 2, 3, 4 for the target of DNA fragments, the molecular weight is 436bp

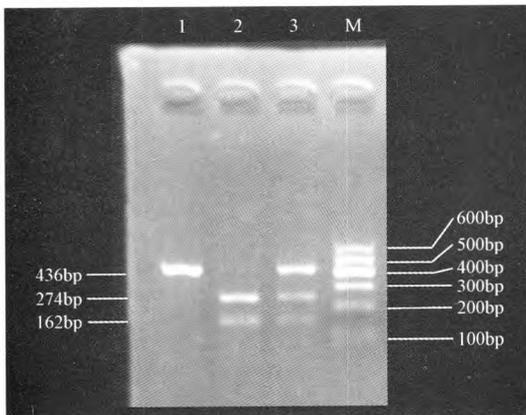


图3 经Ava II酶切后DNA片段的琼脂糖凝胶电泳图, M为Marker, 1为QQ型, 2为RR型, 3为QR型

Fig. 3 The agarose gel electrophoresis of DNA fragments digested by enzyme Ava II, M stands for Marker, 1 for QQ genotype, 2 for RR genotype, 3 for QR genotype

### 2.5 不同人群基因型频率分布

由表1可见,石河子地区中老年人群LRP5基因Q89R位点的等位基因频率与高加索人群<sup>[5]</sup>有较大差异,高加索人群中的Q型等位基因频率为100%,未发现R型等位基因。哈尔滨<sup>[6-7]</sup>、安徽<sup>[8]</sup>、上海<sup>[9]</sup>、韩国<sup>[10]</sup>的研究在数值上与本研究较为接近,但也有一定差别。

表2 不同人群LRPP5基因Q89R位点各基因型、等位基因的频率分布

Table 2 The distribution frequency of LRPP5 gene Q89R site polymorphisms in different populations

Population	Number	Genotypic frequency			Allelic frequency	
		QQ	QR	RR	Q	R
Shihezi	222	0.806	0.189	0.005	0.901	0.099
Haerbin(♀)	283	0.834	0.166	0	0.917	0.083
Haerbin(♂)	132	0.856	0.144	0	0.919	0.081
Anhui	247	0.834	0.166	0	0.917	0.083
Shanghai	647	0.805	0.187	0.008	0.899	0.101
Korean	219	0.831	0.169	0	0.920	0.080
Caucasian	100	1	0	0	1	0

### 2.6 基因型与生化指标的相关性

中老年女性生化指标中,只有血清磷含量与基因型显著相关( $P < 0.05$ ),QR型血清磷浓度明显低于QQ型;未见碱性磷酸酶、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、载脂蛋白-A与基因型相关( $P > 0.05$ )。中老年男性的各项生化指标均与基因型无关( $P > 0.05$ )。

### 2.7 基因型与骨密度的相关性

骨密度的衡量标准为T值:  $-1 < T \text{值} < 1$ 提示骨密度值正常;  $-2.5 < T \text{值} < -1$ 提示骨量减少、骨质流失;  $T \text{值} < -2.5$ 提示骨质疏松症。见图5。

在中老年女性群体中,L1、L2、L3的骨密度值与Q89R基因型相关( $P < 0.05$ ),L4的骨密度值与Q89R基因型无相关性( $P > 0.05$ ),并且大转子的骨密度值与Q89R基因型相关( $P < 0.05$ ),未发现Ward's三角区、股骨颈、股骨干的骨密度值与Q89R基因型具有相关性( $P > 0.05$ )。QR型的腰椎L1-L3、大转子的骨密度明显低于QQ型。中老年男性LRP5基因Q89R位点各型之间各个部位的骨密度均无统计学差异( $P > 0.05$ )。尽管中老年男性的LRP5基因Q89R位点的基因型与骨质疏松并无相关性(表3),但中老年女性的LRP5基因Q89R位点的基因型与骨质疏松呈显著相关(图6)。

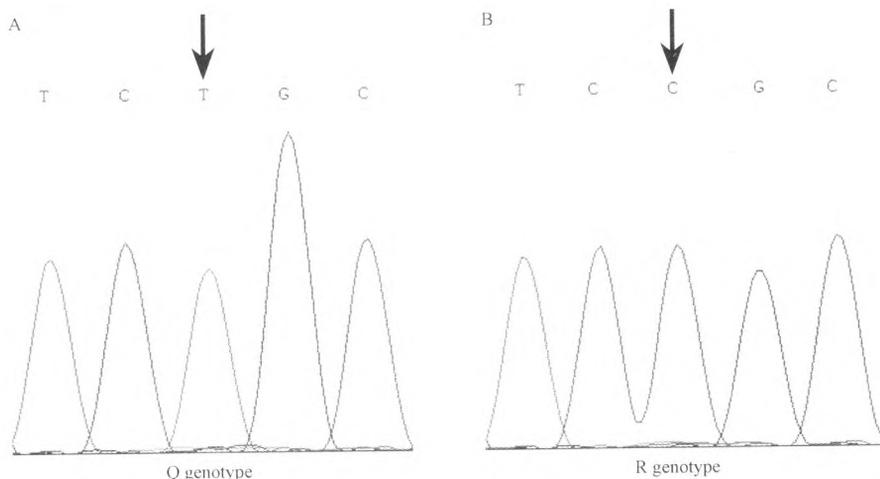


图4 基因测序图:A链为Q型,B链为突变后的R型,箭头所指处为突变碱基所在位置,由“T”(胸腺嘧啶)突变为“C”(胞嘧啶)

Fig. 4 Picture for gene sequencing: Chain A is Q genotype, chain B is R genotype after mutation, arrow points to mutation location. The position the arrow points to is the place where “T” (thymine) mutations to “C” (cytosine)

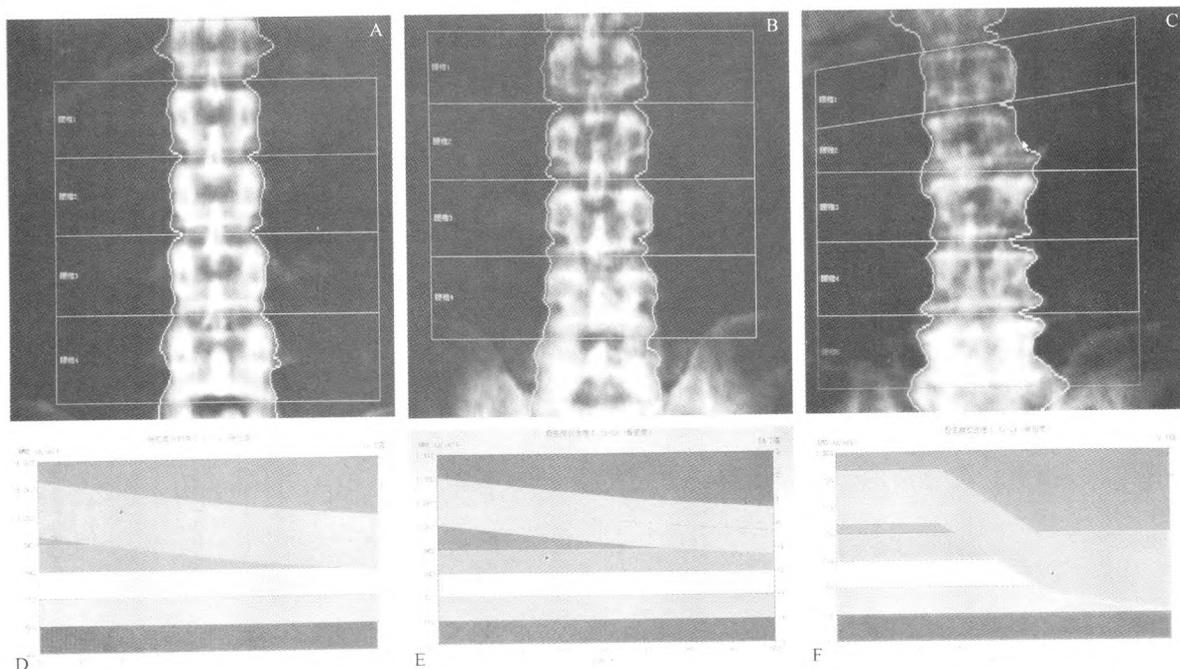


图5 A、B、C分别为骨量正常者、骨量低下者、骨质疏松者的脊柱正位图;D、E、F分别为骨量正常者、骨量低下者、骨质疏松者的骨密度测量数据图

Fig. 5 A, B and C respectively stand for the AP spine images of normal bone density, osteopenia and osteoporosis; D, E, F respectively stands for the data of bone mineral density in the normal bone density, osteopenia and osteoporosis groups

### 3 讨论

Johnston<sup>[11]</sup>指出,人群骨密度的差别20%取决于环境因素,80%取决于遗传因素。LRP5作为Wnt共受体参与Wnt信号传导,Wnt-β-粘蛋白途径是

Wnt蛋白触发的一种主要信号转导途径,也被称为规范化Wnt信号途径。Wnt与LRP5、Fz蛋白形成复合物。激活下游信号并引起β-25粘蛋白稳定性增强,促使其转运至核内与Lef1/Tcf转录因子结合,继而影响基因的表达<sup>[12-13]</sup>,进而调节细胞生存、增

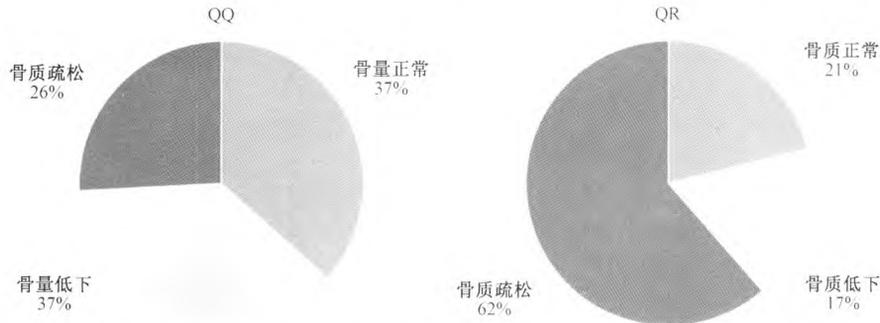


图6 中老年女性 QQ 型中骨质疏松的比例明显低于 QR 型( $\chi^2 = 9.196, P = 0.01$ )

Fig. 6 The proportion with osteoporosis in the QQ genotype was significantly lower than that in the QR genotype in middle-aged and older women( $\chi^2 = 9.196, P = 0.01$ )

表3 基因型之间三个分组两两比较

Table 3 Comparison of between the three groups of genotypes

	QQ	QR	$\chi^2$	P
Osteoporosis(♀)	18	10	6.932	0.008*
Low bone mass(♀)	37	4		
Osteoporosis(♂)	18	10	5.657	0.017*
Normal bone mass(♀)	37	5		
Low bone mass(♀)	37	4	0.099	0.753
Normal bone mass(♂)	37	5		
Osteoporosis(♂)	4	0	1.897	0.168
Low bone mass(♂)	22	11		
Osteoporosis(♂)	4	0	0.779	0.377
Normal bone mass(♂)	61	12		
Low bone mass(♂)	22	11	3.818	0.051
Normal bone mass(♂)	61	12		

注: \* 表示组间比较差异有显著性,  $P < 0.05$

Note: \* indicating significant difference between groups,  $P < 0.05$

殖、分化、迁移等细胞活动。多种基因与骨密度相关,不同的基因对骨矿盐代谢的影响可能存在协同或拮抗作用。同一基因对不同地区、不同民族的BMD影响不尽相同。目前认为可能存在以下二种遗传机制影响骨量:①分子结构层面的作用 即某一基因位点发生突变可能导致相应功能蛋白的分子结构改变,如胶原蛋白基因突变会引起胶原蛋白分子结构上的变化<sup>[14]</sup>;②通过影响骨代谢平衡 骨代谢是由破骨细胞的骨吸收和成骨细胞的骨形成共同协调形成的骨重建过程,骨形成速率小于骨吸收速率而引起骨量的丢失<sup>[15]</sup>。基因层面可通过调节骨重建过程而发挥对骨量的影响作用,如维生素D受体(VDR)基因<sup>[16]</sup>、雌激素受体(ER)基因<sup>[17]</sup>等都经过此途径调节骨的代谢过程。

常规体检人群中,骨量正常的患者占据较大比例,因此本研究将入院病人作为研究对象,骨量正常

患者的比例较常规体检人群小,利于骨量正常、骨量异常组间病人数量的均衡,更符合统计学要求。收集资料数据时,发现部分病人的载脂蛋白A数据异常,因此也将其纳入生化指标中进行分析。经过统计学分析,不同基因型之间的载脂蛋白A的浓度并未呈现差异。本研究仅检测出一例RR型病人,由于样本量过少,无法进行统计学分析,因此不确定RR型是否能作为汉族人群预测骨质疏松的基因型。以往同类研究往往将腰椎第一节、腰椎第二节、腰椎第三节、腰椎第四节合为同一变量(L1-L4)来分析,本研究则将四节腰椎分别与Q89R基因型的关联性分别进行分析,有助于研究的深化与细化。本研究显示,中老年男性与女性人群在LRP5基因Q89R位点基因型与骨密度、生化指标相关性方面有较大差异,这可能与LRP5基因调节激素有关。在中老年男性群体骨量低下、骨量正常分组中,QR型中骨量低下占47.83%,QQ型中骨量低下占26.51%,虽然差异没有统计学意义,但QR型骨量低下的比例明显高于QQ型。统计学结果可以作为重要参考,但也要考虑临床客观实际情况,不必迷信P值,因此两种基因型之间的差异仍然需要重视。以后的研究将扩大样本量,以期得到更精确的数据。本研究对骨质疏松就要采用骨密度作为评价指标,这一点存在一定的局限性。本研究进行的基因与骨密度的关联性分析,得出的是一种相关联的现象,而未必是基因与骨密度的直接决定关系,故也存在一定的局限性。

Koh等<sup>[10]</sup>对219名韩国青年男性的研究发现,LRP5基因Q89R位点多态性与Ward's三角区及股骨颈的骨密度存在相关性。Zhang等<sup>[9]</sup>则在对647名上海绝经后妇女研究发现Q89R的QQ基因型较QR/RR型股骨颈处密度更高。Van等<sup>[5]</sup>的研究未发

现高加索人中 LRP5 基因 Q89R 位点的基因多态性,提示此位点的基因多态性分布可能存在种族差异。朱翔等<sup>[8]</sup>对安徽地区 247 名绝经后女性的研究发现, Q89R 多态性与股骨颈和大转子区骨密度显著相关,与腰椎以及 Ward's 三角区骨密度无关。本研究显示,在中老年女性群体中, L1、L2、L3、大转子的骨密度值与 Q89R 基因型相关( $P < 0.05$ ), L4 的骨密度值与 Q89R 基因型无相关性( $P > 0.05$ )。虽然都得出基因与骨密度相关的结论,但本研究只与朱翔的 Q89R 多态性与大转子区骨密度显著相关的结论相同,与其它研究的相关性所在部位并不相同。

本研究提示, LRP5 基因 Q89R 多态性位点可能通过对骨密度、血清磷等相关因素的调控,进而影响中老年女性骨质疏松症的发生、发展。对 LRP5 基因 Q89R 位点多态性的研究,使我们从基因水平上认识不同种族间骨质疏松发病率的差异,这对骨质疏松病因学和防治具有重要意义。今后相关基因研究可以在基因筛查实验的基础上,充分考虑基因之间的连锁不平衡以及基因之间的相互作用,以后还需要进一步扩大样本含量以提高样本代表性,使数据准确性达到更高的水平。并通过分子生物学、生物化学等各项手段来了解相关基因对骨质疏松的具体作用机制,进而探索出不同地区不同民族之间骨质疏松发病的危险因素以及积极因素,有助于为临床治疗提供更为合理治疗方案,提高骨质疏松症的预防、治疗效果,对降低骨质疏松症的发病率具有重要意义。

#### 【参 考 文 献】

- [ 1 ] Kim DH, Inagaki Y, Suzuki T, et al. A new low density lipoprotein receptor related protein, LRP5, is expressed in hepatocytes and adrenal cortex, and recognizes apolipoprotein E. *J Biochem*, 1998, 124(6): 1072-1076.
- [ 2 ] Gong Y, Slee RB, Fukai N, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*, 2001, 107(4): 513-523.
- [ 3 ] Little RD, Carulli JP, Del MRG, et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(1): 11-19.
- [ 4 ] Okubo M, Horinishi A, Kim DH, et al. Seven novel sequence variants in the human low density lipoprotein receptor related protein 5 (LRP5) gene. *Hum Mutat*, 2002, 19(2): 186.
- [ 5 ] Van Wesenbeeck L, Cleiren E, Gram J, et al. Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene in different conditions with an increased bone density. *Am J Hum Genet*, 2003, 72(3): 763-771.
- [ 6 ] 李颖, 孙长颖, 尹慧, 等. 哈尔滨男性 LRP5、VDR 基因多态性与骨密度关系. *中国公共卫生*, 2006, 22(10): 1192-1194.
- [ 7 ] 李颖, 孙长颖, 尹慧, 等. 中国北方绝经前妇女低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 基因多态性与骨密度关系研究. *卫生研究*. 2006. 35(5): 576-579.
- [ 8 ] 朱翔, 章秋, 王佑民, 等. 安徽地区绝经后妇女低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 基因多态性与骨密度的关系. *中国骨质疏松杂志*, 2007, 13(5): 327-329.
- [ 9 ] Zhu X, Zhang Q, Wang YM, et al. Study on association between LDL receptor-related protein 5 gene polymorphisms and bone mineral density in Anhui postmenopausal women. *Chinese Journal of osteoporosis*, 2007, 13(5): 327-329. (in Chinese)
- [ 10 ] Zhang ZL, Qin YJ, He JW, et al. Association of polymorphisms in low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene with bone mineral density in postmenopausal Chinese women. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(9): 1111-1116.
- [ 11 ] Koh JM, Jung MH, Hong JS, et al. Association between bone mineral density and LDL receptor-related protein 5 gene polymorphisms in young Korean men. *J Korean Med Sci*, 2004, 19(3): 407-412.
- [ 12 ] Johnston CC, Miller JZ, Slemenda CW, et al. Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med*, 1992, 327(2): 82-87.
- [ 13 ] He X, Semenov M, Tamai K, et al. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way. *Development*, 2004, 131(8): 1663-1677.
- [ 14 ] Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene*, 2004, 341: 19-39.
- [ 15 ] Nakashima Y, Sakamoto Y, Nishimura G, et al. A novel type II collagen gene mutation in a family with spondyloepiphyseal dysplasia and extensive intrafamilial phenotypic diversity. *Hum Genome Var*, 2016, 3: 16007.
- [ 16 ] Lin CY, Sun JS, Sheu SY, et al. The effect of Chinese medicine on bone cell activities. *Am J Chin Med*, 2002, 30(2-3): 271-285.
- [ 17 ] Dehghan M, Pourahmad-Jaktaji R. The Effect of Some Polymorphisms in Vitamin D Receptor Gene in Menopausal Women with Osteoporosis. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10(6): RC06-10.
- [ 18 ] Wajanavisit W, Suppachokmongkorn S, Woratanarat P, et al. The Association of Bone Mineral Density and G2014A Polymorphism in the Estrogen Receptor Alpha Gene in Osteoporotic Hip Fracture in Thai Population. *J Med Assoc Thai*, 2015, 98 Suppl 8: S82-87.

(收稿日期: 2016-09-03, 修回日期: 2016-10-08)