

绝经后妇女血清基质金属蛋白酶-2、-9与骨转换生化指标及骨密度的关系

秦健 王志辉 毕仕强

中图分类号: R329.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)04-0292-04

摘要:目的 探讨绝经后妇女血清成骨细胞分泌的基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和破骨细胞分泌的基质金属蛋白酶-9(MMP-9)与骨转换生化指标及骨密度(BMD)之间的关系。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)测位和左侧髋部(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),用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定各组血清MMP-2、MMP-9、血清骨碱性磷酸酶(BAP)、血清骨钙素(OC)和血清I型胶原氨基末端肽(NTx)。结果 ①绝经后女性各组MMP-2、MMP-9与血清BAP、OC、NTx的变化水平相一致。②绝经后女性血清MMP-2及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。结论 血清MMP-2、MMP-9与骨转换生化指标相关联。血清MMP-2及MMP-9水平升高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-2; 基质金属蛋白酶-9; 骨转换生化指标; 骨密度; 骨质疏松症; 绝经后

Relationship between serum matrix metalloproteinase-2, serum matrix metalloproteinase-9, bone biochemical markers and bone mineral density in postmenopausal women QIN Jian, WANG Zhihui, BI Shiqiang. The 8th of Qingdao People's Hospital, Qingdao 266100, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), bone biochemical markers and bone mineral density (BMD) in postmenopausal women. **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 measured serum MMP-2, MMP-9, bone alkaline phosphatase (BAP), osteocalcin (OC), cross-linked N-telopeptide of collagen type I (NTx) by ELISA. **Results** (1) Each group MMP-2 and MMP-9 have consistent appearance with the change level of serum BAP, OC and NTx in postmenopausal women. (2) With the decrease of BMD, the serum level of MMP-2 and MMP-9 in postmenopausal women had a tendency of increase. It was notable in osteoporosis bone fracture group. **Conclusion** Circulating MMP-2, MMP-9 and bone biochemical markers are related and they may increase with the increase in bone-turnover. The high level of MMP-2 and MMP-9 could be an important factor for postmenopausal osteoporosis.

Key words: Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2); Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9); Bone biochemical markers; Bone mineral density; Osteoporosis; Post-menopause

绝经后骨质疏松症(Postmenopausal osteoporosis, PMOP)属高代谢转换型,由于女性绝经后雌激素水平的急剧下降,导致骨转换增加,骨吸收和骨形成均

增加,前者大于后者,加速骨丢失。骨代谢标志物分为骨形成标志物和骨吸收标志物。随着对这些标志物认识的不断深入,骨转换生化标志物可作为骨密度测定的补充手段,更多的应用于评估骨质量、预测骨折率,以及评价骨质疏松症治疗效果^[1]。基质金属蛋白酶(MMPs)是参与细胞外基质代谢的一类重要

的蛋白分解酶^[2,3]。本研究拟探讨绝经后女性血清 MMP-2、MMP-9 与骨转换生化指标和骨密度之间的关系。

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 kg/m² ± 1.3 kg/m² ,绝经时间 (17 ± 8)年 ,身高 (159 ± 3) cm ,体重 60 kg ± 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 ,骨关节病以及服用影响骨代谢药物者 ,患有影响血清 MMP-2 和 MMP-9 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) ,左侧髋部股骨颈、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%)。

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 ($\bar{x} \pm s$)(g/cm²)

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

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-2、MMP-9、BAP、OC、NTx 水平的比较

血清 MMP-2 骨质疏松组、骨质疏松骨折组与对

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^[4,5] ,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 ≥ - 1SD 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 - 2.5SD < T 分 < - 1SD 为骨量减少。③ DXA BMD 值低于同性别 PBMD 平均值 2.5 (T ≤ - 2.5s)诊断为骨质疏松。④ DXA BMD 值低于同性别 PBMD 平均值 - 2.5 个 SD ,即 T 分 ≤ - 2.5SD ,并有脆性骨折为严重骨质疏松^[5]。

1.3 检测方法

留取空腹静脉血 ,分离血清标本后置于 - 70℃ 冰箱保存 ,统一用 ELISA 方法检测 (美国 BIO-TEK 公司全自动酶标仪)。MMP-2、MMP-9、BAP、OC、NTx 均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。

1.4 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。

照组两两比较及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 , P < 0.05) ;血清 MMP-9 骨量减低 3 组与对照组两两比较及骨质疏松组、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) ;血清 BAP 骨量减低 3 组与对照组两两比较及骨质疏松骨折组与低骨量组和骨质疏松骨折组与骨质疏松组比较差异有统计学意义 (P < 0.01 ,

$P < 0.05$) ;血清 OC 骨质疏松组、骨质疏松骨折组与对照组及与低骨量组两两比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) ;血清 NTx 骨质疏松组、骨质疏松骨折组与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) ,见表 3、表 4。

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

注 :*t*₁ *t*₂ *t*₃ 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-2、MMP-9、BAP、OC、NTx 水平的比较($\bar{x} \pm s$) g/cm ²)					
组别(<i>n</i>)	MMP-2(μg/L)	MMP-9(μg/L)	BAP(U/L)	OC(μg/L)	NTx(μmol BCE/L)
正常对照组(<i>n</i> = 21)	1230.5 ± 265.6	32.89 ± 15.84	29.8 ± 10.2	9.1 ± 3.8	17.2 ± 8.1
低骨量组(<i>n</i> = 20)	1312.7 ± 242.4	47.30 ± 15.26	37.3 ± 12.6	9.8 ± 4.1	19.5 ± 8.9
骨质疏松组(<i>n</i> = 23)	1469.5 ± 282.4	76.13 ± 25.72	40.5 ± 13.8	13.3 ± 5.6	24.9 ± 11.7
骨质疏松骨折组	1552.3 ± 290.9	90.49 ± 51.48	49.9 ± 14.2	16.5 ± 6.6	26.6 ± 12.5
<i>t</i> ₁	1.034 [△]	2.966**	2.10*	0.567 [△]	0.866 [△]
<i>t</i> ₂	2.884**	6.778**	2.901**	2.883**	2.514*
<i>t</i> ₃	3.504**	4.323**	5.015**	4.298**	2.772**

注 :*t*₁ 表示低骨量组与对照组比较的 *t* 值 ,*t*₂ 表示骨质疏松组与对照组比较的 *t* 值 ,*t*₃ 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-2、MMP-9、BAP、OC、NTx 水平的两两比较($\bar{x} \pm s$) g/cm ²)					
组别(<i>n</i>)	MMP-2(μg/L)	MMP-9(μg/L)	BAP(U/L)	OC(μg/L)	NTx(μmol BCE/L)
低骨量组(<i>n</i> = 20)	1312.7 ± 242.4	47.297 ± 15.262	37.3 ± 12.6	9.8 ± 4.1	19.5 ± 8.9
骨质疏松组(<i>n</i> = 23)	1469.5 ± 282.4	76.132 ± 25.718	40.5 ± 13.8	13.3 ± 5.6	24.9 ± 11.7
骨质疏松骨折组(<i>n</i> = 16)	1552.3 ± 290.9	90.490 ± 51.475	49.9 ± 14.2	16.5 ± 6.6	26.6 ± 12.5
<i>t</i> ₁	1.938 [△]	4.536**	0.789 [△]	2.307*	1.683 [△]
<i>t</i> ₂	2.602*	3.244**	2.818**	3.734**	1.990 [△]
<i>t</i> ₃	0.90 [△]	1.30 [△]	2.068*	1.631 [△]	0.434 [△]

注 :*t*₁ 表示骨质疏松组与低骨量组比较的 *t* 值 ,*t*₂ 表示骨质疏松骨折组与低骨量组比较的 *t* 值 ,*t*₃ 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 metalloproteinase , MMPs) 是一族锌离子依赖性内肽酶 , 广泛存在于各种结缔组织中^[6,7] ,MMP-2、MMP-9 属 IV 型胶原酶。成骨细胞可分泌大量 MMP-2 ,MMP-2 代表成熟成骨细胞活性。MMP-9 是破骨细胞的关键酶 ,代表破骨细胞的活性 ,在破骨细胞中呈特异表达^[8] ,可降解细胞外基质 ,在破骨性骨吸收中发挥着重要作用。

绝经后由于雌激素水平的急剧下降 ,骨转换增加 ,骨吸收和骨形成均增加。成骨细胞分泌的 MMP-2 变化可反映骨代谢过程 ,成骨细胞分泌的 MMP-2 释放进入血液循环 ,血清 MMP-2 水平随着骨转换的增快而增加^[9]。MMP-9 是一种重要的反映骨吸收和骨重建的关键酶^[10]。有学者报道 ,MMP-9 表

达水平可随骨吸收活性的不同而改变。杨学辉等^[8]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。

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-2、MMP-9 发现 ,绝经后妇女血清 MMP-2 及 MMP-9 水平均随骨密度降低呈现升高趋势 ,尤其是骨质疏松骨折组升高明显 ,说明 MMP-2、MMP-9 与骨质疏松症有关联 ,MMP-2、MMP-9 均是影响骨质疏松症的因素 ,提示 MMP-2、MMP-9 表达水平与骨形成和骨吸收活性相一致 ,即与骨转换状况一致。

骨组织表面覆盖一层成骨细胞和未矿化的 I 型胶原屏障 ,阻止破骨细胞与矿化骨基质接触 ,当成骨细胞受到促骨吸收因子的刺激后 ,分泌 MMP-2 以降解除成骨细胞下的 I 型胶原 ,从而激活破骨细胞 ,启动

骨吸收^[9]。因此在骨代谢中,首先由 MMP-2 启动骨转换,随后激活 MMP-9,在 MMP-2 及 MMP-9 的作用下水解部分降解的 I 型胶原及其他多种骨基质蛋白,骨盐因失去依附而丢失,发生骨质疏松。因此,测定 MMP-2 和 MMP-9 活性可作为判断骨转换的指标。

目前研究发现 MMP-2 是分布最广的 MMP,其启动子元件与其他 MMPs 不同,具有构成性表达的特点,认为 MMP-2 是一种看家基因,主要作用可能是降解损伤或变性胶原以保护机体。体外研究表明 MMP-2 能降解天然 I 型胶原、IV、V、VII、X、XI 型胶原、变性明胶、纤黏蛋白、蛋白多糖等细胞外基质^[11]。MMP-9 主要降解 IV、V、X、XI 型胶原、变性明胶、整合素蛋白、蛋白多糖等^[11,12]。

本研究发现,绝经后妇女血清 MMP-2、MMP-9 与骨转换生化指标 BAP、OC、NTx 在骨密度减低各组的变化水平相一致,均随骨密度的降低呈现升高趋势,表明血清 MMP-2、MMP-9 与骨转换生化指标相关联,从而进一步说明 MMP-2、MMP-9 与骨转换状况一致。

本研究探讨 MMP-2、MMP-9 与骨代谢指标及骨密度之间的关系,结果表明 MMP-2、MMP-9 与 BAP、OC、NTx 的变化相一致,显示 MMP-2、MMP-9 与骨代谢相关。BAP、OC、NTx 等指标特异性、敏感性较高。本研究显示 MMP-2、MMP-9 与骨代谢指标相关,可为新的反映骨代谢转换指标。

【参 考 文 献】

[1] Wei YN, Miao YD, Liu ZH, et al. Clinical progress in biochemical markers for bone metabolism. Chinese Journal of Osteoporosis, 2007, 13(7): 455-468 (in Chinese).

[2] Luo XH, Liao EY, Zhou HD, et al. The effects of 17 β -estradiol on the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in human osteoblast-like cells. Chinese

journal of internal medicine, 2000, 249(39): 243-246 (in Chinese).

- [3] Rifas L, Fausto A, Scott MJ, et al. Expression of metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human osteoblast-like cells differentiation is associated with repression of metalloproteinase biosynthesis. Endocrinology, 1994, 134: 213-221.
- [4] Yang NL, Yan SL, Qu N, et al. Establishment of bone mineral density reference databases of multiple skeletal regions in adult women in Qingdao and its prediction for fracture risk. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2006, 22(3): 209-212 (in Chinese).
- [5] Yang NL, Qu N, Wang J, et al. Establishment of the bone mineral density referencedatabases of multiple skeletal regions in women in Qingdao area. Shandong Medical Journal, 2005, 45(25): 12-13 (in Chinese).
- [6] Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis. J Bone Miner Res, 1994, 9: 1137-1141.
- [7] 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.
- [8] Yang XH, Li E, Tong XX. The effects of estrogen on type I collagen expression and the metalloproteinases activities in ovariectomized rats bone tissue. Progress In Biochemistry and Biophysics, 2001, 28(4): 519-522 (in Chinese).
- [9] Zhang H, Luo XH, Liao EY, et al. Age-related changes serum levels of MMP-1 and MMP-2 in women: their relationship with bone biochemical markers and bone mineral density. Chinese Journal of Internal Medicine, 2006, 45(4): 306-309 (in Chinese).
- [10] Qin J, Yang NL. Relationship between serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and bone mineral density in postmenopausal women. Chinese Journal of Osteoporosis, 2008, 14(4): 245-248 (in Chinese).
- [11] Armes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase type 1 collagen generating the specific 3/4 and 1/4 length fragments. J Biol Chem, 1995, 270(11): 5872-5876.
- [12] Hua K, Zhang XY, Li GS. Effects of fluorides on matrix metalloproteinase-9 in cultivated osteoclasts *in vitro*. Chinese Journal of Osteoporosis, 2003, 9(2): 114-116 (in Chinese).

(收稿日期: 2008-12-24)