

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨骨  
子之研究

計畫類別：個別骨計畫

計畫編號：NSC93-2320-B-028-001-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行骨位：國立臺灣體育學院運動管理學系

計畫主持人：張振崗

共同主持人：曾泓富，張學偉

計畫參骨人員：陳俊璋、秦楨淳、卓佩佩、劉宗翰

報告類骨：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 25 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC-93-2320-B-028-001

執行期限：93年8月1日至94年7月31日

主持人：張振崗，國立台灣體育學院運動管理學系

共同主持人：曾泓富，輔英科技大學

張學偉，高雄醫學大學

計畫參與人員：陳俊璋、秦楨淳、卓佩佩、劉宗翰

## 中文摘要

台灣地區30歲以上婦女骨質疏鬆的盛行率達25%，骨質減少盛行率為37%，且年齡越高，比例越高，停經後婦女罹患骨質疏鬆症的情形更是明顯。許多研究顯示，某些與骨骼代謝相關之基因多型性可能與罹患骨質疏鬆症的危險性有關。本研究共招募200名患者與200名對照組，均為停經後婦女，經控制其他可能危險因子後，ALU1 aa genotype 罹患骨質疏鬆症的機率較AA與Aa者顯著為高，NCOI與DRAII之各genotype在患者與對照組之間的分布並無顯著差異。本研究所發現的ALU1基因多型性可能可以做為早期篩選骨質疏鬆症高危險族群，或是患者使用藥物時的參考。

關鍵詞：骨質疏鬆症、基因多型性、ALU1

## Abstract

The prevalence of osteoporosis in women over 30 years old was 25% in Taiwan. The prevalence of low bone mass in the same population was 37%. There is growing number of postmenopausal women suffering osteoporosis. It has been suggested that polymorphism of several genes involving in bone metabolism may be related to the risk of osteoporosis. The current study recruited 200 osteoporosis patients and 200 age-matched controls. All subjects were postmenopausal women. After controlling for other potential risk factors, ALU1 aa genotype showed significantly higher risk for osteoporosis than the other 2 genotypes. The

polymorphism in NCOI and DRAII were not significantly different between the cases and controls. The results of this study may be used for screening for high risk population of osteoporosis.

Keywords: osteoporosis, gene polymorphism, ALU1

## Introduction

世界衛生組織 (World Health Organization) 將骨質疏鬆症定義為『一種以骨量減少骨骼微細結構發生破壞為特徵的骨骼疾病，因骨骼脆弱使骨折的危險性增加。』[1]。髖骨骨折患者骨質密度顯著低於一般人[2]；美國一個追蹤521位女性骨質密度及骨折情況達6.5年的研究亦指出，骨質密度是骨折重要的預測因子，骨質密度愈低，骨折發生率愈高[3]。因此若能有效預防骨質疏鬆症，就能降低骨折的發生率。

超過50歲的美國婦女約有15%罹患骨質疏鬆症[4]，且危險性隨著年齡的增加而增加，50-59歲的白人婦女罹患率約為4%，而在80-89歲的同樣族群則達到48%[5]。停經後的美國婦女約有50%在一生中會發生至少一次骨質疏鬆症相關的骨折，而25%會罹患脊椎變形 (vertebral deformity)[6]，15%罹患髖骨骨折[7]。台灣於1992年的統計資料指出，65歲以上婦女因骨質疏鬆症而造成脊椎骨折的罹患率為23.8%，與白人女性相仿[8]。本研究群於去年度調查台灣地區30歲以上婦女骨質疏鬆的盛行率達25%，骨質減少盛行率為37%，且年齡越高，比例越高，停經後婦

女罹患骨質疏鬆症的情形更是明顯。

與骨質疏鬆症可能有關的基因包括骨骼中的蛋白質，例如膠原蛋白 (collagen)，與鈣離子代謝相關的荷爾蒙或其受器

(receptor)，cytokines 和生長因子 (growth factors) 及其受器等[9]。Tsai et al. [10]指出，vitamin D receptor (VDR) 基因中的 Apa-I、Bsm-I、Taq-I 基因多型性對於台灣男性和停經前女性骨質密度並無顯著影響，可能是由於部分基因型在台灣族群中比較少見。其他針對 VDR 基因多型性與骨質密度的研究則得到無顯著相關[11]，或是顯著相關[12]的結果。

Chen et al.[13]以 174 名停經後台灣女性為對象的研究顯示，estrogen receptor a (ERa)基因的 exon 1 上游處的 thymine-adenine microsatellite 的多型性與腰椎和股骨頸骨質密度可能有關，此相關性也存在於日本[14]與義大利[15]停經後女性，ERa 基因位於 intron 1 的 Pvu II 多型性與泰國 20-79 歲男性骨質密度顯著相關[16]，此多型性可能也與以女性荷爾蒙治療骨質疏鬆症的效果有關[17]，但是這些位於 intron 的基因多型性之生理機轉仍不清楚。Ongphiphadhanakul 等人另於 ERa 基因 exon 1 [18]和 8 [19]各發現 1 個基因多型性可能與骨質密度有關。Aerssens 等人以 135 名髖骨骨折與 239 名正常停經後比利時女性為對象的研究則顯示，ERa 基因 intron 1 的 Pvu II 多型性與骨質密度和尿液中骨骼代謝指標無顯著相關[11]。

## Methods

### 研究對象

本研究於台灣中部招募 200 名罹患骨質疏鬆症（腰椎或右股骨頸骨礦物質密度較停經前台灣女性平均值低 2.5 標準差 ( $T < -2.5$ ) [20]，病例組) 與 200 名對照組 ( $T > -1.0$ ) 之停經後女性，所有受測者年齡均為 65 歲以下。病例組自彰化基督教醫院骨科門診中招募。對照組則自彰化基督教

醫院其他科門診或健檢中招募，對照組之年齡分佈與病例組必須相符合 (matched)，年齡符合之女性先以超音波測量腳跟骨骨礦物質密度，進行初步篩選，若測量結果為  $T > -2.0$ ，則進一步以 DEXA 確定其符合對照組之標準。

### DNA 分離

將以 MasterAmp™ Buccal Swab DNA Extraction kit (EPICENTRE)，根據製造商提供之操作步驟，收集受測者口腔黏膜細胞，並從中分離 DNA，儲存於  $-20^{\circ}\text{C}$  以供進行 SNP genotyping。

### SNP genotyping

若 SNP locus 中含有限制酵素 (restriction enzyme) 切割處，則以聚合酶-限制酵素片段長度多型性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 的方式進行 SNP genotyping，另外並以 AcycloPrime™-FP SNP detection kit 進行 SNP genotyping [21]。

### 統計分析

所有分析都將以 matched-pairs 進行。以 conditional logistic regression 計算各危險因子與 SNP 對骨質疏鬆症的勝算比 (odds ratio, OR) 與 95% 信賴區間 (confidence interval, CI)，並控制 matching variables 與其他 covariates。所有  $p$  值都是雙尾檢定。可能的危險因子最初都會包含在多因子分析中，若符合以下條件，則逐一從公式中剔除：(1) conditional  $p > 0.15$ ；且 (2) 包含此變數於公式中對其他變數的係數之影響小於 10%。最後所得之 core model 中所含之變數均與骨質疏鬆症呈中度或高度修正後相關。接下來，原先被移除之變數逐一加入至 core model 中，以估計這些變數之修正後 OR。

## Results

本研究共招募 200 名患者與 200 名對照組，經控制其他可能危險因子後，ALU1

aa genotype 罹患骨質疏鬆症的機率較 AA 與 Aa 者顯著為高(表一)，NCOI 與 DRAII 之各 genotype 在患者與對照組之間的分佈並無顯著差異。

## Discussion

本研究顯示，具 ALU1 aa genotype 者罹患骨質疏鬆症的危險性可能較其他 2 種 genotype 為高，此基因多型性與骨質疏鬆症的關係之前從未被報導過，應為一個新發現的與骨質疏鬆症相關的基因，其所代表的蛋白質與骨質疏鬆症之間的詳細相關性目前仍不明瞭，有待進一步研究。

本研究所發現的 ALU1 基因多型性可能可以做為早期篩選骨質疏鬆症高危險族群，或是患者使用藥物時的參考。

## Reference

1. Ross PD. Osteoporosis. Frequency, consequences, and risk factors. *Arch Intern Med* **156**: 1399-411, 1996.
2. Yang RS, Liu TK, Dorey FJ, Chieng PU. Bone mineral density in Chinese elderly women with hip fracture. *Calcif Tissue Int* **58**: 385-9, 1996.
3. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest* **81**: 1804-9, 1988.
4. Looker AC, Wahner HW, Dunn WL, et al. Updated data on proximal femur bone mineral levels of US adults. *Osteoporos Int* **8**: 468-89, 1998.
5. Melton LJ, 3rd. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res* **10**: 175-7, 1995.
6. Melton LJ, 3rd, Kan SH, Frye MA, et al. Epidemiology of vertebral fractures in women. *Am J Epidemiol* **129**: 1000-11, 1989.
7. Barrett JA, Baron JA, Karagas MR, Beach ML. Fracture risk in the U.S. Medicare population. *J Clin Epidemiol* **52**: 243-9, 1999.
8. Tsai KS. Osteoporotic fracture rate, bone mineral density, and bone metabolism in Taiwan. *J Formosan Med Asso* **96**: 802-5, 1997.
9. Gennari L, Becherini L, Falchetti A, et al. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* **81**: 1-24, 2002.
10. Tsai KS, Hsu SH, Cheng WC, et al. Bone mineral density and bone markers in relation to vitamin D receptor gene polymorphisms in Chinese men and women. *Bone* **19**: 513-8, 1996.
11. Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, et al. Polymorphisms of the VDR, ER and COLIA1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int* **11**: 583-91, 2000.
12. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* **367**: 284-7, 1994.
13. Chen HY, Chen WC, Tsai HD, et al. Relation of the estrogen receptor alpha gene microsatellite polymorphism to bone mineral density and the susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Chinese women in Taiwan. *Maturitas* **40**: 143-50, 2001.
14. Sano M, Inoue S, Hosoi T, et al. Association of estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism with osteoporosis. *Biochem Biophys Res Comm* **217**: 378-83, 1995.
15. Becherini L, Gennari L, Masi L, et al. Evidence of a linkage disequilibrium between polymorphisms in the human estrogen receptor alpha gene and their relationship to bone mass variation in postmenopausal Italian women. *Hum Mol Genet* **9**: 2043-50, 2000.
16. Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Chanprasertyothin S, Piaseu N, Chailurkit L. Serum oestradiol and oestrogen-receptor gene polymorphism are associated with bone mineral density independently of serum testosterone in normal males. *Clin Endocrinol* **49**: 803-9, 1998.
17. Ongphiphadhanakul B, Chanprasertyothin S, Payatikul P, et al. Oestrogen-receptor-alpha gene polymorphism affects response in bone

- mineral density to oestrogen in post-menopausal women. *Clin Endocrinol* **52**: 581-5, 2000.
18. Ongphiphadhanakul B, Chanprasertyothin S, Payattikul P, et al. Association of a T262C transition in exon 1 of estrogen-receptor-alpha gene with skeletal responsiveness to estrogen in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest* **24**: 749-55, 2001.
  19. Ongphiphadhanakul B, Chanprasertyothin S, Payattikul P, et al. Association of a G2014A transition in exon 8 of the estrogen receptor-alpha gene with postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* **12**: 1015-9, 2001.
  20. Tsai KS, Tai TY. Epidemiology of osteoporosis in Taiwan. *Osteoporos Int* **7**: S96-8, 1997.
  21. Chen X, Levine L, Kwok PY. Fluorescence polarization in homogeneous nucleic acid analysis. *Genome Res* **9**: 492-8, 1999.

表一、ALU I、NCO I、DRA II 各 SNP genotype 在台灣停經後婦女骨質疏鬆症患者與對照組的分布比率

	ALU I			NCO I			DRA II		
	AA	Aa	aa	NN	Nn	nn	DD	Dd	dd
Normal	89.2	84.0	33.3	50.0	50.0	45.9	66.7	46.7	47.2
Osteoporosis	10.8	16.0	66.7*	50.0	50.0	54.1	33.3	53.3	52.8

\*p<0.05