

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.04.34

❖ 论著 ❖

血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白在骨质疏松患者血清中的表达及意义

徐明元, 徐贵森, 杨晓鲲, 罗勇, 关思书, 苟放

(中国人民解放军西部战区总医院急诊科, 四川 成都 610083)

【摘要】目的: 探讨血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白在骨质疏松患者血清中的表达变化及意义。**方法:** 收集 167 例骨质疏松患者为研究对象, 另将同期在本院行健康体检且自愿参与本研究的 83 例健康者作为对照组。采用 X 线骨密度仪测定两组的骨密度; 采用酶联免疫吸附法检测血清 I 型前胶原氨基端肽、I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列、骨钙素氨基中分子片段、骨特异性碱性磷酸酶、Klotho 蛋白水平; 比较两组骨密度值、血清骨代谢指标及 Klotho 蛋白表达水平的差异性, 并分析 Klotho 蛋白、骨代谢指标、骨密度值之间的相关性。**结果:** 骨质疏松组患者的骨密度和 T 值均明显低于健康对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。骨质疏松组患者 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段、Klotho 蛋白水平较对照组明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平较对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。骨质疏松患者的血清 Klotho 蛋白水平与血清 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段水平及骨密度和 T 值呈正相关 ($P < 0.05$), 与血清 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平呈负相关 ($P < 0.05$)。**结论:** 骨质疏松患者血清骨代谢指标明显改变, 血清 Klotho 蛋白水平明显降低, 且骨代谢指标、Klotho 蛋白、骨密度值之间的存在相关性, 表明血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白可作为临床诊断骨质疏松的辅助指标, 有助于骨质疏松的临床诊治评估。

【关键词】 骨质疏松; 骨代谢指标; Klotho 蛋白

【中图分类号】 R459.5 **【文献标志码】** A

Expression and significance of serum bone metabolism index and Klotho protein in patients with osteoporosis

XU Ming-yuan, XU Gui-sen, YANG Xiao-kun, LUO Yong, GUAN Si-shu, GOU Fang

(Department of Emergency, General Hospital of Western Theater of PLA, Chengdu 610083, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the changes and significance of serum bone metabolism index and Klotho protein expression in osteoporosis patients. **Methods:** 167 cases of osteoporosis were included in this study. In addition, 83 healthy people who had physical examination in our hospital and participated in the study voluntarily in the same period were taken as the control group. Bone mineral density was measured by X-ray absorptiometry. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of amino terminal peptide of procollagen I, special sequence of carboxy terminal peptide β of collagen I, middle molecular fragment of osteocalcin amino group, bone specific alkaline phosphatase and Klotho protein. The differences of bone mineral density, bone metabolism index and Klotho protein expression between the two groups were compared. The correlation among Klotho protein, bone metabolism index and bone mineral density was analyzed. **Results:** The bone mineral density and T value of osteoporosis group were significantly lower than those of healthy control group ($P < 0.05$). The level of amino terminal peptide, bone specific alkaline phosphatase, osteocalcin amino molecule fragment and Klotho protein in osteoporosis group was significantly lower than that in healthy control group ($P < 0.05$), but the level of special sequence of carboxy terminal peptide β in collagen I was significantly higher than that in healthy control group ($P < 0.05$). The level of serum Klotho protein was positively correlated with the level of amino terminal peptide of type I procollagen, bone specific alkaline phosphatase, middle molecular segment of osteocalcin amino, bone density and T value ($P < 0.05$), and negatively correlated with the level of specific sequence of carboxy terminal peptide β of type I collagen ($P < 0.05$). **Conclusion:** The level of serum Klotho protein is significantly decreased in patients with osteoporosis, and there is a significant correlation among the indexes of bone metabolism, Klotho protein and BMD, which indicates that the indexes of serum bone metabolism and Klotho protein can be used as auxiliary indexes for clinical diagnosis of osteoporosis, and also contribute to the clinical diagnosis and evaluation of osteoporosis.

【Key words】 Osteoporosis; Bone metabolism index; Klotho protein

作者简介: 徐明元(1981-), 男, 主治医师。E-mail: wenzhang123xu@sina.com

通讯作者: 苟放。E-mail: goufang1111@163.com

骨质疏松是一种骨量低下、骨头微小结构遭到破坏且易发生骨折的全身性骨病,属于常见的骨代谢性疾病^[1]。骨质疏松的发展悄无声息,一般等到发生骨质疏松性骨折时才被患者察觉,而一旦发生骨折会对患者造成极大伤害,严重可致残、致死^[2]。骨代谢指标是反映炎性关节炎骨吸收与骨形成动态变化的常用指标,包括 I 型前胶原氨基端肽、I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列、骨钙素氨基中分子片段、骨特异性碱性磷酸酶等^[3-4]。Klotho 蛋白是一种单向跨膜蛋白,研究^[5-6]显示,Klotho 蛋白在抑制氧化应激、调节钙磷代谢方面发挥重要作用。因此,本研究旨在探讨血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白在骨质疏松患者血清中的表达变化及意义,以期对骨质疏松患者的临床诊治评估提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究纳入 2018 年 8 月至 2019 年 8 月中国人民解放军西部战区总医院收治的 167 例骨质疏松患者为研究对象。其中,男性 73 例,女性 94 例;年龄 47 ~ 73 岁,平均年龄(58.34 ± 9.71)岁。纳入标准:符合骨质疏松的临床诊断标准,骨密度测定为 T 值 < 2.5 SD;年龄 ≥ 18 岁;无其他代谢性疾病。排除标准:合并心脑血管及造血系统疾病、肝肾功能不全、恶性肿瘤合并糖尿病、原发性甲亢、风湿及类风湿等影响骨代谢疾病者;合并者;及近 3 个月服用过影响骨代谢的药物者。另将同期在本院行健康体检且自愿参与本研究的 83 例健康者作为对照组,其中男性 33 例,女 41 例;年龄 45 ~ 72 岁,平均(57.05 ± 8.33)岁。两组患者的一般资料相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 检测方法

1.2.1 骨密度检测 应用美国 GE 公司生产的 Lunar Prodigy 双能 X 线骨密度仪测定两组第 1-4 腰椎正侧位、股骨近端股骨颈 2 个部位的骨密度,并以 2 个部位中骨密度较低值作为骨密度检测值。

1.2.2 血清骨代谢指标及 Klotho 蛋白检测 采集两组空腹外周血各 5 mL,室温静置 30 min 后,3 000 rpm 离心 20 min,分离上层血清,于 2 h 内分别采用酶联免疫吸附法检测血清 I 型前胶原氨基端肽、I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列、骨钙素氨基中分子片段、骨特异性碱性磷酸酶、Klotho 蛋白水平,所有相关检测试剂盒(酶联免疫吸附法)均购自上海江莱生物科技有限公司,实验操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。实验流程包括:(1)制备标准品和待

测血清样品:将标准品按照一定比例稀释制备成系列标准品检测样品,并 5 倍稀释待测血清样品;(2)设置空白孔、标准品孔和待测血清样品孔,每孔设 3 个复孔,进行酶联免疫吸附检测,并使用美国赛默飞公司生产的 Multiskan FC 酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的光密度(OD)值;(3)应用酶联免疫吸附标准曲线绘制软件 Curve Expert,以标准品浓度为横坐标、OD 值为纵坐标绘制标准曲线,导出各指标浓度与 OD 值的拟合方程,根据拟合方程计算出待测样品的浓度,再乘以样品的稀释倍数即为待测样品的实际浓度。

1.3 评价指标

比较两组骨密度值、血清骨代谢指标及 Klotho 蛋白表达水平的差异性,并分析 Klotho 蛋白、骨代谢指标、骨密度值之间的相关性。

1.4 统计学分析

采用 SPS 20.00 软件分析数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;相关性分析采用 Pearson 相关分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度相关指标比较

骨质疏松组患者的骨密度和 T 值均低于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 骨密度相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	骨密度	T 值
骨质疏松组($n = 167$)	0.97 ± 0.16	0.11 ± 0.05
对照组($n = 83$)	1.24 ± 0.35	0.38 ± 0.09
t 值	8.374	30.477
P 值	<0.001	<0.001

2.2 血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白水平比较

骨质疏松组患者 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段、Klotho 蛋白水平较对照组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平较对照组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 骨质疏松患者骨代谢指标、Klotho 蛋白及骨密度值之间的相关性

骨质疏松患者的血清 Klotho 蛋白水平与血清 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段水平及骨密度和 T 值呈正相关($P < 0.05$),与血清 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平呈负相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	I 型前胶原氨基端肽 (ng/mL)	I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列 (ng/mL)	骨钙素氨基中 分子片段 (ng/mL)	骨特异性碱性 磷酸酶 (U/L)	Klotho 蛋白 ($\mu\text{g/L}$)
骨质疏松组 ($n = 167$)	30.82 \pm 4.27	1.29 \pm 0.36	16.86 \pm 4.27	321.45 \pm 67.53	0.92 \pm 0.21
健康对照组 ($n = 83$)	51.64 \pm 7.06	0.95 \pm 0.19	21.15 \pm 6.08	418.71 \pm 89.32	7.33 \pm 1.07
t 值	28.946	8.059	6.463	9.600	74.716
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 骨代谢指标、Klotho 蛋白及骨密度值之间的相关性

骨代谢和骨密度参数	Klotho 蛋白	
	r 值	P 值
I 型前胶原氨基端肽	0.487	0.014
I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列	-0.472	0.005
骨钙素氨基中分子片段	0.503	0.007
骨特异性碱性磷酸酶	0.428	0.022
骨密度	0.469	0.003
T 值	0.580	0.009

3 讨论

骨质疏松是以单位体积内骨组织量减少、骨组织显微结构破坏、骨脆性增加的骨代谢性疾病,易导致患者骨折危险率上升^[7-8]。骨密度是反映骨质量的重要指标,也是目前临床诊断骨质疏松的金标准^[9],骨密度越低预示着骨质疏松越严重,其可用于预测骨折危险性,而 T 值是用于判断骨密度是否正常的指标^[10-11]。在本研究中,骨质疏松组患者的骨密度和 T 值均明显低于对照组,表明骨密度和 T 值均与骨质疏松程度呈正比。

骨代谢是机体正常骨组织进行不断改建活动的复杂过程,当骨转换失衡时,则可能引发骨质疏松^[12-13]。骨代谢标志物是反映破骨细胞和成骨细胞功能、骨代谢变化速率及骨转换的频率和速率的重要指标^[14]。I 型前胶原氨基端肽含量增加提示新骨合成速度加快^[15],I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列含量增加提示骨破坏加快^[16],骨钙素氨基中分子片段含量增加提示成骨功能加强^[17],骨特异性碱性磷酸酶含量增加提示成骨细胞活性增强^[18]。本研究结果显示,骨质疏松组患者 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段、Klotho 蛋白水平较对照组明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),但 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平较对照组明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),表明骨质疏松患者骨转换水平不活跃,不利于骨再生。

Klotho 蛋白是一种由肾脏分泌的单向跨膜蛋

白,具有抗衰老、抗氧化、抗炎、抗衰老、抗凋亡、调节钙磷代谢等多种生物学功能。最近一项动物模型实验显示,通过提高年老小鼠的 Klotho 水平,或者减轻 Klotho 缺乏引起的下游影响,能够让年老小鼠的肌肉在遭受损伤后恢复再生,表明 Klotho 蛋白可能是导致衰老的一个重要分子。老年人群的各项生理机能均处于不断衰老的过程,而骨质疏松也是老年人群最常发生的健康问题之一,推测 Klotho 蛋白有可能与骨质疏松的发生有关。因此,本研究分析了 Klotho 蛋白在骨质疏松患者血清中的表达变化,结果显示,骨质疏松患者血清骨代谢指标明显改变,血清 Klotho 蛋白水平明显降低,表明 Klotho 蛋白水平降低可能与骨质疏松的发生有关。由于发现血清骨代谢指标、Klotho 蛋白均与骨质疏松的发生有关,因此,本研究进一步分析了 Klotho 蛋白、骨代谢指标、骨密度值之间的相关性。结果显示,骨质疏松患者的血清 Klotho 蛋白水平与血清 I 型前胶原氨基端肽、骨特异性碱性磷酸酶、骨钙素氨基中分子片段水平及骨密度和 T 值呈正相关 ($P < 0.05$),与血清 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列水平呈负相关 ($P < 0.05$),表明临床监测血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白水平变化可能有助于预测骨质疏松的发生及监测骨质疏松疾病的进展。

综上所述,骨质疏松患者血清骨代谢指标明显改变,血清 Klotho 蛋白水平明显降低,且骨代谢指标、Klotho 蛋白、骨密度值之间的存在明显的相关性,表明血清骨代谢指标和 Klotho 蛋白可作为临床诊断骨质疏松的辅助指标,也有助于骨质疏松的临床诊治评估。

参考文献

- [1] Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges[J]. The lancet Diabetes & endocrinology, 2017, 5(11): 898 - 907.
- [2] Cosman F, Nieves JW, Dempster DW. Treatment sequence matters: anabolic and antiresorptive therapy for osteoporosis[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2017, 32(2): 198 - 202.

(下转第 709 页)