

新钙灵对兔血清中若干骨形成因素相关性的分析

杨家辉 全伟军 陈树元 陈志良 彭湘湘 黄祖汉

摘要 用于儿童的钙剂直接移用于老年人补钙效果并不佳。试图探讨血清中Ca、BGP、CT、AKP、P、BUN六个有关骨形成因素的相关性。本文结果如下:(1)报告兔血清中以上六个因素的正常平均值;(2)BGP与Ca、CT、AKP均有程度不等的相关性;BGP与兔体重有密切相关,体重大于2.5kg,多数BGP形成减少;根据BGP形成多少,血清中BGP:Ca、BGP:P等比值也有差异。认为BGP是血清中骨形成因素的主要因素;(3)给予家兔小剂量新钙灵后,血清BGP与有关因子的比值,和BGP形成低下的兔血清中BGP的相关性相符。活性钙能使BGP:CT正相关,此二因素分别又与其他因素呈现负相关,不利BGP、CT存留,达不到理想效果。

关键词 兔BGP 相关性 新钙灵 活性钙

Correlation of some osteosis factors in rabbit serum for Xin Gai Ling

Yang Jiahui, Jin Weijun, Chen Shuyuan, et al.

Department of Pharmacology, Isotope Department,

Nanjing Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515

Abstract The administration of restorative calcium for children to the elderly has no good efficacy. We researched six factors for osteosis in rabbit serum, i.e., calcium (Ca), osteocalcin (BGP), calcitonin (CT), blood urea nitrogen (BUN), alkaline phosphatase (AKP), and phosphor (P), and obtained the following results: 1. The normal Variable values of the six factors in rabbit serum. 2. There is correlation in varying degree between BGP and Ca, CT, AKP. The content of BGP in serum and the weight of rabbit are closely correlated. When the rabbit's weight is over 2.5 kg, the content of BGP in serum is mostly decreased. The ratios of BGP:Ca and BGP:P etc vary with the content of BGP, so that BGP is a major element of osteosis. 3. The ratio of BGP to other factors after supplementating small dose of XinGai-ling in rabbits are identical with those in the rabbits which have less BGP. There is a positive correlation between BGP and CT after supplementating active calcium, while these two factors are in negative correlation with other factors, which is unfavourable to the retention of BGP and CT in body in a long time and cannot achieve an ideal effect.

Key words Rabbit BGP Correlation Xin Gai Ling Active calcium

骨质疏松症是目前全球较普遍的老年病,患者易发骨折,病人受到病痛的困扰,也给家庭、社会带来沉重负担。有人提出应以钙制剂早作预防^[1~3],壮年补钙预防比年老得病后再治疗容易,且能免除该病的后遗症。由于儿童、老年器官功能不同,老年胃酸分泌少,钙吸收、溶解、生物利用度有异,加之老年成骨细胞、破骨细胞之骨代谢变化,简单地将儿童用的补钙剂,

用于老年人是不恰当的。本文就新钙灵粉与作为对照的活性钙片在兔骨形成中,有关血钙、降钙素、骨钙素、磷、碱性磷酸酶及血尿素氮参数间的相互关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 药物:新钙灵粉由本部研制生产,批号941019,人用剂量80mg钙/次,一日三次。对照组用活性钙片,由广州光华药业有限公司生产,批号950102,人用剂量100mg钙/次,一日三次。

作者单位:510515 广州第一军医大学南方医院药学科(杨家辉、全伟军、陈树元、陈志良),同位素科(彭湘湘、黄祖汉)

1.2 血清样品收集:新西兰兔 16 只,体重 1.6~3.1kg,♂ 6 只,♀ 10 只。随机分设 4 组:生理盐水组、活性钙组(给兔灌胃,含钙 83.3mg/kg 的活性钙,是人用单次剂量的 50 倍)、新钙灵小剂量组(给兔灌胃,含钙 6.65mg/kg 的新钙灵,相当于人用单次剂量的 5 倍)、新钙灵大剂量组(给兔灌胃,含钙 66.5mg/kg 的新钙灵,相当于人用单次剂量的 50 倍)。灌胃容积相同,分别在给药前、给药后 15 分钟、45 分钟、75 分钟从颈动脉放血,离心,血清贮存于-18℃冰箱中。等血清全部收集完,立即进行各项实验,全部操作在一周内完成。

1.3 检测方法

1)降钙素(Calcitonin,CT)测定方法:按 DPC 生产的双抗体¹²⁵I 标记放射免疫测定降钙素试剂盒(批号 KCLD,367)说明书进行操作,样本采用上海核福光仪器有限公司生产 SN-682 型放射免疫 γ 计数器测定。

2)骨钙素(Osteocalcin, Bonecarboxyglutamic acid-containing protein, BGP)用北方免疫试剂研究所生产的 BGP 放射免疫分析测定盒,批号 9503,按说明书进行,样品用上海市技术监督局实验工厂生产的 FMJ-87 型全自动放射免疫 γ 计数器测定。

3)其他检测:钙用澳大利亚 Trace 科学仪器生产钙试剂盒,批号 16727。磷用上海长征医

学科学有限公司生产无机磷试剂盒,批号 40651。碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)用碱性磷酸酶试剂盒批号 951130;血尿素氮(BUN)试剂盒批号 951130;均由 Biosea 生物高技术公司生产。以上四种试剂盒均分别用意大利 Arco 生化自动分析仪进行测定。

2 结果

2.1 兔血清中正常 Ca、P、CT、BGP、AKP、BUN 诸平均值±s,详见表 1。实验兔血清钙比人正常值高。

表 1 兔血清中正常 Ca、P、CT、BGP、BUN、AKP($\bar{x} \pm s$)

项目	n	$\bar{x} \pm s$	范围
Ca(mg/dl)	16	13.94±1.33	11.8~16.1
P(mg/dl)	16	5.94±2.2	3.1~10.9
CT(pg/ml)	16	151.14±102.71	40.1~336.6
BGP(ng/ml)	16	27.68±19.75	0~61.59
BUN(mg/dl)	16	24.94±7.8	14.6~40.3
AKP(U/L)	15	75.75±35.49	18.6~170

注: BGP 在 20ng/ml 以上时, $\bar{x} \pm s$ 为 39.±13.52ng/ml($n=12$); BGP 在 0~2ng/ml 时, $\bar{x} \pm s$ 为 0.87±1.01ng/ml($n=4$)

2.2 从表 2、3 结果观察

1) BGP 与 Ca、CT、AKP 均有程度不等的相关性;

2) BGP 与兔体重有密切关系,体重大于 2.5kg,给药前 BGP 0~2ng/ml,占 60%;体重

表 2 65 只兔血清中观察 Ca、P、CT、BGP、BUN、AKP 之间相关性及相关系数

相关比	A	B	r	n	P	结果分析
Ca:CT	182.91	-4.489	-0.0783	65	>0.05	
Ca:BGP	30.519	-1.519	-0.320	65	<0.01	非常明显负相关
Ca:AKP	75.508	-0.0177	-8.187×10 ⁻⁴	61	>0.05	
Ca:P	3.309	0.1113	0.0813	64	>0.05	
Ca:BUN	27.905	-0.3076	-0.0633	65	>0.05	
CT:BGP	17.0545	0.1083	0.4425	64	<0.001	非常明显正相关
CT:P	4.796	-3.089×10 ⁻⁵	-1.33×10 ⁻⁴	64	>0.05	
CT:AKP	121.922	-0.103	-0.2136	61	>0.05	
CT:BUN	123.308	-0.0170	-0.2217	65	>0.05	
BGP:AKP	93.1635	-0.5591	-0.2705	61	<0.05	明显负相关
BGP:P	4.1159	0.021	0.2309	64	>0.05	
BGP:BUN	29.97	-0.048	-0.139	65	>0.05	
P:BUN	16.1737	1.5829	0.4305	64	<0.001	非常明显正相关
P:AKP	71.5117	0.1364	6.549×10 ⁻⁴	61	>0.05	
AKP:BUN	19.1295	0.0572	0.3351	61	<0.01	非常明显正相关

表 3 根据所给 BGP 量不同,血清成分相关因子比值分析

相关比	BGP(0~2ng/ml)			BGP(>20ng/ml)		
	r	n	P 值	r	n	P 值
BGP : Ca	-0.6288	15	<0.01	-0.26	49	
BGP : CT	8.202 × 10 ⁻³	16		0.5853	49	<0.001
CT : BUN	0.1646	16		-0.3297	49	<0.05
BGP : P	0.6292	15	<0.05	0.0495	49	
BGP : AKP	0.2418	12		-0.2939	49	<0.05
P : AKP	0.7452	12	<0.01	-0.1933	49	
P : BUN	0.8458	15	<0.001	0.2274	49	
AKP : BUN	0.9280	12	<0.001	0.1815	49	

注: P>0.05 者略;有些相关比与两组都无关系者省略报道

小于 2.5kg, BGP0~2ng/ml, 占 9%;

3) 按 BGP 数量不同分组观察到血清中各成分相关系数差异很大, 尤其在 BGP0~2ng/ml 时, BGP : Ca 有非常明显的负相关, BGP : P 也有明显正相关。提示补钙应同时补磷。

2.3 表 4 提示不同钙剂或同一钙剂给剂量不

同, 引起兔血清比例显然不同, 小剂量新钙灵适合 BGP 形成低下的兔, 能使 BGP : Ca 成负相关, BGP : P 成正相关; 活性钙可使 BGP : CT 明显正相关; 由于引起 BGP 和 CT 与其他成分多次负相关, 即体内存留 BGP 及 CT 短暂可能会影响其结果。

表 4 服用新钙灵或活性钙后兔血清内以上六成分比例的变化

相关比	对照组		活性钙组		新钙灵小剂量组		新钙灵大剂量组	
	r	n	r	n	r	n	r	n
BGP : Ca	-0.2465	16	-0.5089	13	-0.6097	12	-0.1037	12
Ca : AKP	-0.8940**	12	0.0386	13	0.0601	12	0.3127	12
Ca : BUN	-0.7888	16	0.0435	13	-0.2887	12	0.3661	12
BGP : CT	-0.2355	16	0.6213*	13	-0.2390	12	0.7311**	12
CT : P	0.0354	15	-0.5894*	13	-0.1591	12	0.3181	12
CT : AKP	0.2253	12	-0.7156**	13	-0.0999	12	-0.6387*	12
CT : BUN	0.3938	16	-0.5609*	13	-0.1371	12	-0.5947	12
BGP : P	0.8658**	15	-0.3714	13	0.5778*	12	0.4274	12
BGP : AKP	0.4087	12	-0.8279**	13	0.0436	12	0.7835**	12
BGP : BUN	0.1663	16	-0.6275*	13	0.3555	12	-0.5820	12
P : AKP	0.4468	12	0.6734	13	-0.5469	12	-0.2659	12
P : BUN	0.4830	15	0.7646**	13	0.5003	12	-0.4406	12
AKP : BUN	0.8881**	12	0.6756*	13	-0.0261	12	0.3349	12

注: 相关显著性: * P<0.05, ** P<0.01

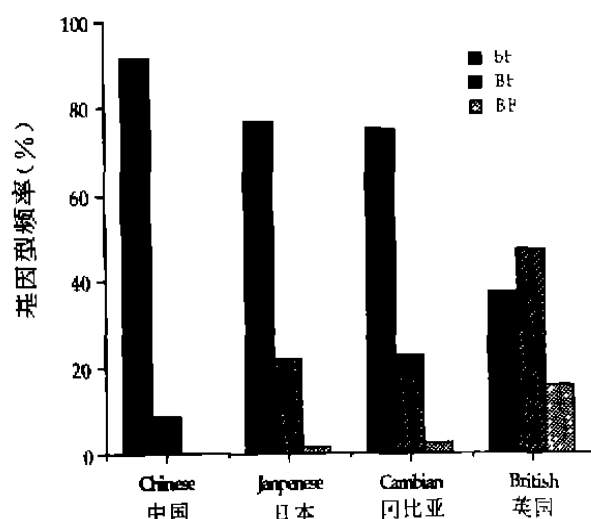
3 讨论

家兔笼养, 活动少, 生活时间长, 体重增加超过 2.5kg 的兔趋向于老态或老兔, 大多血清 BGP 低, BGP 是在成骨细胞内合成并释放到血中, 是直接代表成骨细胞功能的一个指标^[4,5], 本次实验可见 BGP 与 Ca、CT、AKP 均有程度不等的相关性, 又见 BGP 给药前含量不同, 引起体内其他因素的相关性改变, 分析 BGP 是骨

形成中的主要因素, 也意味着成骨细胞功能是主要的。

骨质疏松症目前认识其病因是成骨细胞功能低下, 同时破骨细胞活跃; 补钙剂究竟是使 BGP 合成原料增加, 还是使其细胞功能提高尚待研究, 但阻止破骨细胞活跃作用尚不清楚, 只能补加小量尼尔雌醇协助, 当前研究钙剂的重点应是诱导 BGP 增多的补钙剂。即当补钙后, 见血钙增加, 而骨钙低下患者, (下转第 21 页)

因型,其中91.7%的人为同一种VDR基因bb型。日本人与冈比亚人VDR基因分布相似,均存在三种类型。bb型占大多数,分别为77.1%和75.0%,BB型很少,分别为1.1%和2.3%。与东方人及冈比亚人比不同的是,英国人B等位基因出现频率较高。bb,Bb和BB的发病率分别为37.2%,47.4%,15.1%。目前看来,不同种族VDR基因型的分布确实不同。



附图 中国、日本、冈比亚及英国人VDR基因型比较

许多研究发现, b等位基因与高BMD和减少的骨丢失相联系^[1-4],但是另外一些研究却没有发现这种关系^[5-11]。因此,VDR基因是否与骨量及骨质疏松症的发生有关,需要进一步的研究来证实。本研究人群的例数有限,再加上VDR基因型分布处于极端状态,91.7%人为同一种类型,使观察VDR基因型与骨量的关系受到限制。美国Riggs的研究曾显示高股骨颈BMD与bb基因型有关^[12]。本研究确实发现bb型VDR基因青年妇女股骨颈BMC也高,但是我们认为需要更大的样品量或更多的研究来验

证这一现象。除股骨颈外,没有发现其他部位BMC与VDR基因型有关系。

本研究首次报道了中国沈阳人VDR基因型分布,其分布完全不同于其他国家人群。是否VDR基因与骨量以及与骨质疏松症的发生有联系,需要进一步的研究证实。

参考文献

- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 1994, 367: 384.
- Selman E, Hopper JL, Bach LA, et al. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Eng J Med*, 1994, 330: 754.
- 闫丽娅,周波,侯菊情,等. 中国沈阳髋部骨折的流行病学研究. *中国骨质疏松杂志*, 1996, 2: 69.
- Lau EMC. The epidemiology of hip fracture in Asia; an Update. *Osteoporosis Int*, 1996, Suppl. 3: S19-S23.
- Garcena P, Borel O, Sornay-Rendu E, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Min Res*, 1997, 10: 1283.
- Stan B, Prentice A, Yan L, et al. Differences in vitamin D receptor genotype and geographical variation in osteoporosis. *The Lancet*, 1996, 348: 136.
- Tokita A, Marumoto H, Morrison NA, et al. Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in premenopausal Japanese women. *J Bone Min Res*, 1996, 11: 1013.
- Eisman JA. Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis, an affirmative view. *J Bone Min Res*, 1995, 10: 1289.
- Riggs BL, Nguyen TV, Melton LJ III, et al. The contribution of vitamin D receptor gene alleles to determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Min Res*, 1995, 10: 991.
- Garcena P, Borel O, Sornay-Rendu E, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss, and bone mass in postmenopausal women; The OFELY study. *J Bone Min Res*, 1996, 11: 827.

(上接第30页)

才加尼尔雌醇,可延缓激素应用,减少其不良反应。

参考文献

- 刘忠厚主编. 骨质疏松研究与防治文集. 北京, 化学工业出版社, 1994, 164.

- 冷伟. 口服钙剂现状. *中国药事*, 1995, 9(1): 13.
- 孟迅吾. 原发性骨质疏松症. *中华内分泌代谢杂志*, 1992, 8(1): 48.
- Christophe Maillard, Pritein S, et al. A vitamin K-dependent protein is a bone matrix component synthesized and secreted by osteoblasts. *Endocrinology*, 1992, 130(3): 1599.
- 卜大中, 等. 血清骨钙素放射免疫分析的临床初步应用. *中华内分泌代谢杂志*, 1992, 8(1): 5.