

# 糖尿病性骨质疏松患者雌激素受体 $\alpha$ 基因 XbaI (rs9340799) SNP 和 HbA1c 水平交互作用与疾病易感性分析

汤小峰, 蒋艺兰, 朱 蓓 (如皋市人民医院内分泌科, 江苏南通 226500)

**摘要:** 目的 探讨糖尿病性骨质疏松症 (diabetic osteoporosis, DO) 患者雌激素受体  $\alpha$  (estrogen receptor  $\alpha$ , ER  $\alpha$ ) 基因 XbaI (rs9340799) 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 和糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c) 水平交互作用与疾病易感性的关系。方法 选择2019年2月~2021年11月于如皋市人民医院就诊的DO患者117例, T2DM患者112例和108例健康体检者(对照组)。采用高效液相层析法 (high pressure liquid chromatography, HPLC) 测定三组人群的HbA1c水平, 并通过双脱氧末端终止法 (Sanger法) 检测三组人群ER $\alpha$ 基因XbaI (rs9340799) SNP。采用多因素Logistic回归模型分析DO发生的危险因素, 估算ER $\alpha$ 基因XbaI39.32SNP和HbA1c水平与DO发病风险的调整比值比 (odds ratio, OR) 及95%置信区间 (95% confidence interval, 95%CI), 分析XbaI SNP与HbA1c水平的交互作用。结果 对照组、T2DM组和DO组患者HbA1c水平分别为  $5.07\% \pm 0.85\%$ ,  $7.94\% \pm 1.32\%$  和  $9.23\% \pm 1.40\%$ , 差异有统计学意义 ( $F=26.671, P < 0.05$ )。DO组、T2DM组和对照组AA基因频率 (11.11%, 33.93% 和 46.30%)、AG基因频率 (49.57%, 39.28% 和 33.33%)、GG基因频率 (39.32%, 26.79% 和 20.37%), 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=37.174, 10.600, 14.307$ , 均  $P < 0.05$ )。DO组、T2DM组和对照组等位基因A基因频率 (36.75%, 61.61% 和 74.07%)、等位基因G基因频率 (63.25%, 38.39% 和 25.93%) 差异均有统计学意义 (均  $\chi^2=36.305, P < 0.001$ )。Logistic回归分析结果显示, HbA1c水平和ER $\alpha$ 基因XbaI (AG/GG) 与DO的发生显著相关 ( $P < 0.05$ )。单纯  $6.5\% \leq \text{HbA1c} < 9.0\%$  的  $\text{OR}_{\text{c1}}$  为 6.231, 单独携带 XbaI (AG) 型的  $\text{OR}_{\text{e1}}$  为 5.384, 二者同时存在时交互作用  $\text{OR}_{\text{c1e1}}$  为 33.978, 交互系数  $\gamma = \beta_{\text{c1e1}} / \beta_{\text{c1}} > 1$ ,  $\text{OR}_{\text{c1e1}} > \text{OR}_{\text{c1}} \times \text{OR}_{\text{e1}}$  为超相乘模型。 $6.5\% \leq \text{HbA1c} < 9.0\%$  和 XbaI (AG/GG)、HbA1c  $\geq 9.0\%$  和 XbaI (AG/GG) 均存在正向交互作用 (均  $\gamma > 1$ )。结论 携带 XbaI (AG) 和 XbaI (GG) 基因型的个体属DO高危人群, 这些基因型和HbA1c水平的交互作用促进了DO的发生发展, 临床可通过控制HbA1c水平以及基因调控达到预防DO的目的。

**关键词:** 雌激素受体  $\alpha$  基因; 糖化血红蛋白; 糖尿病性骨质疏松; 单核苷酸多态性; 交互作用

**中图分类号:** R587.2; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 01-038-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.01.008

## Analysis of Interaction between Estrogen Receptor $\alpha$ Gene XbaI (rs9340799) SNP and HbA1c Level and Disease Susceptibility in Patients with Diabetes Osteoporosis

TANG Xiao-feng, JIANG Yi-lan, ZHU Bei

(Department of Endocrinology, Rugao People's Hospital, Jiangsu Nantong 226500, China)

**Abstract: Objective** To investigate the interaction between estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) single nucleotide polymorphism (SNP) and glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c) level and the relationship of susceptibility to diabetic osteoporosis (DO). **Method** A total of 117 patients with DO, 112 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) were selected, and 108 healthy subjects were selected as the control group. The glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels of the three groups was determined by high pressure liquid chromatography (HPLC), and the ER $\alpha$  gene XbaI (rs9340799) SNP was detected by dideoxy terminal termination method. Multivariate Logistic regression model was used to analyze the risk factors for the occurrence of DO, and the adjusted odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI) of the levels of ER $\alpha$  gene XbaI SNP and HbA1c and the risk of DO incidence were estimated. Interaction of XbaI SNPs with HbA1c levels. **Results** The level of HbA1c in control group, T2DM group and DO group were  $5.07\% \pm 0.85\%$ ,  $7.94\% \pm 1.32\%$  and  $9.23\% \pm 1.40\%$ , respectively, and the difference was statistically significant ( $F=26.671, P < 0.05$ ). The frequencies of AA gene (11.11%, 33.93% and 46.30%), AG gene (49.57%, 39.28% and 33.33%), and GG gene (39.32%, 26.79%, 20.37%), in the three groups were statistically significant

**作者简介:** 汤小峰 (1984-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 糖尿病与肥胖, E-mail: Xiaojing1987623@163.com。

**通讯作者:** 蒋艺兰 (1972-), 女, 主任医师, 研究方向: 1型糖尿病免疫异常及干预治疗, E-mail: jyhlwd@163.com。

( $\chi^2=37.174, 10.600, 14.307$ , all  $P < 0.05$ ). The distribution of gene A (36.75%, 61.61%, 74.07%) and gene G (63.25%, 38.29%, 25.93%), in the three groups were statistically significant (all  $\chi^2=36.305, P < 0.001$ ). Logistic regression analysis showed that HbA1c level and ER $\alpha$  gene XbaI (AG/GG) were significantly correlated with DO ( $P < 0.05$ ). OR $_{e1}$  with pure  $6.5\% \leq \text{HbA1c} < 9.0\%$  was 6.231, and OR $_{g1}$  with XbaI (AG) type alone was 5.384. The interaction OR $_{e1g1}$  was 33.978, when the two were present at the same time, and the interaction coefficient  $\gamma = \beta_{e1g1} / \beta_{e1} > 1$ , OR $_{e1g1} > \text{OR}_{e1} \times \text{OR}_{g1}$  was a super multiplication model.  $6.5\% \leq \text{HbA1c} < 9.0\%$  and XbaI(AG/GG), HbA1c  $\geq 9.0\%$  and XbaI (AG/GG) all had positive interaction (all  $\gamma > 1$ ). **Conclusion** Individuals carrying XbaI (AG) and XbaI (GG) genotypes belong to the high-risk group of DO. The interaction between these genotypes and HbA1c levels promotes the occurrence and development of DO. Clinically, the purpose of preventing DO could be achieved by controlling HbA1c levels and gene regulation.

**Keywords:** ER $\alpha$ ; glycosylated hemoglobin A1c; diabetic osteoporosis; single nucleotide polymorphism; interaction

糖尿病性骨质疏松症 (diabetic osteoporosis, DO) 属于继发性的骨质疏松, 是一种严重的糖尿病并发症<sup>[1]</sup>。作为一种复杂的代谢性骨病, DO 的发病机制尚不明确。目前的研究发现<sup>[2-3]</sup>, DO 受遗传、生活习惯、激素等多方面影响, 其中遗传基因所起的作用高达 70%。基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 在改变基因表达以及编码的转运蛋白 P-gp 功能方面存在巨大潜力, 与各种疾病易感性以及药物治疗反应之间存在密切联系。虽然近年来已经报道了与多种 DO 相关的 SNPs<sup>[4-6]</sup>, 但是这些发现依旧不能完全解释 DO 的发病机制, 因此需要继续对其他遗传因素进行挖掘探究。

雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 是一种蛋白质分子, 其可特异性地与激素结合形成激素-受体复合物, 从而使激素充分发挥出生物学效应。ER $\alpha$  作为 ER 的亚型之一<sup>[7]</sup>, 在调节骨细胞生长以及维持人体骨代谢方面至关重要。此外, ER $\alpha$  基因 XbaI (rs9340799) SNP 与 2 型糖尿病 (type-2 diabetes, T2DM) 的发病机制有关, 可能对 T2DM 并发症的发生发展具有一定影响。因此, ER $\alpha$  基因 XbaI SNP 可能是 DO 发生的重要影响因素。糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c) 作为红细胞中的血红蛋白与血清中的糖类通过非酶反应相结合的产物, 是评价糖尿病患者血糖控制水平的金标准<sup>[8]</sup>。近年来的研究表明<sup>[9-10]</sup>, 高血糖对成骨细胞具有毒性作用, 当患者血糖控制欠佳时, 机体对毒性作用的抑制效果减低, 导致骨胶原的合成受到影响。虽然目前对于 DO 与 HbA1c 水平以及 ER $\alpha$  基因之间的关系已有研究报道<sup>[11]</sup>, 但是对于 HbA1c 水平与 ER $\alpha$  基因 XbaI SNP 之间是否存在交互作用, 以及二者的交互作用对 DO 发生发展的影响还鲜有报道。对此, 本研究通过分析 ER $\alpha$  基因 XbaI SNP 及 HbA1c 水平在不同人群中的分布状态, 探索二者交互作用与 DO 易感性的关系, 以期对 DO 的高危人群的筛选及临床治疗提供相应的遗传学依据。

## 1 材料和方法

1.1 研究对象 选择 2019 年 2 月 ~ 2021 年 11 月于如皋市人民医院就诊的 DO 患者 117 例, T2DM 患者 112 例和 108 例健康体检者。T2DM 组纳入标准: ①符合 T2DM 的诊断标准<sup>[12]</sup>; ②病情稳定; ③未患有 DO。DO 组纳入标准: 患者符合骨质疏松症的诊断标准<sup>[13]</sup> 并并发 T2DM。对照组纳入标准: ①未患有 T2DM 及 DO; ②血糖和骨密度 (Bone mineral density, BMD) 在正常水平。排除标准: ①入组前一月内使用过影响骨代谢的药物者; ②并发心、肝、肾等脏器重大疾病者; ③患有其他 ER $\alpha$  基因多态性相关疾病者; ④不配合研究者。三组患者在性别、年龄、体质质量指数 (body mass index, BMI)、酒、吸烟方面差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。所有纳入本研究患者及其家属均知情并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 DNA 提取试剂盒、DNA Maker 和 2 $\times$  Taq PCR Mix (北京天根生物科技有限公司); Taq DNA 聚合酶 (德国 Qiagen 公司); 无水乙醇 (天津富宇精细化工有限公司)。HLC-723G7 糖化血红蛋白定量分析仪 (日本 Tosoh 公司); 微量移液器 (德国 Eppendorf 公司); DYY-III 型电泳仪 (北京六一仪器厂); 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪 (美国 ABI 公司); Du640 型紫外分光光度计 (美国 Beckman 公司); GL 16G 型高速台式离心机 (上海医用分析仪器厂); JS-780A 全自动凝胶成像分析仪 (上海培清科技有限公司)。

## 1.3 方法

1.3.1 标本收集: 于患者入院第二天和对照组人群查体当天清晨, 采集空腹静脉血标本 5 ml, 利用高速冷冻离心机 (3 000 r/min, 15 min) 对患者血液进行离心分离血清, 采用阳离子交换高效液相色谱法 (high pressure liquid chromatography) 检测 HbA1c 水平, 检测仪器为日本 Tosoh 公司的 HLC-723G7 糖化血红蛋白定量分析仪。

1.3.2 DNA 提取: 乙二胺四乙酸二钾抗凝全血基

因组 DNA 采用 DNA 提取试剂盒提取, DNA 浓度通过紫外分光光度仪检测进行提取, 吸取  $2\mu\text{l}$  DNA 样本后采用多功能微孔板荧光分析仪检测  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$  的比值, 比值  $\geq 1.7$  则证明所提取的 DNA 纯度符合实验要求。

1.3.3 ER $\alpha$  基因 XbaI 多态性检测: 见图 1。所有样本的全血基因组 DNA 均通过双脱氧末端终止法进行测序, 检测 ER $\alpha$  基因 XbaI (rs9340799) 的等位基因。对 ER $\alpha$  基因第 1 内含子和第 2 外显子进行特异性扩增, 产物片段 1300bp。引物序列如下: F: 5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTTCCTATTC TCC-3', R: 5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCG ATTATCTGA-3'。在兼容 384 孔板的 PCR 仪上设定 PCR 反应, 反应体系: 30 ng 基因组 DNA,  $7\mu\text{l}$   $2\times$  Taqman Master Mix, 探针各  $0.1\mu\text{l}$ , 引物各  $0.75\mu\text{l}$ ; 反应条件:  $94^\circ\text{C}$  5 min,  $94^\circ\text{C}$  60 s,  $56^\circ\text{C}$  60 s,  $72^\circ\text{C}$  90 s,  $72^\circ\text{C}$  10 min, 启动 PCR 反应, 采用自动 SNP 分型软件对 SNP 进行数据分析。通过酶切反应可知 XbaI 存在三种基因型, 纯合突变型 AA, 杂合突变型 AG 和野生型 GG。XbaI AA 基因型终产物为 1300bp 一条带, AG 基因型终产物为 1300, 910, 390bp 三条带, GG 基因型终产物为 910, 390 bp 的两条带。

1.4 统计学分析 通过 SPSS 23.0 统计软件进行数据统计分析, 以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示计量资料, 两组间比较采用  $t$  检验; 使用百分数 (%) 表示计数资料, 组间比较采用  $\chi^2$  检验; 利用 Excel 计算样本群体是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ( $P > 0.05$  为符合); 通过多因素 Logistics 回归分析 DO 发生的危险因素并评价 ER $\alpha$  基因 XbaI SNP 与 DO 的相关性,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。非条件 Logistic 回归模型分析影响因素。根据 Khoury 和 Wagener 提出的交互作用模型和交互系数 ( $\gamma = \beta_{eg}/\beta_e$ ) 判断 ER $\alpha$  基因多态性与 HbA1c 水平

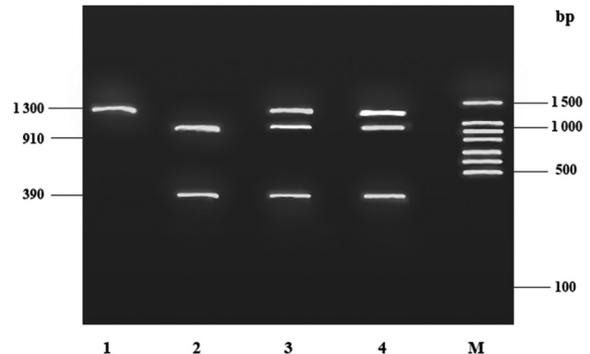
表 1

三组 HbA1c 水平比较 [n (%) ]

类别	对照组 (n=108)	T2DM 组 (n=112)	DO 组 (n=117)	$\chi^2$ 值	P 值
HbA1c < 6.5%	87 (80.56)	30 (26.79)	18 (15.38)	108.480	< 0.001
6.5% $\leq$ HbA1c < 9.0%	17 (15.74)	40 (35.71)	34 (29.06)	16.074	< 0.001
HbA1c $\geq$ 9.0%	4 (3.70)	42 (37.50)	65 (55.56)	69.333	< 0.001

2.2 三组 ER $\alpha$  基因 XbaI 基因型和等位基因频率比较 经 Hardy-Weinberg 平衡检验, ER $\alpha$  基因 XbaI 各基因型分布符合 Hardy-Weinberg 定律 (均  $P > 0.05$ ), 这提示本研究所纳入样本群体具有良好的代表性。DO 组、T2DM 组和对照组 AA 基因频率分别为 11.11%, 33.93%, 46.30%; AG 基因频率分别为 49.57%, 39.28%, 33.33%; GG 基因频率

的交互作用<sup>[14]</sup>。判定标准 1: 正向交互作用:  $\gamma > 1$ ; 负向交互作用:  $\gamma < 1$ ; 无交互作用:  $\gamma = 1$ 。判定标准 2:  $OR_{eg}$ : e 和 g 两因素的比值,  $OR_e/OR_g$ : e/g 因素的比值。相乘模型:  $OR_{eg}=OR_e\times OR_g$ ; 超相乘模型:  $OR_{eg} > OR_e\times OR_g$ ; 相乘模型:  $OR_{eg} < OR_e\times OR_g$ ; 相加模型:  $OR_{eg}=OR_e+OR_{g-1}$ 。



1: AA 基因型; 2: GG 基因型; 3, 4: AG 基因型; M: marker

图 1 XbaI 多态性的基因型

## 2 结果

2.1 三组 HbA1c 水平比较 对照组、T2DM 组及 DO 组患者 HbA1c 水平分别为  $5.07\% \pm 0.85\%$ ,  $7.94\% \pm 1.32\%$  和  $9.23\% \pm 1.40\%$ , 差异有统计学意义 ( $F=26.671, P < 0.05$ )。根据患者 HbA1c 水平分为 HbA1c < 6.5%,  $6.5\% \leq$  HbA1c < 9.0% 和 HbA1c  $\geq$  9.0% 三组, 见表 1。对照组以 HbA1c < 6.5% 为主 (占 80.56%), T2DM 组和 DO 组以  $6.5\% \leq$  HbA1c < 9.0% 和 HbA1c  $\geq$  9.0% 为主。不同 HbA1c 水平在三组之间的分布差异具有统计学意义 ( $\chi^2=16.074 \sim 108.480$ , 均  $P < 0.001$ )。  $6.5\% \leq$  HbA1c < 9.0% 和 HbA1c  $\geq$  9.0% 的患者患 DO 的风险明显高于 HbA1c < 6.5% 的患者, 差异具有统计学意义 ( $\chi^2=41.244, P < 0.001$ ), 并且 HbA1c  $\geq$  9.0% 患者患 DO 的风险高于  $6.5\% \leq$  HbA1c < 9.0% 的患者, 差异具有统计学意义 ( $\chi^2=16.826, P < 0.001$ )。

分别为 39.32%, 26.79%, 20.37%, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=37.174, 10.600, 14.307$ , 均  $P < 0.05$ )。DO 组、T2DM 组和对照组等位基因 A 频率分别为 36.75%, 61.61%, 74.07%, 等位基因 G 频率分别为 63.25%, 38.39%, 25.93%, 差异均有统计学意义 (均  $\chi^2=36.305, P < 0.001$ )。

2.3 DO 多元回归模型分析 见表 2。将 HbA1c 水

平、ER $\alpha$  基因 XbaI 位点基因型作为自变量，将患者是否发生 DO 作为因变量（否 =0；是 =1），Logistic 回归分析结果显示，高 HbA1c 水平以及

ER $\alpha$  基因 XbaI 的 AG 和 GG 基因型为 DO 发生的危险因素。

表 2 DO 多元回归模型分析

类别	$\beta$	SE	Wald	P 值	OR (95% CI)
HbA1c 水平 6.5% $\leq$ HbA1c < 9.0% vs HbA1c < 6.5%	1.923	0.534	12.963	< 0.001	6.839 (3.674 ~ 8.145)
HbA1c $\geq$ 9.0% vs HbA1c < 6.5% XbaI	1.999	0.497	16.185	< 0.001	7.385 (4.903 ~ 9.756)
AG vs AA	2.113	0.982	4.630	< 0.001	8.274 (6.832 ~ 9.259)
GG vs AA	2.075	0.746	7.733	< 0.001	7.961 (4.385 ~ 9.897)

2.4 XbaI 多态性与 HbA1c 水平在 DO 发病中的交互分析 见表 3。以 XbaI (AA) 基因型和 HbA1c < 6.5% 作为参照，单纯 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 的 OR $_{e1}$  为 6.231，单独携带 XbaI (AG) 型的 OR $_{g1}$  为 5.384，二者同时存在时交互作用 OR $_{e1g1}$  为 33.978，交互系数  $\gamma = \beta_{e1g1} / \beta_{e1} > 1$ ，OR $_{e1g1} > OR_{e1} \times OR_{g1}$  为超相

乘模型，说明 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 和 XbaI (AG) 型具有正向交互作用。此外，HbA1c  $\geq$  9.0% 与 XbaI (AG/GG) 之间及 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 与 XbaI (GG) 之间均存在正向交互作用 ( $\gamma = \beta_{e1g1} / \beta_{e1} > 1$ )。

表 3 XbaI 多态性与 HbA1c 水平在 DO 发病中的交互分析 [n (%)]

基因型	HbA1c 水平	T2DM 组 (n=112)	DO 组 (n=117)	OR <sup>a</sup>	95% CI	$\beta$
AA	< 6.5%	1 (0.89)	0 (0)	1.000		
AA	6.5% $\leq$ HbA1c < 9.0%	9 (8.04)	3 (2.56)	6.231 <sup>b</sup> (OR $_{e1}$ )	4.978 ~ 7.023	1.797 ( $\beta_{e1}$ )
AA	$\geq$ 9.0%	12 (10.71)	5 (4.27)	8.723 <sup>c</sup> (OR $_{e2}$ )	7.164 ~ 9.275	2.167 ( $\beta_{e2}$ )
AG	< 6.5%	6 (5.36)	9 (7.69)	5.384 <sup>d</sup> (OR $_{g1}$ )	4.147 ~ 6.846	1.755 ( $\beta_{g1}$ )
AG	6.5% $\leq$ HbA1c < 9.0%	13 (11.61)	17 (14.53)	33.978 <sup>e</sup> (OR $_{e1g1}$ )	28.947 ~ 35.846	3.526 ( $\beta_{e1g1}$ )
AG	$\geq$ 9.0%	20 (17.86)	24 (20.51)	48.137 <sup>f</sup> (OR $_{e2g1}$ )	41.548 ~ 50.629	3.874 ( $\beta_{e2g1}$ )
GG	< 6.5%	15 (13.39)	11 (9.40)	5.634 <sup>g</sup> (OR $_{g2}$ )	4.962 ~ 7.894	1.729 ( $\beta_{g2}$ )
GG	6.5% $\leq$ HbA1c < 9.0%	23 (20.54)	30 (25.64)	42.487 <sup>h</sup> (OR $_{e1g2}$ )	39.175 ~ 45.367	3.749 ( $\beta_{e1g2}$ )
GG	$\geq$ 9.0%	13 (11.61)	18 (15.38)	53.635 <sup>i</sup> (OR $_{e2g2}$ )	49.368 ~ 56.682	3.982 ( $\beta_{e2g2}$ )

注: a: 两组患者在校正性别、年龄、吸烟、饮酒以及既往病史等混杂因素后的 OR 值; b: 单纯 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 暴露的 OR 值 (OR $_{e1}$ ); c: 单纯 HbA1c  $\geq$  9.0% 暴露的 OR 值 (OR $_{e2}$ ); d: 单纯杂合突变 AG 的 OR 值 (OR $_{g1}$ ); e: 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 与杂合突变 AG 交互作用后的 (OR $_{e1g1}$ ); f: HbA1c  $\geq$  9.0% 与杂合突变 AG 交互后的 OR 值 (OR $_{e2g1}$ ); g: 单纯野生 GG 的 OR 值 (OR $_{g2}$ ); h: 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 与野生 GG 交互后的 OR 值 (OR $_{e1g2}$ ); i: HbA1c  $\geq$  9.0% 与野生 GG 交互后的 OR 值 (OR $_{e2g2}$ )

### 3 讨论

随着社会经济的高速发展以及人们生活方式的变化，糖尿病患者的人数在逐年上升<sup>[15]</sup>。糖尿病患者由于高渗性利尿导致钙镁磷等元素的流失，从而引发骨量减小，骨密度 (BMD) 下降等问题，因此糖尿病患者往往出现并发 DO 的情况<sup>[16]</sup>。据统计，糖尿病患者中有 50% 并发骨质疏松，而骨质疏松一旦发生，不可逆转，给患者治疗和康复造成困难，加重患者经济负担，严重威胁患者生命质量<sup>[17]</sup>。因此，对 DO 易感人群进行及时判断，并对患者病情做到早诊断、早治疗是避免 DO 发生以及改善患者预后的重要措施。研究发现，DO 的发生主要来源于遗传因素和环境因素的共同作用，基因型不同的

人群对 DO 的易感性也有所不同<sup>[18]</sup>，这是由于影响基因表达或功能的 SNPs 形式的遗传变异导致的遗传个体差异。因此，探究相关基因的 SNPs 可以了解各种基因型在人群中的分布，有助于从基因水平更深刻的阐明 DO 在不同人群中的发病率。

雌激素受体 (ER) 是一种属于 I 型核变体超家族的糖蛋白，包括 8 个外显子和 7 个内含子，有 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  两种亚型<sup>[19]</sup>。ER $\alpha$  和 ER $\beta$  具有组织特异性，在全身组织中均存在广泛分布。其中 ER $\beta$  基因主要与睾丸、前列腺、卵巢等有关，而 ER $\alpha$  基因在骨骼中体现出重要作用，是骨质疏松症的敏感基因之一，可通过与雌激素的结合达到调节骨量的效果。因此，ER $\alpha$  基因与骨质疏松症之间

有着不可忽视的联系。生物学研究发现 ER $\alpha$  基因 XbaI (rs9340799) 位于第二外显子上游的第一内含子中,可影响 ER $\alpha$  的表达与功能<sup>[20]</sup>。有研究显示<sup>[21]</sup>,携带 XbaI (GG) 基因型的已绝经女性的 BMD 显著低于 XbaI (AA/AG) 基因型者。这是由于已绝经女性的卵巢功能不全,而 XbaI (AA/AG) 基因型者的雌二醇水平较低,从而影响骨代谢平衡。ER $\alpha$  基因 XbaI SNP 对 BMD 的影响不仅存在于女性人群中,研究显示<sup>[22]</sup>,ER $\alpha$  基因 XbaI 位点与男性的骨骼保持形状有关,携带 G 基因型的男性更易出现低骨量情况。在本研究中,我们同样发现 ER $\alpha$  基因 XbaI 位点与骨质疏松症之间的密切联系,携带 XbaI (AG) 和 XbaI (GG) 基因的 T2DM 患者患 DO 的风险高于携带 XbaI (AA) 的个体,这提示 ER $\alpha$  XbaI 基因突变可降低 T2DM 患者并发 DO 的风险。DO 的发生机制十分复杂,受多方面因素影响,血糖控制一直是治疗 T2DM 的关键。有研究显示<sup>[23]</sup>,HbA1c  $\geq$  7.0% 的 T2DM 患者伴有糖尿病并发症的概率显著高于 HbA1c < 7.0% 的患者。血糖控制不佳的老年 T2DM 患者的骨量明显下降,HbA1c  $\geq$  8.0% 患者并发 DO 的风险显著高于 HbA1c < 8.0% 患者,这提示 HbA1c 是 T2DM 患者并发骨质疏松的独立危险因素,血糖控制不佳的患者具有更高的 DO 风险。本研究结果显示 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 和 HbA1c  $\geq$  9.0% 的 T2DM 患者患 DO 的风险明显高于 HbA1c < 6.5% 的患者,并且 HbA1c  $\geq$  9.0% 患者患 DO 的风险高于 6.5%  $\leq$  HbA1c < 9.0% 的患者。

通过交互作用指标对两因素间的交互作用进行定量分析是流行病学常用的一种评估方法。有研究表明<sup>[24]</sup>,HbA1c 水平与外周血多种指标以及多种基因位点的 SPNs 存在协同交互作用。但是目前有关 ER $\alpha$  基因 XbaI 多态性与 HbA1c 水平对 DO 的交互作用还鲜有研究报道。本研究以 XbaI (AA) 基因型和 HbA1c < 6.5% 作为参照,发现 HbA1c 水平与 XbaI 基因型间存在正向交互作用,其交互作用显著增加了 DO 的发病风险。HbA1c  $\geq$  6.5% 和 XbaI (GG) 型对 DO 的发生风险有相互显著放大效应。另外,本研究发现,XbaI 基因杂合子与 HbA1c  $\geq$  6.5% 也同样存在正向交互作用,这提示 XbaI 的 G 等位基因为 DO 的危险基因,携带 XbaI (AG/GG) 基因型者 HbA1c 水平越高危害效应越大。究其机制,本研究猜想这可能是由于 HbA1c 水平异常提示 T2DM 患者的血糖水平控制不佳,加重患者机体内的胰岛素抵抗,导致机体内氧化和抗氧化平衡失调,产生大量超氧自由基,进而为 DO 的发生

创造了基础条件。而携带 XbaI (AG/GG) 的患者体内雌激素水平异常,导致自由基反应加剧,过量的自由基通过血液进入骨组织细胞,增加 DO 的发生风险。

综上所述,携带 XbaI (AG) 和 XbaI (GG) 基因型的个体属 DO 高危人群,这些基因型和 HbA1c 水平的交互作用促进了 DO 的发生发展,临床可通过控制 HbA1c 水平以及基因调控达到预防 DO 的目的。

#### 参考文献:

- [1] DHAWAN S, NATARAJAN R. Epigenetics and type 2 diabetes risk[J]. *Current Diabetes Reports*, 2019, 19(8): 47.
- [2] NEOKOSMIDIS G, TZIOMALOS K. Role of cenicriviroc in the management of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2018, 24(48): 5415-5417.
- [3] 朱超,茹平,罗文强. 骨质疏松性椎体压缩性骨折患者血清 N-MID 和尿液 DPD 水平与椎体愈合程度的相关性研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(4): 130-133.  
ZHU Chao, RU Ping, LUO Wenqiang. Correlation between the levels of serum N-MID, urine DPD and the degree of vertebral union in osteoporotic vertebral compression fracture [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4): 130-133.
- [4] SHARPTON S R, YONG G J M, TERRAULT N A, et al. Gut microbial metabolism and nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology Communications*, 2019, 3(1): 29-43.
- [5] 廖强,王娟. 骨质疏松患者血清 25(OH)D,骨膜素、铁蛋白水平及其与骨折发生的相关性分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36(5): 138-142.  
LIAO Qiang, WANG Juan. Serum levels of 25(OH)D, periostin and ferritin in patients with osteoporosis and their correlation with fracture [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(5): 138-142.
- [6] SRIVARATHARAJAH K, ABRAMSON B L. Hypertension in menopausal women: the effect and role of estrogen[J]. *Menopause (New York)*, 2019, 26(4): 428-430.
- [7] ZARZOUR A, KIM H W, WEINTRAUB N L. Epigenetic regulation of vascular diseases[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2019, 39(6): 984-990.
- [8] 张震英,田春雨,赵乐,等. 血清 FPG 及 HbA1c 水平检测对 2 型糖尿病继发干眼症的预测价值研究及危险因素分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(5): 68-72.  
ZHANG Zhenying, TIAN Chunyu, ZHAO Le, et al. Study on the predictive value of serum FPG and HbA1c level in dry eye secondary to type 2 diabetes mellitus and analysis of risk factors [J]. *Journal of Modern*

- Laboratory Medicine, 2020, 35(5): 68-72.
- [9] BECK R W, BERGENSTAL R M, RIDDLESWORTH T D, et al. Validation of time in range as an outcome measure for diabetes clinical trials[J]. *Diabetes Care*, 2019, 42(3): 400-405.
- [10] 张凯, 李全双, 程星. 2型糖尿病患者血清低清蛋白水平对糖化清蛋白检测结果的影响[J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(4): 126-129.  
ZHANG Kai, LI Quanshuang, CHENG Xing. Effect of serum low albumin level on the detection of glycosylated albumin in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4): 126-129.
- [11] EL-SAMAHY M, TOAIMA D, TOAIMA N, et al. Effect of estrogen receptor- alpha gene polymorphism (IVS1-397 T > C) on microvascular complications of type 1 diabetes mellitus [J]. *Current Diabetes Reviews*, 2019, 7(8): 525-531.
- [12] 刘飞, 陈静非. 2型糖尿病患者 IL-18 基因启动子区 -607C/A 和 -137G/C 位点多态性与颈动脉粥样硬化的相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36(2): 57-60.  
LIU Fei, CHEN Jingfei. Correlation between -607C/A and -137G/C polymorphisms in the IL-18 promoter region and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(2): 57-60.
- [13] 王亚军, 陈晓, 智信, 等. 阿仑膦酸盐对骨质疏松性骨折愈合影响的研究进展[J]. *中华创伤杂志*, 2020, 36(1): 63-67.  
WANG Yajun, CHEN Xiao, ZHI Xin, et al. Research progress in effect of alendronate on healing of osteoporotic fracture [J]. *Chinese Journal of Trauma*, 2020, 36(1): 63-67.
- [14] 王徐溢, 谢聪, 孙子林, 等. 胆汁酸与肠道的交互作用对人体代谢平衡的影响[J]. *中华糖尿病杂志*, 2020, 12(4): 272-274.  
WANG Xuyi, XIE Cong, SUN Zilin, et al. Role of intestinal bile acids in the regulation of metabolic homeostasis in humans [J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2020, 12(4): 272-274.
- [15] KHAN R M M, CHUA Z, TAN J C, et al. From pre-diabetes to diabetes: diagnosis, treatments and translational research[J]. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 2019, 55(9): 546.
- [16] LI Kaixiu, SUN Qin, WEI Lingling, et al. ER  $\alpha$  gene promoter methylation in cognitive function and quality of life of patients with alzheimer disease [J]. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 2019, 32(4): 221-228.
- [17] SHIN S K, CHO H W, SONG S E, et al. Catalase and nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Pflugers Archiv*, 2018, 470(12): 1721-1737.
- [18] 向清淋, 李军, 丁瑞, 等. 绝经后 2 型糖尿病女性 Wnt3a 基因多态性与骨代谢的相关性[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 27(9): 1254-1256, 1288.  
XIANG Qinglin, LI Jun, DING Rui, et al. Polymorphism of Wnt3a gene and their relationship with bone metabolism in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2021, 27(9): 1254-1256, 1288.
- [19] PLAYFORD M P, DEY A K, ZIEROLD C, et al. Serum active 1,25(OH)(2)D, but not inactive 25(OH) D vitamin D levels are associated with cardiometabolic and cardiovascular disease risk in psoriasis[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 289(13): 44-50.
- [20] 马少君, 樊民义, 康晓丽, 等. 乳腺癌组织雄激素受体表达与临床相关病理特征分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(6): 36-40.  
MA Shaojun, FAN Minyi, KANG Xiaoli, et al. Analysis of androgen receptor expression and clinical pathological features in breast cancer patients [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(6): 36-40.
- [21] 周刚, 段媛媛, 莫运波. 雌激素受体  $\alpha$  基因多态性与女童 1 型糖尿病易感性的相关性研究[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2020, 14(4): 321-326.  
ZHOU Gang, DUAN Yuanyuan, MO Yunbo. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with type 1 diabetes mellitus in children [J]. *Chinese Journal of Endocrine Surgery*, 2020, 14(4): 321-326.
- [22] 易志勇, 韩清民, 郭斯印. 女性膝骨关节炎患者经筋证型分布规律与雌激素受体  $\alpha$  基因多态性相关性研究[J]. *国际中医中药杂志*, 2019, 41(11): 1165-1169.  
YI Zhiyong, HAN Qingmin, GUO Siyin. The correlation between Er  $\alpha$  gene polymorphism and the distribution pattern of fascia syndrome in women with knee osteoarthritis [J]. *International Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 41(11): 1165-1169.
- [23] 曹永红, 张苏皖, 邹玲玲, 等. 绝经后女性 2 型糖尿病患者骨代谢与血糖波动的关系[J]. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(8): 797-802.  
CAO Yonghong, ZHANG Suwan, ZOU Lingling. Relationship between bone metabolism and blood glucose fluctuation in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus [J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2021, 13(8): 797-802.
- [24] 王佳, 李宝坤, 鲁皓, 等. 2 型糖尿病患者外周血 Th17/IL-17 与牙周状态和血糖控制的关系[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(5): 587-590, 594.  
WANG Jia, LI Baokun, LU Hao, et al. Relationship between Th17/IL-17 and periodontal status and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2021, 37(5): 587-590, 594.