

[文章编号] 1000-1182(2010)02-0139-06

雌激素受体基因多态性与慢性牙周炎相关性研究

张璇^{1,2} 龙翎³ 李红燕⁴ 李晓娟⁵ 丁寅¹

(1.第四军医大学口腔医院 正畸科, 陕西 西安 710032;

2.中国人民解放军总医院 口腔科, 北京 100853; 3.第四军医大学西京医院 中医科, 陕西 西安 710032;

4.天水市第一人民医院 口腔科, 甘肃 天水 741000; 5.第四军医大学西京医院 骨密度研究室, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的 探讨雌激素受体基因多态性与陕西地区慢性牙周炎易感性的关联。方法 收集陕西地区109例慢性牙周炎患者和99例牙周健康对照组的颊黏膜拭子,用Chelex-100方法提取全基因组DNA,用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测雌激素 α 和 β 受体基因型分布。结果 慢性牙周炎组与正常对照组在ER- α 受体Xba 基因型分布上有统计学差异,慢性牙周炎组XX型基因频率明显高于正常对照组,尤其在女性患者中此差异显著,男性患者中未见不同;ER- β 受体Rsa 和Alu 基因型在患者组与对照组中分布未见差异。结论 慢性牙周炎易感性与雌激素Xba 基因型分布相关,汉族女性群体中ER- α 受体XX基因型可能为慢性牙周炎的易感因子。

[关键词] 雌激素 α 受体; 雌激素 β 受体; 基因多态性; 慢性牙周炎

[中图分类号] R 781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1000-1182.2010.02.007

Estrogen receptors gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis ZHANG Xuan^{1,2}, LONG Yin³, LI Hong-yan⁴, LI Xiao-juan⁵, DING Yin¹. (1. Dept. of Orthodontics, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Dept. of Stomatology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 3. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 4. Dept. of Stomatology, The First People's Hospital of Tianshui City, Tianshui 741000, China; 5. Dept. of Bone Density, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective** To determine whether polymorphisms in the estrogen receptor(ER) genes are associated with chronic periodontitis in a Chinese population overall the Shanxi territory. **Methods** 109 patients with chronic periodontitis and 99 healthy controls were recruited in this study. Genomic DNA was extracted from oral mucosa swab sample of each subject by the Chelex-100 method. Determination of the ER- α and - β polymorphisms was performed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP), respectively. **Results** The analysis of the Xba polymorphisms in ER- α gene revealed significant differences between patients and controls. The detection frequency of XX genotype was significantly higher in the chronic periodontitis patients than in control subjects. The difference between the female chronic periodontitis patients and healthy controls was statistically significant, but no difference was found between the male patients and controls. Nevertheless, no significant association was noted in the frequency of both Rsa and Alu polymorphisms in ER- β gene between chronic periodontitis and controls. **Conclusion** It is indicated that the ER- α XX genotype may be a susceptible indicator for chronic periodontitis in female Han Chinese subjects.

[Key words] estrogen α receptor; estrogen β receptor; gene polymorphism; chronic periodontitis

研究^[1]显示:遗传因素与慢性牙周炎的发生发展密切相关,不同个体牙周健康状态在很大程度上受遗传基因控制。近年来,很多的关联研究选用候选基因多态性方法,探寻基因变异与慢性牙周炎(chronic periodontitis, CP)关系,包括抗炎细胞因

子、免疫识别受体、一些骨代谢相关因子^[2]。迄今为止,牙周炎的发生发展和宿主反应应答机制尚未完全阐明,但可以肯定的是,慢性牙周炎非单基因影响疾病,相关基因的多态性研究为阐明慢性牙周炎易感性及骨代谢调节方面提供了有价值的工具。

雌激素是一种类固醇(甾体)激素,通过与雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合调节一系列基因的表达。ER属于核受体超家族成员,是一种能与雌

[收稿日期] 2009-02-20; [修回日期] 2009-07-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30572069)

[作者简介] 张璇(1981—),女,江苏人,博士

[通讯作者] 丁寅, Tel: 029-84776131

激素特异性结合的糖蛋白，ER包括α和β两种亚型。人类的ER-α基因位于染色体6q25.1，包括8个外显子和7个内含子，共14万个碱基对^[3]。ER-β基因位于染色体14q23~24.1，包括8个外显子，接近4万个碱基对^[4]。ER-β较ER-α小，但与ER-α拥有相同结构，在DNA结合和配体结合域上有高度的同源性^[5]。ER的这2种亚型在成骨细胞、破骨细胞和骨髓基质细胞上均有表达^[6]。目前ER被认为是骨质疏松危险度的重要候选基因。许多研究显示牙周疾病与骨密度和骨质疏松存在相关性，没有接受激素替代疗法的低骨密度绝经后女性表现有明显的牙龈退缩^[7]。目前，鲜有关于ER多态性和牙周炎相关性的报道。此实验的目的是研究ER-α和ER-β 基因多态性在慢性牙周炎患者和正常对照组中的分布情况，探查其是否为慢性牙周炎易感性基因。

1 材料和方法

1.1 研究对象

2006年12月至2008年9月总共纳入208例无关联的个体作为实验群体，包括109例慢性牙周炎患者(男52例，女57例)和99例牙周健康志愿者(男48例，女51例)。实验分为病例组和对照组。病例组的109例慢性牙周炎患者从第四军医大学口腔医院牙周黏膜科门诊选取，对照组从第四军医大学西京医院体检人群中选取。慢性牙周炎的诊断标准参照1999年牙周疾病国际分类标准^[8]。通过牙周检查及拍摄全口曲面断层X线片来确诊：包括使用Florida恒力电子探针(Gainesville公司，美国)探诊每颗牙齿6个位点(颊舌侧各3个位点)的牙周袋深度(probing depth, PD)和临床附着丧失(clinical attachment loss, CAL)。病例组临床纳入标准如下：1)汉族，年龄20~65岁；2)口内至少有10颗牙齿可以进行牙周检查；3)至少存留有4颗磨牙，不包括第三磨牙；4)至少有一个位点或多个位点PD≥5 mm，CAL≥5 mm；5)X线片显示牙槽骨吸收≥1/3。所有病例组个体均无系统性疾病及已知的可以影响牙周状况的疾病，怀孕女性排除在外。99例健康对照组个体选取标准：汉族，20~65岁，身体健康，无系统性疾病，口腔卫生情况良好，牙龈无异常，PD<3 mm，全口牙平均CAL<3 mm，牙齿无松动，缺失牙不超过3颗，X线片显示无牙槽骨吸收。研究个体均填写了知情同意书。

1.2 颊拭子样本采集

采集每位病例组和对照组个体的口腔颊黏膜拭子标本：2支无菌棉拭子分别放置受试者双侧颊黏膜上，轻力按压同一方向旋转30 s，刮取颊黏膜脱落细胞，室温下自然干燥过夜，颊拭子密闭于无菌

试管中，4 °C备用或-20 °C保存。

1.3 DNA提取

采用Chelex-100法从颊黏膜脱落细胞中提取DNA：取干燥后的颊黏膜拭子，剥取拭子表层棉絮，浸入5%Chelex-100(Sigma公司，美国)悬液300 μL，使其浸没标本，加入蛋白酶K(20 mg·mL⁻¹)10 μL，放置在漩涡混合仪上振荡混匀，使棉絮充分悬浮；55 °C水浴4 h，煮沸10 min，置于冰上3 min，DNA复性，12 000 r·min⁻¹离心2 min，取上清液，4 °C备用或-20 °C保存。

1.4 ER基因Xba 和Pvu 多态性目的基因扩增和酶切

本实验运用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)方法检测受试者ER基因多态性的基因型和等位基因。PCR反应体系50 μL：包括3 μL DNA模板，25 μL 2×Taq PCR MasterMix(Qiagen Hilden公司，德国)，正反引物各2 μL(表1)，无菌去离子水18 μL，混匀。上PCR仪(Bio-Rad公司，美国)，进行PCR循环(ER各亚型基因扩增变性适宜温度如表1所示)。扩增产物经电泳分析证实PCR扩增成功。ER-α PCR产物1.3 kb，产物纯化后，使用Pvu 和Xba 限制性内切酶酶切，酶切产物在1%琼脂糖凝胶中电泳，溴乙锭(ethidium bromide, EB)染色后，凝胶成像仪(Alph Innotech公司，德国)上确定基因分型：pp基因型为0.85 kb和0.45 kb；PP基因型为1.3 kb；Pp基因型为1.3 kb、0.85 kb和0.45 kb；XX基因型为1.3 kb；Xx基因型为1.3 kb、0.9 kb和0.4 kb；xx基因型为0.9 kb和0.4 kb^[9]。使用Rsa 和Alu 限制性内切酶酶切，酶切过程同ER-α，得到的ER-β PCR产物分别为156 bp和307 bp片段。酶切产物在2.5%琼脂糖凝胶中电泳，确定基因分型，参照Sundarrajan等^[10]先前研究。

1.5 PCR质量控制措施

为保证基因分型结果没有偏倚，所有标本均在盲法下进行测定。随机抽取10%样本在单盲情况下重复测定各位点基因型，以检验所测基因型的重复性和可靠性。

1.6 统计分析

所有实验数据输入SPSS 16.0统计软件包处理。病例组和对照组基因型分布和等位基因频率用Yates's校正的卡方检验，并计算比值比(odds ratio, OR)和95%的可信区间(confidence intervals, CI)表示相对危险度，各基因型Hardy-Weinberg平衡拟合优度由观察值和期望值进行卡方检验，自由度为1。所有统计均为双侧检验，检验水准P小于0.05；多重

检验的P值用Bonferroni法校正, 如进行3次独立的卡方检验, 检验水准定为0.017。

表1 ER基因引物序列及PCR反应条件

Tab 1 The primer sequences and PCR cycling conditions and restriction enzymes

基因多态性		引物序列和PCR条件
ER-α	-397C/T	5'-CTGCCACCT-ATCTGTATCTTTTCCTATTCTCC-3'
	rs2234693	5'-TCTTTCTCTGCCA-CCCTGGCGTCGATTATCTGA-3'
		94 °C 5 min 35 cycles 94 °C 30 s 61 °C 30 s 72 °C 90 s 72 °C 5 min
		<i>Pvu</i> 酶切 PP=CC Pp=CT pp=TT
	-351G/A	5'-CTGCCACCT-ATCTGTATCTTTTCCTATTCTCC-3'
	rs9340799	5'-TCTTTCTCTGCCA-CCCTGGCGTCGATTATCTGA-3'
		94 °C 5 min 35 cycles 94 °C 30 s 61 °C 30 s 72 °C 90 s 72 °C 5 min
		<i>Xba</i> 酶切 XX=GG Xx=AG xx=AA
ER-β	1082A/G	5'-TCTTGCTTTCCCAAGGCTTT-3'
		5'-ACCTGTCCAGAACAAGATCT-3'
		94 °C 5 min 40 cycles 94 °C 30 s 52 °C 30 s 72 °C 90 s 72 °C 5 min
		<i>Rsa</i> 酶切 RR=AA Rr=AG rr=GG
	1730A/G	5'-TTTTGTCCCATAGTAACA-3'
		5'-AATGAGGGACCACAGCA-3'
		94 °C 5 min 35 cycles 94 °C 30 s 52 °C 30 s 72 °C 90 s 72 °C 5 min
		<i>Alu</i> 酶切 AA=AA Aa=AG aa=GG

2 结果

2.1 ER-α基因多态性

病例组和对照组*Xba* 和*Pvu* 基因型分布及等

位基因频率如表2所示。病例组检出的XX、Xx、xx基因型频率分别为22.02%、32.11%和45.87%，与对照组检出XX、Xx、xx基因型频率6.06%、57.58%、36.36%有显著差异($P=0.01$)。

表2 ER基因型及等位基因在慢性牙周炎患者和健康对照中的分布

Tab 2 Genotype distributions and allele frequencies of ER in CP patients and controls

基因型	病例组(%)	对照组(%)	病例与对照		等位基因	病例组(%)	对照组(%)	病例与对照	
			OR(95% CI)	P值				OR(95% CI)	P值
ER-α <i>Xba</i>									
XX	24(22.02)	6(6.06)	4.38(1.71~11.22)	0.01 ¹⁾	X	83(38.07)	69(34.80)	0.87(0.58~1.30)	0.56
Xx	35(32.11)	57(57.58)	0.67(0.39~1.18)	0.16 ²⁾	x	135(61.93)	129(65.20)		
xx	50(45.87)	36(36.36)		0.01 ³⁾					
ER-α <i>Pvu</i>									
PP	30(27.52)	27(27.27)	1.01(0.55~1.87)	0.97 ⁴⁾	P	92(42.20)	83(41.90)	0.99(0.67~1.46)	1.00
Pp	32(29.36)	29(29.29)	1.01(0.59~1.75)	0.96 ⁵⁾	p	126(57.80)	115(58.10)		
pp	47(43.12)	43(43.43)		0.99 ⁶⁾					
ER-β <i>Rsa</i>									
RR	12(11.01)	14(14.14)	0.75(0.33~1.71)	0.50 ⁷⁾	R	56(25.70)	67(33.80)	1.48(0.97~2.26)	0.09
Rr	32(29.36)	39(39.39)	0.59(0.34~1.02)	0.06 ⁸⁾	r	162(74.30)	131(66.20)		
rr	65(59.63)	46(46.46)		0.16 ⁹⁾					
ER-β <i>Alu</i>									
AA	5(4.59)	2(2.02)	2.33(0.44~12.30)	0.31 ¹⁰⁾	A	31(14.20)	33(16.70)	1.21(0.71~2.06)	0.58
Aa	21(19.27)	29(29.29)	0.69(0.37~1.27)	0.23 ¹¹⁾	a	187(85.80)	165(83.30)		
aa	83(76.15)	68(68.69)		0.17 ¹²⁾					

注: 1)XX与Xx+xx相比; 2)XX+Xx与xx相比; 3)XX与Xx+xx相比; 4)PP与Pp+pp相比; 5)PP+Pp与pp相比; 6)PP与Pp+pp相比; 7)RR与Rr+rr相比; 8)RR+Rr与rr相比; 9)RR与Rr+rr相比; 10)AA与Aa+aa相比; 11)AA+Aa与aa相比; 12)AA与Aa+aa相比; *表示有统计学意义的数据。

病例组与对照组的差异在女性慢性牙周炎患者与健康对照组中更为明显(29.82%、28.07%和42.11%与3.92%、62.75%和33.33%, $P=0.01$, 表3)。但是在男性病例组与对照组中未发现差异($P=0.08$, 表4)。病例组检出的PP、Pp、pp基因型频率分别为

27.52%、29.36%和43.12%，对照组检出的PP、Pp、pp基因型频率分别为27.27%、29.29%和43.43%。Pvu 基因型分布及等位基因频率在两组间无显著统计学差异($P=0.99$)。同时，性别上也未见差异($P=0.83$, 表3; $P=0.77$, 表4)。

表 3 Xba 和Pvu ER-α基因型及等位基因在女性病例组和对照组中的分布

Tab 3 Genotype distributions and allele frequencies of ER-α in female CP patients and controls

基因型	病例组(%)	对照组(%)	OR(95%CI)	P值	等位基因	病例组(%)	对照组(%)	OR(95%CI)	P值
XX	17(29.82)	2(3.92)	10.4(2.27~47.78)	0.01 ¹⁾	X	50(43.90)	36(35.30)	0.70(0.40~1.21)	0.25
Xx	16(28.07)	32(62.75)	0.69(0.31~1.51)	0.35 ²⁾	x	64(56.10)	66(64.70)		
xx	24(42.11)	17(33.33)		0.01 ³⁾					
PP	19(33.33)	15(29.41)	1.20(0.53~2.71)	0.66 ⁴⁾	P	53(46.50)	46(45.10)	0.95(0.55~1.62)	0.95
Pp	15(26.32)	16(31.37)	0.95(0.44~2.06)	0.90 ⁵⁾	p	61(53.50)	56(54.90)		
pp	23(40.35)	20(39.22)		0.83 ⁶⁾					

注: 1)XX与Xx+xx相比; 2)XX+Xx与xx相比; 3)XX与Xx与xx相比; 4)PP与Pp+pp相比; 5)PP+Pp与pp相比; 6)PP与Pp与pp相比; *表示有统计学意义的。

表 4 Xba 和Pvu ER-α基因型及等位基因在男性病例组和对照组中的分布

Tab 4 Genotype distributions and allele frequencies of ER-α in male CP patients and controls

基因型	病例组(%)	对照组(%)	OR(95%CI)	P值	等位基因	病例组(%)	对照组(%)	OR(95%CI)	P值
XX	2(3.85)	4(8.33)	0.44(0.08~2.52)	0.06 ¹⁾	X	23(22.10)	34(35.40)	1.93(1.04~3.61)	0.054
Xx	19(36.54)	26(54.17)	0.41(0.18~0.91)	0.03 ²⁾	x	81(77.90)	62(64.60)		
xx	31(59.62)	18(37.50)		0.08 ³⁾					
PP	11(21.15)	9(18.75)	1.16(0.44~3.11)	0.76 ⁴⁾	P	39(37.50)	37(38.54)	1.05(0.59~1.85)	1.000
Pp	17(32.69)	19(39.58)	0.83(0.38~1.84)	0.65 ⁵⁾	p	65(62.50)	59(61.46)		
pp	24(46.15)	20(41.67)		0.77 ⁶⁾					

注: 1)XX与Xx+xx相比; 2)XX+Xx与xx相比; 3)XX与Xx与xx相比; 4)PP与Pp+pp相比; 5)PP+Pp与pp相比; 6)PP与Pp与pp相比。

2.2 ER-β基因多态性

病例组和对照组Rsa 和Alu 基因型分布及等位基因频率如表2所示。病例组检出的RR、Rr和rr基因型频率分别为11.01%、29.36%和59.63%，在对照组分别为14.14%、39.39%和46.46%，未发现病例组和对照组Rsa 基因型分布及等位基因频率有差异($P=0.16$)。

病例组检出的AA、Aa和aa基因型频率分别为4.59%、19.27%和76.15%，在对照组分别为2.02%、29.29%和68.69%。Alu 基因型分布及等位基因频率在2组间未见明显统计学差异($P=0.17$)。

3 讨论

Chelex-100为一种金属螯合剂，由苯乙烯和苯二乙烯组成。其悬液在碱性(pH=10~11)条件下，树脂颗粒能与Mg²⁺、Ca²⁺等影响核酸反应的二价金属阳离子螯合，从而阻止了标本中的DNA降解；可用于多种样本提取微量DNA^[11]。本研究采用Chelex-100

法从颊黏膜拭子脱落细胞提取DNA用作ER基因目的片段PCR扩增，与经典的抽取静脉血方法相比，具有取样简便、安全、无创伤的优点，易被受检者接受，且扩增产物和静脉血来源的DNA完全一致。

慢性牙周炎被认为是一种由遗传和环境因素共同导致的复杂的病症。CP是一种炎症破坏性疾病，同时也被认为是一种骨相似疾病^[12]，其主要特征是牙周结缔组织的丧失和牙槽骨的吸收。近来的研究证实ER基因多态性与骨密度及骨质疏松相关^[13]。然而，ER-α与牙周疾病相关性少有报道，未见有ER-β与CP相关性的研究。在本研究中，PCR-RFLP结果显示ER-α Xba 基因多态性位点与慢性牙周炎易感性有显著相关性。ER-α基因型分布与先前研究相类似^[14]，特别是在病例组中检测到较对照组多的XX基因型比例，存有XX基因型的个体较存有其他基因型个体增加了罹患慢性牙周炎的危险度，而这种相关性只在女性群体中发现，此与Zhang等^[9]、Marques等^[15]研究相一致。但是，本研究未发现ER-α Pvu

、ER-β Rsa 和ER-β Alu RFLP基因多态性在病例组和对照组间有显著差异。尽管以往有许多研究探讨了ER基因多态性和骨量的相关性,但结果不尽相同。Matsushita等^[16]报道了ER-α基因多态性与骨量相关,而Bandres等^[12]却未发现ER-α基因多态性与骨量相关。不同研究结果的产生可能是由于研究人群的种族、年龄、环境等因素不同造成。

雌激素通过一些不同的作用机制致使细胞发生变化。其中最主要的机制是雌激素与一种或两种特异的雌激素受体相结合,ER-α和ER-β属于核受体超家族成员,发挥独立的配位基转录蛋白功能^[17]。学者Tsukamoto等^[18]首次报道了人类ER-β基因第5内含子上具有特征性的CA双核苷酸多态现象;接下来的体系突变筛查发现5个不同序列的变异体,包括2个突变和3个多态现象^[19]。此实验选择了2个多态现象做研究:一个是第5外显子1 082配位基结合位点G突变为A,另一个是第8外显子3'端非翻译区1 730位点A突变为G的单核苷酸多态现象。研究^[20]表明,ER-α受体的存在,使雌激素作用于细胞的增殖和凋亡,而ER-β与雌激素结合,间接作用于细胞的程序性死亡。此外,一些观察证明ER-α主要表达在皮质骨,而ER-β则多表达在松质骨^[21]。ER-α是主要的受体间接调控雌激素对骨的作用,其在骨转换和维持骨量方面起着重要的作用。

基于有研究报道^[22]在牙周膜成纤维细胞中,ER-β的表达高于ER-α,本课题组初步研究了ER-β与CP的关联。研究未发现ER-β Rsa 和Alu 基因多态性与病例组和对照组有统计学差异。对此阴性结果的可能解释是,微不足道的mRNA结构折叠可能导致选择性剪接结合,形成某种蛋白质异形体,或者与不同的分子(如转录因子)相互作用,因此控制转录效能。ER-β多态性是如何影响CP病程的机制目前还在研究中。尽管ER-β对骨代谢的调节作用现在还不完全知晓,但在动物模型上有一定的分子实验证据显示其与ER-α不相同的功能。学者Sims等^[23]观察到完全敲除ER-α基因导致骨转换减低,不同的是,在雌性和雄性动物中还观察到松质骨容量增加。他的研究还观察到完全敲除雄性动物的ER-β基因会导致不同的应答反应,而骨未受影响;但是在雌性动物中敲除ER-β基因则使得骨吸收减少和松质骨容量增加。相反,在雌性动物中同时敲除ER-α和ER-β基因结果发现松质骨容量大大减少,这与骨转换率降低有关。敲除ER-α而非ER-β基因使得雌二醇和/或睾酮水平产生很大的变化,间接影响骨改建和骨量。因此,在雄性动物中雌激素的α受体调控骨改建,而推测在雌性动物中α和β受体都参与调控

骨改建过程,至少是在敲除情况下,ER-α和ER-β受体相互补偿。综上,可以证实雌激素的α和β亚型在骨生长和改建中各自发挥着其不同的作用。

上下颌骨的牙槽突是牙齿支持组织的骨性支架。骨质疏松会影响牙齿在牙槽骨中移动的程度。Birkenfeld等^[24]证实全身骨量和全身骨质疏松及牙槽骨吸收呈正相关。通过研究ER基因和全身骨质疏松症机制上的相关性,能够间接地了解ER基因与牙槽骨吸收两者的相关关系。

综上,本实验采用Chelex-100法提取DNA,PCR-RFLP法检测基因多态性,得出ER-α XX基因型可能是汉族女性慢性牙周炎的易感因子。但这个实验结果还需要更大的样本量,在不同的种族之间进行深入研究。

[参考文献]

- [1] Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases [J]. Science, 2000, 289(5484): 1508-1514.
- [2] 骆凯, 闫福华. 雌激素受体与牙周病[J]. 国际口腔医学杂志, 2006, 33(6): 436-438.
LUO Kai, YAN Fu-hua. Estrogen receptors and periodontitis[J]. Int J Stomatol, 2006, 33(6): 436-438.
- [3] Greene GL, Gilna P, Waterfield M, et al. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA [J]. Science, 1986, 231(4742): 1150-1154.
- [4] Kuiper GG, Gustafsson JA. The novel estrogen receptor-β subtype: Potential role in the cell- and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens [J]. FEBS Lett, 1997, 410(1): 87-90.
- [5] Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta: Identification and characterization of a novel human estrogen receptor [J]. FEBS Lett, 1996, 392(1): 49-53.
- [6] Compston JE. Sex steroids and bone [J]. Physiol Rev, 2001, 81(1): 419-447.
- [7] Lian K, Lui L, Zmuda JM, et al. Estrogen receptor alpha genotype is associated with a reduced prevalence of radiographic hip osteoarthritis in elderly Caucasian women [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(8): 972-978.
- [8] Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions [J]. Ann Periodontol, 1999, 4(1): 1-6.
- [9] Zhang L, Meng H, Zhao H, et al. Estrogen receptor-α gene polymorphisms in patients with periodontitis [J]. J Periodontol Res, 2004, 39(5): 362-366.
- [10] Sundarajan C, Liao WX, Roy AC, et al. Association between estrogen receptor-β gene polymorphisms and ovulatory dysfunctions in patients with menstrual disorders [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(1): 135-139.
- [11] Yoshimi N, Suzuki M, Wang A, et al. One step procedure of PCR-DNA extraction from paraffin-embedded materials by Chelex-100 [J]. Acta Pathol Jpn, 1993, 43(12): 790-791.
- [12] Bandres E, Pombo I, Gonzalez-Huarriz M, et al. Association

between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ER alpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women[J]. J Endocrinol Invest, 2005, 28(4) 312-321.

[13] Greendale GA, Chu J, Ferrell R, et al. The association of bone mineral density with estrogen receptor gene polymorphisms[J]. Am J Med, 2006, 119(9 Suppl 1) S79-S86.

[14] Lau EM, Young RP, Lam V, et al. Estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density in postmenopausal Chinese women[J]. Bone, 2001, 29(1) 96-98.

[15] Marques MD, Teixeira-Pinto A, da Costa-Pereira A, et al. Prevalence and determinants of periodontal disease in Portuguese adults : Results from a multifactorial approach[J]. Acta Odontol Scand, 2000, 58(5) 201-206.

[16] Matsushita H, Kurabayashi T, Tomita M, et al. Effects of vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms on the changes in lumbar bone mineral density with multiple pregnancies in Japanese women[J]. Hum Reprod, 2004, 19(1) 59-64.

[17] Herynk MH, Fuqua SA. Estrogen receptor mutations in human disease[J]. Endocr Rev, 2004, 25(6) 869-898.

[18] Tsukamoto K, Watanabe I, Shiba T, et al. Isolation and radiation hybrid mapping of a dinucleotide repeat polymorphism at the human calcium-sensing receptor (CASR) locus[J]. J Hum Genet, 1998, 43(4) 280-282.

[19] Rosenkranz K, Hinney A, Ziegler A, et al. Systematic mutation screening of the estrogen receptor beta gene in probands of different weight extremes : Identification of several genetic variants [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(12) 4524-4527.

[20] Rutherford T, Brown WD, Sapi E, et al. Absence of estrogen receptor-beta expression in metastatic ovarian cancer[J]. Obstet Gynecol, 2000, 96(3) 417-421.

[21] Bord S, Horner A, Beavan S, et al. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(5) 2309-2314.

[22] Liang L, Yu JF, Wang Y, et al. Estrogen regulates expression of osteoprotegerin and RANKL in human periodontal ligament cells through estrogen receptor beta[J]. J Periodontol, 2008, 79(9) : 1745-1751.

[23] Sims NA, Dupont S, Krust A, et al. Deletion of estrogen receptors reveals a regulatory role for estrogen receptors-beta in bone remodeling in females but not in males[J]. Bone, 2002, 30(1) : 18-25.

[24] Birkenfeld L, Yemini M, Kase NG, et al. Menopause-related oral alveolar bone resorption : A review of relatively unexplored consequences of estrogen deficiency[J]. Menopause, 1999, 6(2) : 129-133.

(本文编辑 汤亚玲)

开封市卫生学校招生

开封市卫生学校是国家级重点中等职业学校，省级文明单位；师资力量雄厚，教学实验实习设施完善，是德国牙科技术协会中国大陆牙科技师培训基地。

今年本校招收普通中专和“3+2”大专学生。普通中专开设口腔医学技术、药剂、卫生保健、护理、助产专业；“3+2”大专开设口腔医学、临床医学、高级护理和药学专业。学习期满分别颁发普通中专和普通大专毕业证书，国家承认学历。毕业生由学校推荐就业，也可参加对口升学或专升本考试，升入普通高等医学院校学习。

本校继续与新乡医学院联办专科、专升本层次的成人学历教育，开设专业有口腔医学、临床医学、高级护理。另外本校与德国牙科技术协会联办，培养高水平牙科技师。

注：农村籍学生和城市困难学生可享受3 000元的国家资助。今年本校在甘肃、新疆、青海、宁夏、内蒙等地有“3+2”招生计划，上述省份学生可在当地直接报名，其他省份学生可和本校招生办公室杜老师联系报考事宜。详细材料免费索取。电话：0378-2636016；2954447。网址：http://www.kfwx.cn。E-mail：kfwsxx@126.com。联系人：安老师13839963613；杜老师13839964586；李老师13839955610。

开封市卫生学校