

基础研究

HES7 基因多态性与先天性脊柱侧凸的关联分析

原所茂¹, 吴志宏¹, 魏斌², 邱贵兴¹, 仇建国¹, 沈建雄¹, 王以朋¹, 赵宏¹, 赵丽娟¹

(1 北京协和医学院 北京协和医院骨科 100730 北京市; 2 山东省计划生育科学技术研究所 250002 济南市)

【摘要】目的:探讨我国汉族人群 *HAIRY-AND-ENHANCER-OF-SPLIT-7* (*HES7*) 基因多态性与先天性脊柱侧凸 (congenital scoliosis, CS) 的关联性。**方法:**2005 年 9 月~2007 年 5 月在我院住院治疗的性别与年龄完全匹配的 CS 患者和非发育性畸形疾病患者 (对照组) 各 123 例, 均为汉族, 从外周血中提取基因组 DNA。从美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 数据库选取 *HES7* 基因 rs3027279 和 rs1442849 两个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点, 采用超高通量 SNP 分型系统对这两个位点进行基因分型, 对检测的结果进行 Hardy-Weinberg (H-W) 平衡检验、卡方 (χ^2) 检验、连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 分析、单位点非条件 Logistic 回归分析和多位点单倍型非条件 Logistic 回归分析, 判断 *HES7* 多态性与 CS 易感性是否存在关联性。**结果:**两个 SNP 位点都具有多态性, 且均符合 H-W 平衡。rs3027279 位点中, C 和 A 两种等位基因的频率在对照组和 CS 组间的差异具有显著性 ($\chi^2=4.651, P<0.05$); C/C 和 C/A 两种基因型在两组间的差异具有显著性 ($\chi^2=5.857, P<0.05$)。rs1442849 位点中, A 和 G 两种等位基因在两组间的差异具有显著性 ($\chi^2=7.963, P<0.05$); G/G、G/A 和 A/A 三种基因型在两组间的差异有统计学意义 ($\chi^2=7.919, P<0.05$)。非条件 Logistic 回归分析表明 rs1442849 位点的 A/A 基因型对 CS 可能具有保护作用 ($P=0.018<0.05, OR=0.35, 95\%CI=0.17\sim0.74$), 而 rs3027279 位点的 C/A 基因型可能会增加 CS 的发病风险 ($P=0.015<0.05, OR=1.93, 95\%CI=1.13\sim3.30$)。LD 分析示该两位点存在连锁不平衡关系 ($D'=0.923, r^2=0.3812$), 单倍型非条件 Logistic 回归分析表明单倍型 Hap3-GA 可能会增加 CS 的发病风险 ($P=0.008<0.01, OR=2.14, 95\%CI=1.23\sim3.74$)。**结论:**中国汉族人群 *HES7* 的 rs3027279 和 rs1442849 两个位点存在多态性, 该两个位点的多态性可能与 CS 的易感性有一定关联性。

【关键词】先天性脊柱侧凸; 单核苷酸多态性; *HES7*; 关联分析

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2009.03.11

中图分类号: R682.1, R636.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-03-0222-05

Association analysis between genetic polymorphisms of *HAIRY-AND-ENHANCER-OF-SPLIT-7* and congenital scoliosis/YUAN Suomao, WU Zhihong, WEI Bin, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(3): 222~226

【Abstract】 Objective: To explore the association between genetic polymorphisms of *HAIRY-AND-ENHANCER-OF-SPLIT-7* (*HES7*) and congenital scoliosis (CS) in Han population. **Method:** 246 cases of congenital scoliosis and noncongenital controls in our hospital were collected respectively, in which the age and sex were fully matched. All participants were Chinese Han population. The genome DNA was extracted from peripheral blood sample. Two SNPs were defined for *HES7* using NCBI database. The genotypes of two SNPs were determined by SNPstream UHT Genotyping System. Statistical analysis, including Hardy-Weinberg equilibrium test, Pearson chi-square test, linkage disequilibrium analysis, single SNP unconditional Logistic regression analysis and multiple SNPs unconditional Logistic regression analysis, were performed to determine the association between the polymorphisms of *HES7* and the susceptibility of nonsyndromal CS. **Result:** Polymorphisms were found in both SNPs and in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. For SNP rs3027279, the difference of two alleles (C and A) frequencies between CS and control groups was statistically significant ($\chi^2=4.651, P<0.05$). Analysis also showed the difference of two genotypes (C/C and C/A) frequencies between two groups was significant ($\chi^2=5.857, P<0.05$). For SNP rs1442849, both difference of two alleles (A and G) frequencies and difference of three genotypes (G/G, G/A and AA) frequencies between two groups were shown statistically signifi-

第一作者简介: 男 (1979-), 医学博士, 研究方向: 脊柱侧凸

电话: (010)65296081 E-mail: kuge7981@163.com

通讯作者: 邱贵兴

cant ($\chi^2=7.963, P<0.05$; $\chi^2=7.919, P<0.05$; respectively). The unconditional Logistic regression analysis showed A/A genotype of SNP rs1442849 may be a protective factor ($P=0.018<0.05, OR=0.35, 95\%CI=0.17-0.74$) for the onset of CS, while C/A genotype of SNP rs3027279 increased the onset risk ($P=0.015<0.05, OR=1.93, 95\%CI=1.13-3.30$) of CS. Linkage disequilibrium analysis demonstrated the existence of linkage disequilibrium between the two SNPs. The haplotype unconditional Logistic regression analysis showed Hap3-GA may increase the onset risk ($P=0.008<0.01, OR=2.14, 95\%CI=1.23-3.74$) of CS. **Conclusion:** The genetic polymorphisms in rs1442849 and rs3027279 of *HES7* exist in Chinese Han population. The polymorphisms of these two SNPs may be associated with the susceptibility of congenital scoliosis.

[Key words] Congenital scoliosis; Single nucleotide polymorphisms; *Hairy-and-enhancer-of-split-7*; Association analysis

[Author's address] Orthopaedic Department of Peiking Union Medical College Hospital, Peiking Union Medical College, Beijing, 100730, China

先天性脊柱侧凸(CS)的发病机制目前尚不清楚,但越来越多的研究支持遗传因素参与CS的发病^[1-6]。*hairy-and-enhancer-of-split-7(Hes7)*是Notch通路的重要成员,参与脊椎的正常发育。小鼠*Hes7*突变模型已经证实*Hes7*的突变可以导致严重的脊椎和肋骨畸形^[6]。有报道人类*HES7*突变也可导致严重的脊椎肋骨畸形——脊椎肋骨发育不全(spondylocostal dysostosis, SCD)^[7]。我们推测*HES7*的突变可能与人类CS的发生有关。本研究选择*HES7*为候选基因,通过关联分析来探索人类*HES7*基因与CS易感性之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2005年9月~2007年5月在我院行手术治疗的CS患者123例,均为汉族,其中男51例,女72例,年龄2~25岁,平均13.5岁,均排除综合征性CS或全脊柱脊椎畸形CS。对照组123例,为同期住院治疗的非发育性畸形疾病患者,病种包括感染、创伤、过敏性疾病等,均为汉族,按照年龄和性别进行匹配。取材均经患者及其父母知情同意,并获得北京协和医院伦理委员会的同意和认可。

1.2 实验试剂和仪器

提取DNA的QIAamp基因组DNA分离试剂盒(QIAamp DNA Blood Mini Kit)购自美国Qiagen公司,聚合酶链反应核苷酸溶液(PCR Nucleotide Mix)和淀粉分支酶(SBE)购自美国GE Healthcare公司,Amplitaq金牌DNA聚合酶(Amplitaq Gold DNA Polymerase)购自美国Applied Biosystems公司,单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)检测的其他相关

试剂均购自美国Bekman-Coulter公司。主要的仪器有美国MJ公司的PCR仪,美国Sigma公司的高速冷冻离心机,上海复日公司的FR-280电泳仪,美国Beckman-Coulter公司的基因组实验SNP高通量(GenomeLab SNPStream)芯片扫描仪。

1.3 实验方法

1.3.1 血样的采集和DNA的提取 采集CS组和对照组患者外周血2ml,注入装有2%乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝剂的无菌真空试管,混匀。取20 μ l QIAGEN蛋白酶加入1.5ml离心管,加入200 μ l全血,再加入200 μ l AL缓冲液,震荡15s,56 $^{\circ}$ C水浴10min,再加入200 μ l无水酒精,震荡15s,将混合物转入QIAamp过滤柱中,8000r/min离心1min,将过滤柱移至另一收集管中,弃过滤产物。于过滤柱中加入500 μ l AW1缓冲液,8000r/min离心1min,将过滤柱移至另一收集管中,弃过滤产物。在过滤柱中加入500 μ l AW2缓冲液,14000r/min离心3min,将过滤柱置于收集管中,加入200 μ l AE缓冲液,室温孵育5min,8000r/min离心1min,收集过滤液保存。经检测,提取的DNA浓度为15~25ng/ μ l。

1.3.2 SNP位点的选择 根据美国国立生物技术信息中心(NCBI)数据库,选取*HES7* SNPs,优先选取杂合度高于10%、位于外显子区域或有错义突变的或位于3'端和5'端调控区的SNPs。共选取了rs3027279、rs1442849和rs8076629三个位点,其中rs8076629在预实验中检测失败而放弃。

1.3.3 引物的设计和SNP的检测 所用引物由Autoprimer.com设计,包括正反向PCR引物及一条单碱基延伸引物。rs1442849:上游引物5'-

TAAGGGACTTGGGCGGA-3', 下游引物 5'-CTGGCTAACATGCTTTGC-3', 单碱基延伸引物 5'-AGAGCGAGTGACGCATACTAAGGAGGGCGC-GGTTTGGATCTCAGA-3'。rs3027279: 上游引物 5'-AAAGAGGAGGAGTGAAGGG-3', 下游引物 5'-TGTAACCAGCCAGTGCC-3', 单碱基延伸引物 5'-AGCGATCTGCGAGACCGTATGGAGGGGAA-GGAGAGAACTGGCCT-3'。采用的 SNP 分型平台为 SNPstream UHT Genotyping System(上海联合基因)。SNP 的检测步骤主要包括多重 PCR 反应, SNP 延伸反应, 芯片杂交反应和数据分析。多重 PCR 的反应体系为 1×PCR 缓冲液中使用 75μm 脱氧核糖核苷酸(dNTP)和 0.5IU AmpliTaq Gold 酶, 每个反应中使用 1~2ng 的基因组 DNA; PCR 反应程序为: 94°C 1min, 94°C 30s, 39 个循环, 55°C 30s, 72°C 1min。SNP 延伸反应体系包括: SNP 延伸缓冲液, SNP 引物混合物, 延伸混合物, SNP DNA 聚合酶; 反应程序为: 96°C 3min, 94°C 20s, 45 个循环, 40°C 11s。杂交反应中所用的杂交液由 Hybridization solution 和 Hybridization additive 配制而成, 杂交在 42°C 保湿环境中进行 2h。基因分型的数据由 SNPstream UHT Array Imager 软件分析读取。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 13.0 和在线软件(SNPstats)对 CS 组和对照组基因型频率的分布行 H-W 平衡检验, 对基因型/等位基因频率行 χ^2 检验, 并对该两个位点进行连锁不平衡(LD)分析, 利用非条件 Logistic 回归模型评估单位点基因型及多位点单倍型与 CS 发生风险的相关程度, 计算比值比(OR)、95%可信区间(95%CI)和 P 值, 并根据 Akaike 信息标准(AIC)和 Bayes 信息标准(BIC)从五种遗传学模式中确定最为精确的遗传模式。检验标准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

SNP rs1442849 中有 1 例失败, 基因分型成功率为 99.6%, SNP rs3027279 基因分型成功率为 100%。这 2 个位点基因型和等位基因在两组中的分布见表 1。通过拟和优度 χ^2 检验, 在对照组和 CS 组中的基因型频率分布进行 H-W 平衡吻合度检验, 结果显示对照组各基因型的分布频率符合 H-W 平衡($P>0.05$), 说明人群具有代表性。

统计学分析结果显示, 在 SNP rs1442849 中, CS 组的基因型频率和等位基因频率与对照组比较均有显著性差异($P<0.05$, 表 1)。单位点非条件 Logistic 回归分析提示最佳遗传模式为隐性遗传模式, 与 G/G-G/A 基因型相比, A/A 基因型 CS 的发生风险显著降低($P=0.013<0.05$, OR=0.45, 95%CI=0.24~0.86, 表 2)。

在 SNP rs3027279 中, CS 组的基因型频率和等位基因频率与对照组比较均有显著性差异($P<0.05$, 表 1)。单位点非条件 Logistic 回归分析结果显示, 与 C/C 基因型相比, C/A 基因型 CS 的发生风险明显增加($P=0.015<0.05$, OR=1.93, 95%CI=1.13~3.30, 表 2)。

2 个位点存在较强的连锁不平衡关系($D'=0.923$, $r^2=0.3812$), 2 个位点间构建出 4 个单倍型, 分别是 Hap1-AC, Hap2-GC, Hap3-GA, Hap4-AA, 多位点非条件 Logistic 回归分析表明, 以单倍

表 1 CS 组和对照组中 HES7 基因 2 个 SNPs 位点等位基因和基因型分布频率

SNP 位点	等位基因 或基因型	对照组		CS 组	
		计数	比例	计数	比例
rs1442849 ^{①②}	G	119	0.484	149	0.611
	A	127	0.516	95	0.389
	G/G	30	0.243	45	0.368
	G/A	59	0.480	59	0.480
	A/A	34	0.276	18	0.148
rs3027279 ^{①②}	C	213	0.866	195	0.793
	A	33	0.134	51	0.207
	C/C	90	0.732	72	0.585
	C/A	33	0.268	51	0.415

注: ①两组间等位基因频率比较 $P<0.05$, ②两组间基因型频率比较 $P<0.05$

表 2 对照组和 CS 组两个 SNP 位点单因素非条件 Logistic 回归分析

	最优 模型	基因型	对照组	CS 组	OR (95%CI)
rs1442849 ^①	隐性 遗传	G/G-	89	104	1.00
		G/A	(72.4%)	(85.2%)	
		A/A	34 (27.6%)	18 (14.8%)	0.45(0.24~0.86)
rs3027279 ^①	无法 确定	C/C	90 (73.2%)	85 (69.1%)	1.00
		C/A	33 (26.8%)	51 (41.5%)	1.93(1.13~3.30)

注: ①非条件 Logistic 回归分析 $P<0.05$

型 Hap1-AC 作为参考基线, Hap3-GA 增加 CS 的发生风险, OR 值为 2.14 (95%CI=1.23~3.74; $P=0.008<0.05$, 表 3)。

表 3 两个 SNP 位点构建的四种单倍型非条件 Logistic 回归分析

单倍型	SNP1 ^②	SNP2 ^③	频率		OR(95% CI)
			CS组	对照组	
Hap1	A	C	0.5103	0.3840	1.00
Hap2	G	C	0.3556	0.4087	1.47(0.96~2.26)
Hap3 ^①	G	A	0.1282	0.2012	2.14(1.23~3.74)
Hap4	A	A	0.0060	0.0061	1.62(0.09~27.71)

注: ①多位点非条件 Logistic 回归分析 $P<0.01$, ②rs1442849, ③rs3027279

3 讨论

目前 CS 的病因尚不明确。CS 患者的脊椎畸形可因发育相关基因突变所致, 也可能是妊娠中环境因素导致, 也可能是二者共同作用所致。近年来国外已开始对 CS 候选基因的初步研究, 基因和遗传因素引起了越来越多学者的重视, 目前普遍认为 CS 是一个多基因病变导致的遗传病^[8]。作为一个多基因遗传的复杂疾病, 其发病具有遗传异质性, 也就是说临床表现相同, 可能其遗传基础不同。少部分患者某个基因的异常在疾病的发病中起了主导作用, 携带有此异常基因的个体都发病, 从而表现为家族聚集现象; 而大部分患者都是多个基因与环境因素共同起作用才发病, 从而表现为散发病例。在家系中可以采用连锁分析的方法进行致病基因定位, 而在散发病例中可以采用关联分析的方法进行致病基因定位。本研究所有病例均为散发非综合征性病例, 因此采用疾病与候选基因的关联分析法。

小鼠基因敲除或突变模型提示多个基因与脊椎畸形的发育相关。Saga 等^[1]报道 *Mesp2* 基因敲除小鼠出现体节分节障碍, 脊椎相互融合。Wallin 等^[2]发现 Pax-1 对中轴骨的发育起到重要作用, Pax-1 缺陷小鼠可出现椎体和椎间盘的缺失。Shinkai 等^[3]通过建立 *Dll3* 突变小鼠系发现 *Dll3* 突变可导致小鼠脊椎结构畸形, 脊椎和肋骨融合。Takada 等^[4]通过基因敲除小鼠模型证实 *Wnt3a* 的正常表达与小鼠尾端脊椎的发育相关。Zhang 等^[5]发现 *Lfng* 突变小鼠出现体节大小和形状不规则。Bessho 等^[6]的研究证实 *Hes7* 的缺失可导致小鼠脊椎畸形。这些基因大多数与 Notch 通路有关, 它

们的突变失活可导致半椎体、脊椎融合、脊椎缺失或肋骨融合等严重脊椎畸形。Notch 通路是一个信号通路, 对细胞-细胞边界的形成至关重要^[9,10]。目前人类相关基因的研究提示 *MESP2*、*HES7*、*LFNG*、*DLL3* 等基因与人类脊椎、肋骨畸形的发生也相关^[7,11-13]。但是所报道的全部病例均为罕见的脊椎肋骨发育不全(SCD), 这些病例主要表现为全脊柱脊椎严重分节障碍和肋骨严重发育不良, 可伴或不伴有侧凸, 若伴有侧凸则为重度 CS。在人类 NOTCH 配体 Jagged1/Serrate1 的突变可导致 Alagille 综合征, 这是一种罕见的多系统畸形的显性遗传病, 通常伴有脊椎畸形的发生^[14,15], 有脊椎畸形的患者常伴有侧凸畸形, 属于综合征性 CS。但通常所讲的 CS, 亦即本文所研究的病例, 是指非综合征性、轻度或中度的脊椎和/或肋骨畸形所导致的侧凸。目前还没有 Notch 通路相关基因的突变是否与这种常见的非综合征性 CS 发生有关的相关报道。

Hes7 属于 *bHLH* 基因, 在小鼠位于 11 号染色体, 37.0cM。目前认为 *Hes7* 是 Notch 的效应基因。有研究认为 *Hes7* 控制 *Lfng* 的周期性表达, 通过与多个效应基因构成复杂的生物分节时钟, 精密地控制体节分节过程, 对体节分节的协调起着必不可少的作用^[9]。*Hes7* 在预定体节中胚层 (PSM) 中呈周期性表达, 一个周期为 2h。在 *Hes7* 完全缺失的小鼠, 体节的分节不能完全正常进行, 体节的前后极化被破坏, 最终导致脊椎和肋骨严重畸形^[6]。

人的 *HES7* 位于 17 号染色体 p13.1。本研究所选择的 SNP 位点 rs3027279 位于 5' 端非编码区, SNP 位点 rs1442849 位于 3' 端非编码区, 其可能的作用是参与 mRNA 的转录和剪切。本研究中, 我们分别从单 SNP 位点和多 SNP 位点单倍型层面分析了 *HES7* 基因对于中国汉族人群患 CS 的影响。研究结果提示, 中国汉族人群中 *HES7* 基因 rs1442849 和 rs3027279 多态性与 CS 易感性之间存在关联。单倍型分析表明, 在这两个 SNP 位点构建的单倍型中, 常见单倍型 Hap3-GA 在 CS 组中的出现频率较对照组高, 进一步分析发现单倍型 Hap3-GA 与 CS 的发生风险显著相关。

综上所述, 中国汉族人群 *HES7* 基因的 SNP 位点 rs3027279 和 rs1442849 存在多态性, 这两个位点的多态性可能与非综合征 CS 的易感性有关

联性。

4 参考文献

1. Saga Y, Hata N, Koseki H, et al. Mesp2: a novel mouse gene expressed in the presegmented mesoderm and essential for segmentation initiation[J]. *Genes Dev*, 1997, 11(14): 1827-1839.
2. Wallin J, Wilting J, Koseki H, et al. The role of Pax-1 in axial skeleton development[J]. *Development*, 1994, 120(5): 1109-1121.
3. Shinkai Y, Tsuji T, Kawamoto Y, et al. New mutant mouse with skeletal deformities caused by mutation in delta like 3 (Dll3) gene[J]. *Exp Anim*, 2004, 53(2): 129-136.
4. Takada S, Stark KL, Shea MJ, et al. Wnt-3a regulates somite and tailbud formation in the mouse embryo [J]. *Genes Dev*, 1994, 8(2): 174-189.
5. Zhang N, Gridley T. Defects in somite formation in lunatic fringe-deficient mice[J]. *Nature*, 1998, 394(6691): 374-377.
6. Bessho Y, Sakata R, Komatsu S, et al. Dynamic expression and essential functions of Hes7 in somite segmentation [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(20): 2642-2647.
7. Sparrow DB, Guillén-Navarro E, Fatkin D, et al. Mutation of Hairy -and -Enhancer -of -Split -7 in humans causes spondylocostal dysostosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(23): 3761-3766.
8. Giampietro PF, Blank RD, Raggio CL, et al. Congenital and idiopathic scoliosis: clinical and genetic aspects [J]. *Clin Med Res*, 2003, 1(2): 125-136.

9. McGrew MJ, Pourquie O. Somitogenesis: segmenting a vertebrate [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8(4): 487-493.
10. Lendahl U. A growing family of Notch ligands [J]. *Bioessays*, 1998, 20(2): 103-107.
11. Whittock NV, Sparrow DB, Wouters MA, et al. Mutated MESP2 causes spondylocostal dysostosis in humans [J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 74(6): 1249-1254.
12. Sparrow DB, Chapman G, Wouters MA, et al. Mutation of the LUNATIC FRINGE gene in humans causes spondylocostal dysostosis with a severe vertebral phenotype [J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78(1): 28-37.
13. Turnpenny PD, Whittock N, Duncan J, et al. Novel mutations in DLL3, a somitogenesis gene encoding a ligand for the Notch signalling pathway, cause a consistent pattern of abnormal vertebral segmentation in spondylocostal dysostosis [J]. *J Med Genet*, 2003, 40(5): 333-339.
14. Li L, Krantz ID, Deng Y, et al. Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1 [J]. *Nat Genet*, 1997, 16(3): 243-251.
15. Oda T, Elkahoul AG, Pike BL, et al. Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome [J]. *Nat Genet*, 1997, 16(3): 235-242.

(收稿日期: 2008-10-30 末次修回日期: 2009-01-09)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 李伟霞)

(上接第 215 页)

其结果造成一定影响。但是, 考虑到其相对稳定性以及目前任何一种测量方法的内在缺点, 应用这两种方法有助于提高可信度的同时保证不同研究的可比性。

4 参考文献

1. Keynan O, Fisher CG, Vaccaro A, et al. Radiographic measurement parameters in thoracolumbar fractures: a systematic review and consensus statement of the spine trauma study group [J]. *Spine*, 2006, 31(5): E156-165.
2. Korovessis P, Baikousis A, Koureas G, et al. Correlative analysis of the results of surgical treatment of thoracolumbar injuries with long Texas Scottish rite hospital construct: is the use of pedicle screws versus hooks advantageous in the lumbar spine [J]? *J Spinal Disord Tech*, 2004, 17(3): 195-205.
3. Yue JJ, Sossan A, Selgrath C, et al. The treatment of unstable thoracic spine fractures with transpedicular screw instrumentation: a 3-year consecutive series [J]. *Spine*, 2002, 27(24): 2782-2787.

4. Kuklo TR, Polly DW, Owens BD, et al. Measurement of thoracic and lumbar fracture kyphosis: evaluation of intraobserver, interobserver, and technique variability [J]. *Spine*, 2001, 26(1): 61-66.
5. Enad JG, Slakey JB, McNulty PS. Measurement of thoracolumbar kyphosis after burst fracture: evaluation of intraobserver, interobserver, and variability of 4 measurement methods [J]. *Am J Orthop*, 2008, 37(4): E60-63.
6. Seel EH, Verrill CL, Mehta RL, et al. Measurement of fracture kyphosis with the Oxford Cobbometer: intra- and interobserver reliabilities and comparison with other techniques [J]. *Spine*, 2005, 30(8): 964-968.
7. Polly DW, Kilkelly FX, McHale KA, et al. Measurement of lumbar lordosis: evaluation of intraobserver, interobserver, and technique variability [J]. *Spine*, 1996, 21(13): 1530-1535.
8. Farcy JP, Weidenbaum M, Glassman SD. Sagittal index in management of thoracolumbar burst fractures [J]. *Spine*, 1990, 15(9): 958-965.

(收稿日期: 2008-09-10 修回日期: 2008-10-27)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 彭向峰)