

绝经后妇女血清基质金属蛋白酶-9和基质金属蛋白酶抑制因子-1与骨密度的关系

秦健 杨乃龙

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2008)04-0245-04

摘要:目的 探讨绝经后妇女血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)与骨密度(BMD)之间的关系。通过观察绝经后妇女不同骨密度条件下MMP-9、TIMP-1浓度的变化,探讨两者在骨质疏松症(OP)中的作用,为临床OP诊断与干预治疗提供依据。方法 选择绝经后妇女80例。采用Challenge双能X线骨密度仪(DXA)测量腰椎(L₂-L₄)侧位和左侧髋部(股骨颈、大转子、Ward三角区)6个骨骼区域的骨密度(BMD)。分为正常对照组(骨密度正常组,21例)、低骨量组(20例)、骨质疏松组(23例)和严重骨质疏松组(骨质疏松骨折组,16例),对各组进行身高、体重等常规检查并用酶联免疫吸附试验(ELISA法)测定各组血清MMP-9和TIMP-1的浓度。结果 绝经后女性血清MMP-9水平随骨密度的降低呈现升高趋势,以骨质疏松骨折组为著,低骨量组、骨质疏松组TIMP-1水平与对照组比较没有统计学意义,正常对照组、低骨量组、骨质疏松组MMP-9与TIMP-1的比率依次升高,致使MMP-9与TIMP-1的比率失调。结论 绝经后妇女血清MMP-9水平升高及MMP-9与TIMP-1的比率失调可能为绝经后骨质疏松症发生的重要影响因素。

关键词: 基质金属蛋白酶-9; 基质金属蛋白酶抑制因子-1; 双能X线骨密度仪; 骨密度; 骨质疏松症; 绝经后

Relationship between serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and bone mineral density in postmenopausal women. Qin Jian, Yang Nailong. The 8th of Qingdao people's hospital, Qingdao, Shandong 266100, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between matrix metalloproteinase-9(MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIMP-1) and bone mineral density(BMD) in postmenopausal women. By comparing the serum MMP-9 and TIMP-1 in different BMD conditions of postmenopausal women, to find out the function and variation of both in osteoporosis(OP) and to provide the data in the clinical diagnosis and treatment of OP. **Methods** Dual energy x-ray absorptiometry(DXA) was used to measure BMD of six skeletal regions of lumbar spine(L₂-L₄) and the left hip department(femoral neck, Ward's triangle and greater trochanter). 80 postmenopausal women were divided into normal BMD group(n=21), low BMD group(n=20), osteoporosis group(n=23) and serious osteoporosis group(osteoporosis bone fracture group, n=16). Each group was carried out the routine inspection such as height and weight, and measured serum MMP-9 and TIMP-1 by ELISA. **Results** With the decreasing of BMD, the serum level of MMP-9 in postmenopausal women had an increased tendency. It was notable in osteoporosis bone fracture group; There was no statistical significance in serum density of TIMP-1 between low bone quantity group, osteoporosis group and normal comparing group; The ratio of serum MMP-9 and TIMP-1 of postmenopausal women was higher in three groups in turn, from the normal group to osteoporosis group. It causes the ratio imbalance between MMP-9 and TIMP-1. **Conclusion** The high level of MMP-9 and the ratio imbalance with the TIMP-1 could be an important factor for postmenopausal osteoporosis.

Key words: Matrix metalloproteinase-9(MMP-9); Tissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIMP-1); Dual energy

作者单位: 266100 青岛, 青岛大学医学院硕士研究生, 青岛市第八人民医院内分泌科(秦健); 青岛大学医学院附属医院(杨乃龙)

通讯作者: 杨乃龙, Email: nailongy@163.com

X-ray absorptiometry; Bone mineral density; Osteoporosis; Post-menopause

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal osteoporosis, PMOP)即 I 型骨质疏松症是老年女性的一种常见病,随着人们寿命的延长,社会的老龄化,其发生率逐渐上升^[1]。近年来,发现一些新的耦联信号物质,如血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)与 PMOP 发病关系密切^[2],为探索两者在 PMOP 与骨密度(BMD)之间的关系,我们对绝经后骨质疏松妇女血清 MMP-9、TIMP-1 水平进行了测定,旨在为临床 OP 诊断与干预治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 对象

根据所测骨密度值选取青岛地区 80 名 45~75 岁的绝经后妇女,其中绝经后正常组 21 例,低骨量组 20 例,骨质疏松组 23 例,骨质疏松骨折组 16 例。停经 6 个月以上判断为绝经,平均年龄(65±9)岁,体重指数(23±1.3) kg/m²,绝经时间(17±8)年,身高(159±3) cm,体重(60±4) kg。详细询问现病史、过去史、婚育史、月经史、家族史等,并进行身高、体重、血压、脉搏等检查。患有影响骨代谢的内分泌疾病(糖尿病、甲状腺和甲状旁腺功能改变等)、慢性肝肾疾病、骨关节病、近期有骨折史等及服用影响骨代谢药物者,患有影响血清 MMP-9 和 TIMP-1 的类风湿性关节炎、肿瘤、肺纤维化疾病、肝纤维化疾病、心肌梗塞者已被排除。

1.2 骨密度测定

采用法国 Challenge 双能 X 线骨密度仪(DXA),同时测量仰卧侧位腰椎 2 至 4 椎体 BMD(g/cm²)、左侧髌部股骨颈、大转子、Ward 三角区 BMD(g/cm²)。该仪器的上述各骨骼区域 BMD 的精密度变异系数(CV)的平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)为(0.33%±0.4%) (0.41~1.91),95%可信区间(95% CI)为 0.6%~1.2%,其中腰椎正位 BMD 的 CV 值最小(0.42%)和侧位腰椎中间区体积 BMD 的 CV 值最大(1.94%)。峰值骨密度(PBMD)采用青岛地区青岛大学医学院附属医院建立的骨密度数据库作为标准^[3,4],按照 WHO 推荐的标准,受试者 BMD 与参考数据库比较:(1)DXA BMD 值不低于同性别 PBMD 平均值的 1 个标准差(SD),即 T 分 ≥ -1 SD 为正常。(2)DXA BMD 值介于同性别 PBMD 平均值 -1 个 SD ~ -2.5 个 SD 之间,即 -2.5 SD < T 分 < -1 SD 为骨量减

少。(3)DXA BMD 值低于同性别 PBMD 平均值 2.5s ($T \leq -2.5s$)诊断骨质疏松。(4)DXA BMD 值低于同性别 PBMD 平均值 -2.5 个 SD,即 T 分 ≤ -2.5 SD,并有脆性骨折为严重骨质疏松^[5]。

1.3 检查方法

根据所测骨密度将绝经后妇女分为正常对照组(骨密度正常组)、低骨量组、骨质疏松组和骨质疏松骨折组,同时测量身高、体重,并通过公式计算体重指数(BMI)=[体重(kg)/身高(m)²]

1.4 血清中 MMP-9 和 TIMP-1 的检测

应用酶联免疫吸附法(ELISA)定量测定绝经后妇女血清 MMP-9 和 TIMP-1 的水平(美国 BIO-TEK 公司全自动酶标仪),MMP-9 和 TIMP-1 采用上海雄森科技实业有限公司提供进口分装试剂,全部测定过程由专人严格按照试剂说明书操作。

1.5 标本采集

禁食 12 小时,清晨空腹,坐式采取静脉血。离心获取血清。

1.6 统计学处理

所有资料用 SPSS 11.0 软件包进行统计分析。结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用方差分析,两均数比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 绝经后妇女各组年龄、身高、体重、BMI 及绝经时间的水平

低骨量组、骨质疏松组及骨质疏松骨折组与对照组两两比较,年龄、身高、体重、BMI 及绝经时间差异均未见统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 绝经后妇女各组骨密度测量结果

低骨量组、骨质疏松组及骨质疏松骨折组与对照组比较各个检查部位差异均有统计学意义($P < 0.05/P < 0.01$)。见表 2。

2.3 绝经后妇女各组 MMP-9 及 TIMP-1 的水平比较

血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)低骨量组、骨质疏松组及骨质疏松骨折组与对照组两两比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),骨质疏松组、骨质疏松骨折组与低骨量组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);而基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)低骨量组、骨质疏松组与对照组比较及骨质疏松组与低骨量组比较差异未见统计学意义($P > 0.05$),骨质疏松骨折组与对照组及与低骨量组比较差异有统计

学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); MMP-9/TIMP-1 在正常对照组、低骨量组、骨质疏松组依次升高, 骨质疏松组与正常对照组及与低骨量组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3、表 4。

表 1 绝经后妇女各组年龄、身高、体重、BMI 及绝经时间的水平比较

项目	正常对照组 (n = 21)	低骨量组 (n = 20)	骨质疏松组 (n = 23)	骨质疏松骨折组 (n = 16)	t ₁	t ₂	t ₃
	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)						
年龄 (a)	65.52 ± 9.42	65.95 ± 9.89	65.61 ± 9.87	70.31 ± 5.79	0.143 [△]	0.031 [△]	1.789 [△]
身高 (cm)	159.7 ± 2.94	160.6 ± 2.58	159.3 ± 3.56	159.9 ± 2.54	1.044 [△]	0.408 [△]	0.222 [△]
体重 (kg)	60.95 ± 4.30	60.3 ± 4.44	60.91 ± 3.99	60.75 ± 4.74	0.476 [△]	0.248 [△]	0.295 [△]
BMI (kg/cm ²)	23.88 ± 1.39	23.37 ± 1.23	24.00 ± 1.38	23.73 ± 1.44	1.242 [△]	0.287 [△]	0.321 [△]
绝经时间 (y)	16.90 ± 8.20	17.65 ± 8.99	17.78 ± 9.34	18.94 ± 5.42	0.279 [△]	0.331 [△]	0.861 [△]

注: t₁、t₂、t₃ 分别表示低骨量组、骨质疏松组及骨质疏松骨折组与对照组比较的 t 值[△] $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 绝经后妇女各组骨密度测量结果 (g/cm²)

部位	正常对照组 (n = 21)	低骨量组 (n = 20)	骨质疏松组 (n = 23)	骨质疏松骨折组 (n = 16)	t ₁	t ₂	t ₃
	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)						
L ₂	0.945 ± 0.030	0.777 ± 0.064	0.732 ± 0.052	0.669 ± 0.048	10.85**	16.38**	21.23**
L ₃	1.051 ± 0.020	0.865 ± 0.070	0.848 ± 0.032	0.771 ± 0.087	11.63**	25.38**	14.0**
L ₄	1.024 ± 0.035	0.892 ± 0.074	0.784 ± 0.007	0.767 ± 0.104	7.33**	34.29**	10.71**
股骨颈	0.920 ± 0.103	0.847 ± 0.090	0.664 ± 0.010	0.651 ± 0.018	2.121*	11.64**	10.35**
大转子	0.793 ± 0.135	0.699 ± 0.118	0.581 ± 0.015	0.579 ± 0.012	2.377*	7.57**	6.29**
Ward 三角	0.827 ± 0.096	0.767 ± 0.085	0.515 ± 0.013	0.520 ± 0.005	2.121*	15.6**	12.79**

注: t₁、t₂、t₃ 表示低骨量组、骨质疏松组及骨质疏松骨折组与对照组比较的 t 值[△] $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 绝经后妇女各组 MMP-9 及 TIMP-1 的水平比较

项目	正常对照组 (n = 21)	低骨量组 (n = 20)	骨质疏松组 (n = 23)	骨质疏松骨折组 (n = 16)	t ₁	t ₂	t ₃
	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)						
MMP-9 (μg/L)	32.89 ± 15.84	47.30 ± 15.26	76.13 ± 25.72	90.49 ± 51.48	2.966**	6.778**	4.323**
TIMP-1 (μg/L)	176.4 ± 56.11	195.5 ± 48.14	207.5 ± 62.28	246.1 ± 72.20	1.172 [△]	1.745 [△]	3.196**
MMP-9/TIMP-1	0.204 ± 0.115	0.260 ± 0.114	0.402 ± 0.177	0.393 ± 0.227	1.565 [△]	4.352**	3.308**

注: t₁ 表示低骨量组与对照组比较的 t 值, t₂ 表示骨质疏松组与对照组比较的 t 值, t₃ 表示骨质疏松骨折组与对照组比较的 t 值[△] $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 4 绝经后妇女各组 MMP-9 及 TIMP-1 的水平比较

项目	低骨量组 (n = 20)	骨质疏松组 (n = 23)	骨质疏松骨折组 (n = 16)	t ₁	t ₂	t ₃
	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)	$\bar{x} \pm s$ (g/cm ²)			
MMP-9 (μg/L)	47.30 ± 15.26	76.13 ± 25.72	90.49 ± 51.48	4.536**	3.244**	1.30 [△]
TIMP-1 (μg/L)	195.5 ± 48.14	207.5 ± 62.28	246.1 ± 72.20	0.714 [△]	2.408*	1.734 [△]
MMP-9/TIMP-1	0.260 ± 0.114	0.402 ± 0.177	0.393 ± 0.227	3.074**	2.29*	0.139 [△]

注: t₁ 表示骨质疏松组与低骨量组比较的 t 值, t₂ 表示骨质疏松骨折组与低骨量组比较的 t 值, t₃ 表示骨质疏松骨折组与骨质疏松组比较的 t 值[△] $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

基质金属蛋白酶 (matrix metalloprotein, MMP) 是一族锌离子依赖性内肽酶, 广泛存在于各种结缔组织中^[6], 其中 MMP-9 是 MMP 基因家族中的一员, 在破骨细胞中呈可特异表达^[7], 可降解细胞外基质, 在破骨性骨吸收中发挥着重要作用。有研究表明雌激素可明显下调 MMP-9 的表达水平, 杨学辉等^[7]通过研究认为绝经后 MMP-9 活性升高, 过度降解骨有基质, 对绝经后骨质疏松的形成有重要作用。

基质金属蛋白酶抑制因子-1 (TIMP-1) 是 MMP 的特异性抑制因子, 由成骨细胞分泌, 可与 MMP-9

结合成 1:1 化合物, 还能以非共价形式与明胶酶原、MMP 形成三联复合体, 从而不可逆地抑制 MMP-9 的活性^[8,9]。TIMP 的下调成为细胞外基质降解的重要因素。

本研究通过检测比较绝经后骨质疏松骨折组、骨质疏松组、低骨量组与正常对照组血清 MMP-9 发现, 绝经后妇女血清 MMP-9 水平随骨密度降低呈现升高趋势, 尤其是骨质疏松骨折组 MMP-9 水平明显升高, 说明 MMP-9 与 OP 有关联, MMP-9 是影响 OP 的一个因素, 提示 MMP-9 表达水平与骨吸收活性相一致。

血清 TIMP-1 水平在低骨量组、骨质疏松组与正

常对照组比较未见统计学意义,即与骨密度无明显关联,与廖二元等^[9,10]的研究结果一致,提示 TIMP-1 本身并不参与 OP 的发生发展,但骨质疏松严重组与正常对照组和低骨量组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),这与骨质疏松骨折后成骨细胞活性增强,骨重建增加是一致的。

骨质疏松骨折组、骨质疏松组、低骨量组与正常对照组两两比较,年龄、身高、体重、BMI 及绝经时间差异均未见统计学意义,说明各组间具有可比性。

破骨细胞表达的 MMP-9 促进骨吸收, Hill 等^[6]发现 TIMP 可阻止骨吸收。可见 MMP/TIMP 在破骨细胞迁移和骨吸收过程中起重要作用。MMP-9/TIMP-1 在正常对照组、骨量减低组及骨质疏松组依次升高,这是因为破骨细胞分泌的 MMP-9 增多,活性增强;同时成骨细胞分泌的 TIMP-1 没有相应增加,致使 MMP-9 与 TIMP-1 的比率失调,反映女性在绝经后,由于内源性雌激素分泌减少,骨吸收与骨形成之间的耦联出现缺陷,破骨细胞活性增强,与此同时成骨细胞活性相对减弱,骨形成速度减慢,出现不可逆的骨丢失,从而造成骨质疏松;可见 MMP-9/TIMP-1 失调可能为绝经后骨质疏松发生的一个重要原因之一。

骨质疏松症的定义^[11]是 1993 年香港骨矿会议确定的,国际上也一直通用(即以骨量减少、骨显微结构退化为特征,骨强度减低,易于骨折)。此后,在 2000 年美国国立公共卫生研究所(NIH)召开的骨矿会议上,开始有了很大的变化^[12]。认为骨质疏松症是指因为骨强度的问题而引起骨折增加的骨骼疾病。骨强度是由骨密度和骨质量综合决定的。骨密度是以单位面积或单位体积的骨量来表示的,骨质量是由骨的显微结构、骨代谢转换、微损伤的蓄积、矿化的程度以及骨胶原等骨基质的特性决定的。骨代谢标志物的出现深化了骨质量的问题。骨代谢标志物更强调的是评估骨质量以及预测骨折率的手段。近年来,发现基质金属蛋白酶与骨质疏松的发生发展有重要的关系,本研究亦发现破骨细胞分泌的 MMP-9 与绝经后骨质疏松的关系密切,而 BMD 预测骨折有其局限性,因此, MMP-9 联合 BMD 对评

价骨质疏松、预测骨折有着很大的使用价值。当然,由于骨折后骨痂形成影响 BMD,药物的干预以及 MMP-9 及 TIMP-1 试剂盒本身和方法本身等种种因素,可能对所做的结果也会产生一定的影响。

【参 考 文 献】

- [1] 杨成宇,刘忠厚.生化标志物在骨质疏松诊断、骨折预测和疗效观察中的应用.中国骨质疏松杂志,2003,9(4):373.
- [2] Okada Y, Naka K, Kawamura K, et al. Localization of matrix metalloproteinase-9 in osteoclasts: implication for bone resorption. Lab Int, 1995, 72: 311-315.
- [3] 杨乃龙,阎胜利,曲宁,等.青岛地区成年女性多部位骨密度数据库的建立及骨折风险预测.中华内分泌代谢杂志,2006,22(3):209-212.
- [4] 杨乃龙,曲宁,王军,等.青岛地区成年女性多部位骨密度数据库的建立.山东医药,2005,45(25):12-13.
- [5] Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis. J Bone Miner Res, 1994, 9: 1137-1141.
- [6] Hill PA, Murphy G, Docherty AJ, et al. The effect of selective inhibitors of matrix metalloproteinases (MMPs) on bone resorption and the identification of MMPs and TIMP-1 in isolated osteoclasts. J Cell Sci, 1994, 107(1):3055-3064.
- [7] 杨学辉,李恩,佟晓旭.雌激素对去卵巢大鼠 I 型胶原表达及基质金属蛋白酶活性的影响.生物化学与生物物理进展,2001,28(4):519-522.
- [8] Harris ST, Watts NB, Jackson RD, et al. Four-year study of intermittent cyclic etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis: three year of blinded therapy followed by one year of open therapy. Am J Med, 1993, 95: 557-567.
- [9] 华坤,张秀云,李广生.氟化物对培养的破骨细胞基质金属蛋白酶-9 的影响.中国骨质疏松杂志,2003,9(2):114-116.
- [10] 周轶,高建军,金慰芳,等.骨质疏松动物实验中的骨物理密度检测.中国骨质疏松杂志,2003,9(1):4-5.
- [11] 周丽珍,向青,刘忠厚.合理使用骨质疏松症治疗的骨代谢标志物指南(2004年版).中国骨质疏松杂志,2004,10(4):397-404.
- [12] NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. JAMA 2002, 285: 785-795.
- [13] 刘忠厚,杨定焯,朱汉民,等.中国人骨质疏松症建议诊断标准.中国骨质疏松杂志,2000,6(1):1-3.
- [14] 区品中.广州地区中老年人骨量减少及骨质疏松患病率的调查.中国骨质疏松杂志,2002,8(4):314-318.

(收稿日期:2007-09-19)