

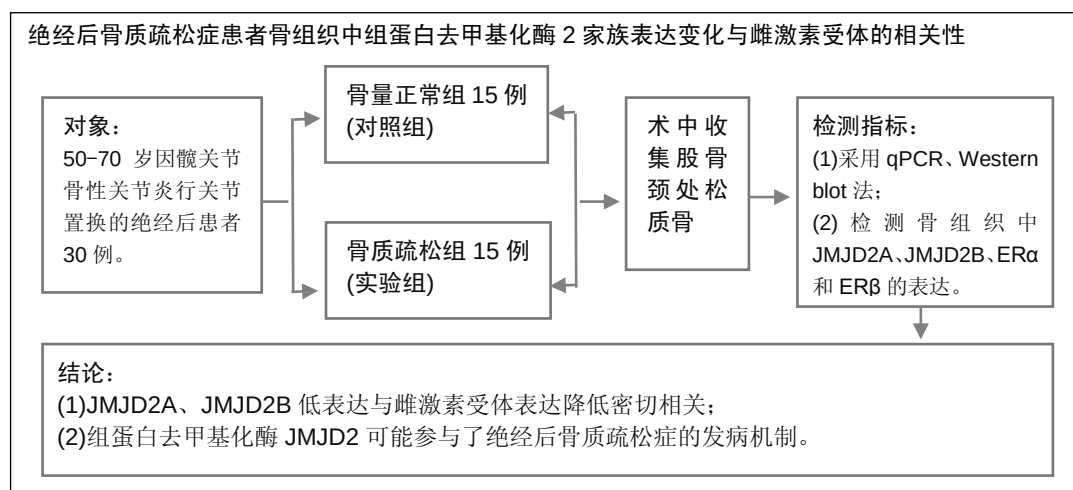
绝经后骨质疏松髋关节置换者骨组织中组蛋白去甲基化酶 JMJD2 和雌激素受体的表达

郭承¹, 唐宏宇^{2,3}, 霍少川¹, 周驰², 董路瑶¹, 陈建发², 刘勇¹, 王海彬^{2,3} (¹广州中医药大学, 广东省广州市 510405; ²广州中医药大学第一附属医院骨科中心, 广东省广州市 510405; ³广州中医药大学国家重点骨科实验室, 广东省广州市 510405)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0382

ORCID: 0000-0001-9911-0346(郭承)

文章快速阅读:



郭承, 男, 1988 年生, 河南省商丘市人, 汉族, 硕士, 主要从事骨质疏松、股骨头坏死等骨科疾病的研究。

通讯作者: 王海彬, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 广州中医药大学第一附属医院骨科中心, 广东省广州市 510405; 广州中医药大学国家重点骨科实验室, 广东省广州市 510405

中图分类号: R318

文献标识码: A

稿件接受: 2018-04-20

文题释义:

组蛋白去甲基化酶 JMJD2 蛋白家族: JMJD2 蛋白家族的蛋白质序列中含有组蛋白去甲基化酶标志性结构域 Jumonji C(JmjC), 该结构域通过氧化反应能催化单、双和三甲基化的赖氨酸残基的去甲基化, 从而发挥生物学功能, 包含 JMJD2A、JMJD2B、JMJD2C、JMJD2D 等多个成员。

雌激素受体: 雌激素通过骨细胞上的雌激素受体介导调节骨代谢, 其受体分为 ERα 与 ERβ 两种亚型, 都属于核受体类转录因子, 主要功能是调控靶基因表达。

摘要

背景: 研究发现组蛋白去甲基化酶具有促进成骨细胞分化的作用, 然而绝经后骨质疏松症组蛋白去甲基化酶表达以及与雌激素受体的相关性未见报道。

目的: 观察绝经后骨质疏松症患者组蛋白去甲基化酶 JMJD2 家族的表达变化, 以及与雌激素受体的相关性。

方法: 选择年龄 50-70 岁因髋关节骨性关节炎行髋关节置换的绝经后患者 30 例, 通过检测股骨颈骨密度, 分为绝经后骨质疏松组 15 例(实验组)和骨量正常组 15 例(对照组), 术中收集股骨颈松质骨标本, 荧光实时定量 PCR、Western blot 法检测骨组织中组蛋白去甲基化酶(JMJD2A、JMJD2B)和雌激素受体(ERα、ERβ)的表达水平。

结果与结论: 绝经后骨质疏松组 JMJD2A、JMJD2B、ERα 和 ERβ 表达水平均低于骨量正常组, 组间差异有显著性意义(P 均 <0.01); 相关性分析显示 JMJD2A、JMJD2B 的表达与 ERα 和 ERβ 表达均呈显著正相关(P 均 <0.01)。结果表明, 绝经后骨质疏松症患者骨组织中 JMJD2A、JMJD2B 基因和蛋白表达均降低, JMJD2A、JMJD2B 的低表达与雌激素受体表达降低密切相关; 组蛋白去甲基化酶 JMJD2 可能参与了绝经后骨质疏松症的发病机制。

关键词:

绝经后骨质疏松症; 表观遗传学; 组蛋白去甲基化酶 JMJD2; 雌激素受体; 聚合酶链式反应; 蛋白质印迹; 国家自然科学基金

主题词:

骨质疏松, 绝经后; 组蛋白脱甲基酶类; 受体, 雌激素; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金(81373655); 广东省省级科技计划项目(2013B021800226)

缩略语:

组蛋白去甲基化酶 2: Jumonji domain-containing histone demethylase 2, JMJD2; 雌激素受体: estrogen receptor, ER



Guo Cheng, Master,
Guangzhou University of
Chinese Medicine,
Guangzhou 510405,
Guangdong Province, China

Corresponding author:
Wang Hai-bin, M.D., Chief
physician, Professor,
Doctoral supervisor,
Orthopedics Center, the First
Affiliated Hospital of
Guangzhou University of
Chinese Medicine,
Guangzhou 510405,
Guangdong Province, China;
the National Key Research
Laboratory of Orthopedics,
Guangzhou University of
Chinese Medicine,
Guangzhou 510405,
Guangdong Province, China

Expression of histone demethylase jumonji domain-containing protein 2 and estrogen receptor in bones of postmenopausal osteoporosis patients undergoing hip arthroplasty

Guo Cheng¹, Tang Hong-yu^{2,3}, Huo Shao-chuan¹, Zhou Chi², Dong Lu-jue¹, Chen Jian-fa², Liu Yong¹, Wang Hai-bin^{2,3} (¹Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China; ²Orthopedics Center, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China; ³the National Key Research Laboratory of Orthopedics, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Histone demethylase has been shown to promote osteoblast differentiation. However, little is reported on the association between postmenopausal osteoporosis and histone demethylase and estrogen receptor.

OBJECTIVE: To study the changes in the histone demethylase jumonji domain-containing protein 2 (JMJD2) family expression in patients with postmenopausal osteoporosis, and its correlation with estrogen receptor.

METHODS: Postmenopausal patients with hip osteoarthritis undergoing total hip arthroplasty, aged 50–70 years, were enrolled, including 15 postmenopausal osteoporosis patients (experimental group) and 15 patients with no postmenopausal osteoporosis (control group). During the arthroplasty, the cancellous bone specimens from the femoral neck were collected. Then, the expression levels of JMJD2A, JMJD2B, estrogen receptor α and estrogen receptor β were detected by real-time quantitative PCR, and western blot assay.

RESULTS AND CONCLUSION: Compared with the control group, the relative expression of JMJD2A, JMJD2B, estrogen receptor α and estrogen receptor β in the experimental group were significantly decreased ($P < 0.01$). JMJD2A and JMJD2B were positively correlated with estrogen receptor α and estrogen receptor β ($P < 0.01$). These findings indicate that there is a decrease in the expression levels of JMJD2A and JMJD2B in postmenopausal osteoporosis patients. The decreased JMJD2A and JMJD2B expression is closely related to the decrease of estrogen receptor α and estrogen receptor β . Thereafter, JMJD2 may be involved in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis.

Subject headings: Osteoporosis, Postmenopausal; Histone Demethylases; Receptors, Estrogen; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81373655; the Guangdong Provincial Science and Technology Program, No. 2013B021800226

0 引言 Introduction

绝经后骨质疏松症是以绝经后卵巢功能衰退引起雌激素水平降低为主要发病原因的一种全身性代谢性骨病^[1]。研究表明雌激素通过骨细胞上的雌激素受体(estrogen receptor, ER)介导调节骨代谢,其受体分为ER α 与ER β 两种亚型,都属于核受体类转录因子,主要功能是调控靶基因表达^[2]。女性绝经后体内雌激素水平下降,雌激素受体蛋白表达降低、功能减退,提示雌激素受体在绝经后骨质疏松中起着关键作用^[3]。研究发现绝经后女性雌激素受体启动子甲基化水平(70.59%)显著高于经期女性(26.67%),启动子DNA甲基化将抑制雌激素受体的蛋白表达,进而影响骨形成和成骨细胞分化^[4]。

组蛋白甲基化是表观遗传中组蛋白修饰的重要方式之一,组蛋白甲基化与基因的失活及激活、基因沉默以及DNA修复等有关^[5-6]。尽管最初组蛋白的甲基化被认为是一种稳定状态的修饰,但随着对甲基化的深入研究尤其是组蛋白去甲基化酶2(Jumonji domain-containing histone demethylase 2, JMJD2)的发现,使人们认识到组蛋白甲基化可以被多种甲基化修饰酶所调控,组蛋白甲基化修饰存在甲基化和去甲基化的动态调节过程,同时这种动态调节对基因表达及下游效应的发生起着至关重要的作用^[7-9]。

通过收集绝经后骨质疏松与骨量正常受试者的骨组织标本,比较两组受试者组蛋白去甲基化酶JMJD2家族(JMJD2A、JMJD2B)、雌激素受体(ER α 、ER β)表达水平的差异,并探讨它们之间的相关性,为认识绝经后骨质疏松症及下一步从表观遗传机制干预绝经后骨质疏松提供新的思路。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 病例-对照分析。

1.2 时间及地点 于2015年2月至2016年1月在广州中医药大学国家重点骨科实验室完成。

1.3 对象 选择2014年10月至2015年6月广州中医药大学第一附属医院骨科收治的因髋关节骨性关节炎行全髋关节置换的绝经后女性患者30例。术前采用法国MEDILINK公司双能X射线骨密度仪测量术侧股骨颈骨密度,根据《原发性骨质疏松症诊治指南》(2011年版)^[10]发布的诊断标准,分为骨量正常组15例(对照组)(T值 >-1.0)和骨质疏松组15例(实验组)(T值 ≤-2.5)。该研究通过广州中医药大学第一附属医院医学伦理委员会审查,所有入组受试者均签署书面知情同意书。

纳入标准: ①年龄50–70岁; ②女性自然绝经,停经1年以上; ③符合《骨关节炎诊治指南》(2007年版)^[11]中的髋关节骨关节炎诊断标准; ④符合《原发性骨质疏松症诊治指南》(2011年版)^[10]中的绝经后骨质疏松症诊断标准。

排除标准: ①不符合纳入标准者; ②合并严重心脑血管疾病、糖尿病以及肝肾功能不全者; ③合并甲状腺功能亢进、类风湿性关节炎等可引起的继发性骨质疏松症者; ④糖皮质激素应用史; ⑤半年内服用可能影响骨代谢药物者。符合以上任意1条排除试验。

1.4 材料 MAGNET Total RNA Kit(Solar 公司); PrimeScriptTM RT Master Mix(TaKaRa 公司); SYBR[®]Premix Ex TaqTM II (TaKaRa公司); PCR引物设计及合成(上海英潍捷基公司); JMJD2A、JMJD2B一抗(CST 公司); ER α 、ER β 一抗(Santa公司); 总蛋白提取试剂盒(上海碧云天公司); BCA蛋白浓度测定试剂盒(Thermo公

司); Simple Western试剂套装(Protein Simple公司); King FisherDuo全自动磁珠纯化提取仪(Thermo公司); T100™ Thermal Cycler(BIO-RAD公司); CFX96™ RT-PCR仪、微型垂直电泳仪(BIO-RAD公司); 全波长酶标仪(Thermo公司); ChemiDoc™ MP凝胶成像系统(BIO-RAD公司); Simon全自动蛋白质表达分析系统(Protein Simple公司)。

1.5 方法

1.5.1 骨组织标本采集 在全髋关节置换术中用无菌咬骨钳咬取股骨颈处松质骨装入冻存管中, 并立即将冻存管放入小型液氮罐中, 转运至-80℃冰箱保存备用, 以待分子生物学检测。

1.5.2 荧光实时定量PCR检测JMJD2A、JMJD2B、ER α 和ER β 的基因表达

标本处理: 将在-80℃冰箱冻存的骨组织样品取出50 mg, 迅速转移至液氮预冷的研钵中, 用研杵研磨组织, 直至研磨成粉末状; 将粉末状样品加入到含有1 mL Trizol的1.5 mL灭菌EP管中, 用移液器反复吹打; 室温静置5 min, 12 000×g, 4℃离心5 min, 弃沉淀; 加入200 μ L氯仿, 充分振荡15 s; 室温静置5 min, 12 000×g, 4℃离心15 min, 吸取上清至新离心管中。按照MAGNET Total RNA Kit试剂盒说明将500 μ L上清, 250 μ L异丙醇, 20 μ L磁珠加入到1个孔中, 其余孔依次加入MPW缓冲液, RW2缓冲液; 加样完毕后, 将加样板放入磁珠纯化提取仪中运行, 约30 min后运行结束, 即为提取的总RNA。取总RNA 2 μ L于全波长酶标仪读取260, 280 nm处的吸光度值, 计算总RNA样品A₂₆₀/A₂₈₀比值, 比值要求在1.85-2.0, 并用琼脂糖凝胶电泳检测总RNA的完整性。

实验步骤: 以总RNA为模板, 按照PrimeScript™ RT Master Mix试剂盒说明书反转录成cDNA。从Genebank中获取基因序列, 由上海英潍捷基公司采用Primer Premier 5.0软件设计合成PCR引物, 以 β -actin为内参, 引物序列见表1。根据SYBR®Premix Ex Taq II试剂盒说明书采用两步法PCR扩增反应程序进行检测。应用CFX96™ RT-PCR仪进行荧光定量PCR扩增反应, 反应体系25 μ L: SYBR®Premix Ex Taq II 12.5 μ L, 上、下游引物各1 μ L, 模板cDNA 2.5 μ L以及去离子水8 μ L。PCR反应条件: 95℃预变性30 s, 95℃变性5 s, 60℃ 30 s, 共40个循环。根据制作的标准曲线显示目标基因和参照基因扩增效率均接近100%且相互间效率偏差在5%以内, 目的基因相对表达量用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算。

1.5.3 Western blot检测JMJD2A、JMJD2B、ER α 和ER β 蛋白的表达

标本处理: 将-80℃冰箱保存的骨组织标本取出, 在液氮中研磨成粉末后, 采用总蛋白提取试剂盒提取总蛋白样品, 并用BCA法测定蛋白浓度, 分装于-20℃冰箱保存备用。

实验步骤: 蛋白样品检测根据Simple Western试剂套装操作说明进行, 将一抗及内参 β -actin抗体按1:50稀释, 将蛋白样品浓度稀释成1.5 g/L, 小心地将各样品及试剂依次加入384微孔板中, 上样完成后, 在Simon全自动蛋白质表达分析系统上按照软件操作指南上机运行, 机器自动完成样品跑胶、抗体孵育及染色成像, 约5 h后, 机器运行结束, 生成结果。结果判定根据Graph view下的Peaks表格中目的蛋白“峰面积”数值来计算蛋白表达量。

1.6 主要观察指标 实验组和对照组骨组织中JMJD2A、JMJD2B、ER α 和ER β 表达差异。

1.7 统计学分析 采用SPSS 17.0统计软件处理数据, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本t检验; 相关性分析采用Pearson相关性分析法, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 参与者数量分析 纳入骨量正常组受试者15例, 骨质疏松组受试者15例, 检测过程中无脱落, 30例全部进入结果分析。

2.2 两组基线资料分析 两组受试者年龄、身高、体质量、体质量指数之间差异无显著性意义($P > 0.05$); 实验组股骨颈骨密度及T值均低于对照组, 差异有显著性意义($P < 0.01$), 见表2。

2.3 对照组和实验组JMJD2A、JMJD2B、ER α 和ER β 表达差异 荧光实时定量PCR及Western blot检测结果显示, 实验组JMJD2A、JMJD2B、ER α 和ER β 表达水平均低于对照组, 两组间差异有显著性意义(P 均 < 0.01)。荧光实时定量PCR检测统计结果见表3; Western blot检测结果见图1, 统计结果见表4。

2.4 相关性分析 Pearson相关性分析结果显示, 骨组织中JMJD2A、JMJD2B mRNA表达与ER α 和ER β mRNA表达均呈显著正相关(r 值分别为0.764, 0.741, 0.8, 0.885, P 均 < 0.01); JMJD2A、JMJD2B蛋白表达与ER α 和ER β 蛋白表达均呈显著正相关(r 值分别为0.837, 0.775, 0.893, 0.892, P 均 < 0.01)。

3 讨论 Discussion

骨质疏松症是以骨组织骨密度下降, 微结构紊乱以及骨折风险增加为表现的骨代谢疾病, 由于在绝经后妇女中发病率较高, 而成为显著的全球性健康问题^[12]。近几十年来对绝经后骨质疏松发病机制进行了大量的研究, 但确切机制尚未十分明确^[13]。

组蛋白甲基化是表观遗传中重要的修饰方式之一, 对基因表达的影响具有位点特异性, 主要发生在组蛋白H3或H4的赖氨酸和精氨酸残基上, 又以H3的赖氨酸甲基化最常见, 其K4、K9、K27、K36和H4的K20等位点均可被甲基

表 1 用于荧光实时定量 PCR 的基因引物序列及长度
Table 1 Primer sequence and length for real-time quantitative PCR

目的基因	基因寡核苷酸序列(5'-3')	引物长度(bp)
JMJD2A	F:TCC CAC CCT ATC CAA ATG TAC C R:TTG ATA ACT CGT TGC CGT TTC T	200
JMJD2B	F:AGA AAC GCA GGT GTT CCA GA R:GCT CAG GGT TGT ACC CGA AGA	142
ERα	F:GGG AAG TAT GGC TAT GGA ATC TG R:TGG CTG GAC ACA TAT AGT CGT T	158
ERβ	F:TTC AAA GAG GGA TGC TCA CTT C R: CCT TCA CAC GAC CAG ACT CC	81
β-actin	F:TGG CAC CCA GCA CAA TGA A R:CTA AGT CAT AGT CCG CCT AGA AGC A	186

表 3 荧光实时定量 PCR 检测骨组织中 mRNA 的相对表达水平($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Relative mRNA expression levels in bones detected using real-time quantitative PCR

基因	对照组	实验组	t 值	P 值
JMJD2A	1.01±0.10	0.73±0.11	7.22	0.000
JMJD2B	1.02±0.16	0.42±0.13	11.08	0.000
ERα	1.01±0.17	0.49±0.09	10.72	0.000
ERβ	1.01±0.14	0.38±0.11	13.52	0.000

表注: 经 t 检验, 两组受试者 JMJD2A、JMJD2B、ERα、ERβ mRNA 表达差异有显著性意义(P 均 < 0.01)。

表 2 对照组和实验组基线资料比较 ($\bar{x}\pm s$, n=15)
Table 2 Comparison of baseline data between two groups

项目	对照组	实验组	t 值	P 值
年龄(岁)	59.73±4.83	61.4±4.39	-0.99	0.331
身高(cm)	158.2±5.28	155.4±4.09	1.62	0.116
体质量(kg)	60.93±7.38	57.67±5.46	1.38	0.179
体质量指数(kg/m ²)	24.40±3.25	23.88±2.06	0.53	0.6
股骨颈骨密度(g/cm ²)	1.05±0.09	0.71±0.06	11.35	0.000
骨密度 T 值	-0.29±0.57	-3.06±0.43	15.11	0.000

表注: 经 t 检验, 两组受试者的年龄、身高、体质量、体质量指数之间差异无显著性意义(P > 0.05), 股骨颈骨密度及 T 值差异有显著性意义(P < 0.01)。

表 4 Western blot 检测骨组织中蛋白表达水平 ($\bar{x}\pm s$)
Table 4 Protein expression levels in bones detected by western blot assay

蛋白	对照组	实验组	t 值	P 值
JMJD2A	366.87±20.01	289.93±18.87	10.83	0.000
JMJD2B	603.27±32.51	363.00±26.23	22.28	0.000
ERα	668.93±56.33	444.53±42.60	12.31	0.000
ERβ	412.73±42.27	264.93±30.13	11.03	0.000

表注: 经 t 检验, 两组受试者 JMJD2A、JMJD2B、ERα、ERβ 蛋白表达差异有显著性意义(P 均 < 0.01)。

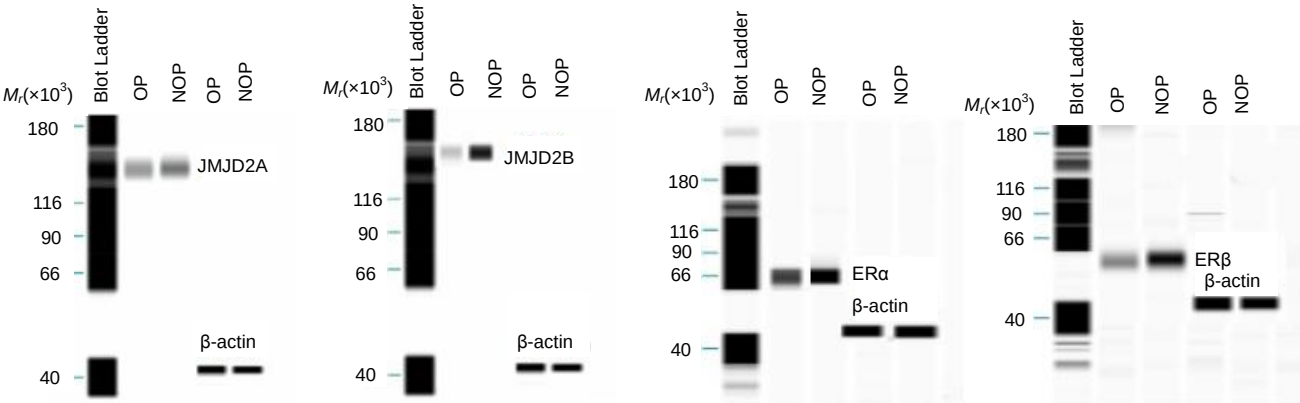


图 1 Western blot 检测实验组和对照组 JMJD2A、JMJD2B、ERα 和 ERβ 蛋白表达
Figure 1 Protein expression levels of JMJD2A, JMJD2B, ERα and ERβ in the two groups detected by western blot assay
图注: OP: 骨质疏松组蛋白; NOP: 骨量正常组蛋白; Blot Ladder: 预染蛋白 marker。

化^[6, 14]。组蛋白H3第9位赖氨酸的甲基化与基因的失活相关联; 组蛋白H3第4位赖氨酸和第36位赖氨酸的甲基化与基因的激活有关; 组蛋白H3第27位赖氨酸的甲基化与同源基因沉默、X染色体失活、基因印记等基因沉默现象有关; 组蛋白H3第79位赖氨酸的甲基化与防止基因失活和DNA修复有关^[5-6, 15]。

组蛋白去甲基化酶JMJD2蛋白家族的蛋白序列中均含有组蛋白去甲基化酶标志性结构域JmjC, 该结构域通过氧化反应能催化单、双和三甲基化的赖氨酸残基的去甲基化, 从而发挥生物学功能^[9]。作者前期的研究证实绝经后骨质疏松症患者骨组织中组蛋白H3K9、H3K36位点呈高甲基化

状态^[16], 而JMJD2 蛋白可以使H3K9、H3K36位点去甲基化, 并且具有转录激活和抑制因子的功能^[17-18]。

目前, 关于JMJD2蛋白家族是否参与绝经后骨质疏松女性异常骨代谢的发展过程未见明确报道。因此, 试验采用荧光实时定量PCR法和Western blot法分别检测骨量正常者和绝经后骨质疏松受试者骨组织中JMJD2A、JMJD2B、ERα和ERβ基因及蛋白表达。结果显示, 绝经后骨质疏松组JMJD2A、JMJD2B、ERα和ERβ表达水平较骨量正常组均降低; 通过相关性分析发现JMJD2A、JMJD2B的表达与ERα、ERβ表达均呈显著正相关, 然而它们之间是否存在分子机制的关联, 其相互间具体信号交

通机制如何,目前尚不十分清楚。Berry等^[19]研究表明, JMJD2A可以通过激活ER而促进乳腺癌细胞的增殖。Kawazu等^[20]研究发现, JMJD2A和JMJD2B通过与ER形成复合物,刺激ER的目标基因转录,在乳腺肿瘤中, ER表达阳性的患者其JMJD2B相对高表达。Shi等^[21]和Gaughan等^[22]进行了类似的研究,发现JMJD2B的表达不仅受到ER和雌激素的调控,还可以与H3的K4位点甲基化酶MLL2结合形成复合物,作为ER的共激活因子发挥功能。JMJD2B首先将ER靶基因启动子H3K9me3去甲基化,之后MLL2启动H3的K4位点甲基化,增加ER靶基因的表达,从而发挥作用。因此,作者推测JMJD2A和JMJD2B可能通过调控雌激素-ER信号通路调节骨代谢,但是还需进一步研究证实。

总之,此次研究表明组蛋白去甲基化酶JMJD2可能参与了绝经后骨质疏松症的发病机制,这为从表观遗传学角度阐明绝经后骨质疏松症的发病机制提供了新的思路,但JMJD2A和JMJD2B在骨代谢中的功能和调控机制尚不明确,仍需进一步研究。

致谢: 谨向广州中医药大学第一附属医院骨三科、广州中医药大学国家重点骨科实验室老师及管理员对课题实施给予的帮助致以诚挚的谢意。

作者贡献: 通讯作者设计试验方案并指导第一作者完成试验、论文写作与修改,第二、三、四、五、六、七作者协助试验的实施,第一、二作者完成试验统计。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金(81373655)”、“广东省省级科技计划项目(2013B021800226)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程,不存在利益冲突。

伦理问题: 研究对象采用来自人体的组织,符合相关伦理学要求,文章的撰写与编辑修改后文章遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Erdogan MO, Yildiz H, Artan S, et al. Association of estrogen receptor alpha and collagen type I alpha 1 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2011;22(4):1219-1225.
- [2] Movérare S, Venken K, Eriksson AL, et al. Differential effects on bone of estrogen receptor alpha and androgen receptor activation in orchidectomized adult male mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(23):13573-13578.
- [3] Lanyon L, Armstrong V, Ong D, et al. Is estrogen receptor alpha key to controlling bones' resistance to fracture. *J Endocrinol*. 2004;182(2):183-191.
- [4] Lv H, Ma X, Che T, et al. Methylation of the promoter A of estrogen receptor alpha gene in hBMSC and osteoblasts and its correlation with homocysteine. *Mol Cell Biochem*. 2011;355(1-2):35-45.
- [5] Kawazu M, Saso K, Tong KI, et al. Histone demethylase JMJD2B functions as a co-factor of estrogen receptor in breast cancer proliferation and mammary gland development. *PLoS One*. 2011;6(3):e17830.
- [6] Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*. 2012;13(5):343-357.
- [7] Bannister AJ, Schneider R, Kouzarides T. Histone methylation: dynamic or static. *Cell*. 2002;109(7):801-806.
- [8] Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*. 2004;119(7):941-953.
- [9] Tsukada Y, Fang J, Erdjument-Bromage H, et al. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature*. 2006;439(7078):811-816.
- [10] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松诊治指南(2011年)[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2011,4(1):2-17.
- [11] 中华医学会骨科学分会.骨关节炎诊治指南(2007 年版)[J].中华骨科杂志,2007,10(27):793-796.
- [12] Wolski J, Drwńska-Matelska N, Seremak-Mrozikiewicz A, et al. The role of Wnt/β-catenin pathway and LRP5 protein in metabolism of bone tissue and osteoporosis etiology. *Ginekol Pol*. 2015;86(4):311-314.
- [13] Black DM, Rosen CJ. Clinical Practice. Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med*. 2016;374(3):254-262.
- [14] Rivenbark AG, Strahl BD. Molecular biology. Unlocking cell fate. *Science*. 2007;318(5849):403-404.
- [15] Tian Y, Jia Z, Wang J, et al. Global mapping of H3K4me1 and H3K4me3 reveals the chromatin state-based cell type-specific gene regulation in human Treg cells. *PLoS One*. 2011;6(11):e27770.
- [16] 唐宏宇,郭承,董路珏,等.组蛋白去甲基化酶JMJD2 在绝经后骨质疏松症表达分析[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(1):24-29.
- [17] Labbé RM, Holowatyj A, Yang ZQ. Histone lysine demethylase (KDM) subfamily 4: structures, functions and therapeutic potential. *Am J Transl Res*. 2013;6(1):1-15.
- [18] Klose RJ, Yamane K, Bae Y, et al. The transcriptional repressor JHDM3A demethylates trimethyl histone H3 lysine 9 and lysine 36. *Nature*. 2006;442(7100):312-316.
- [19] Berry WL, Shin S, Lightfoot SA, et al. Oncogenic features of the JMJD2A histone demethylase in breast cancer. *Int J Oncol*. 2012;41(5):1701-1706.
- [20] Kawazu M, Saso K, Tong KI, et al. Histone demethylase JMJD2B functions as a co-factor of estrogen receptor in breast cancer proliferation and mammary gland development. *PLoS One*. 2011;6(3):e17830.
- [21] Shi L, Sun L, Li Q, et al. Histone demethylase JMJD2B coordinates H3K4/H3K9 methylation and promotes hormonally responsive breast carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(18):7541-7546.
- [22] Gaughan L, Stockley J, Coffey K, et al. KDM4B is a master regulator of the estrogen receptor signalling cascade. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(14):6892-6904.