

骨转换生化标志物及其应用研究进展

邢学武 综述 向川 卫小春 审校

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)08-0610-08

摘要: 骨重建是一个骨吸收和骨形成的过程, 而该过程中的骨吸收和骨形成分别由破骨细胞和成骨细胞介导。骨转换加速是骨代谢疾病发生的重要原因, 细胞活动耦联的中断伴随骨转换加速过程。在过去几十年中, 一直致力于对可以反映骨转换的生化标志物的研究。大量研究表明, 血清或尿液中的生化标志物与骨丢失率和骨折风险相关, 这对于高风险患者的确定有重要意义。笔者对近年来骨转换生化标志物及其临床应用研究进展进行综述, 特别关注其在药物功效的临床试验和骨量测量的补充这两方面的应用。有针对性地运用生化标志物可以进一步优化高风险患者的确定、药物开发的过程以及骨质疏松症治疗疗效的临床监测。虽然生化标志物有各种各样的变异性, 但必将以其无创性、易重复性和及时性的优点而被广泛运用。

关键词: 骨形成标志物; 骨吸收标志物; 骨密度; 骨质疏松症; 检测及治疗

doi: 10.3969/j.issn.1006-7108.2009.08.016

Biochemical markers of bone turnover and their applications XING Xuewu, XIANG Chuan, WEI Xiaochun.

Department of Orthopaedics, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Bone is a metabolically active tissue that undergoes continuous remodelling by two counter acting processes, namely bone formation and bone resorption. These processes rely on the activity of osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. Acceleration of bone turnover, accompanied with a disruption of the coupling between these cellular activities, plays an established role in the pathogenesis of metabolic bone diseases, such as osteoporosis. In the past few decades, Many research has been working on biochemical markers which may reflect the rate of bone turnover. A large number of studies have shown that serum or urine biochemical markers are related to bone loss and fractures, which is important to identify high-risk patients. The aim of the review is to give an update on biochemical markers of bone turnover and their applications in recent years, with special attention to their applications in clinical trials testing the efficacy of drugs and how they supplement the measurement of bone mass. Targeted use of biochemical markers can be further optimized to identify high-risk patients, the process of drug development and clinical monitoring of the efficacy of osteoporosis treatment. Although biochemical markers have a wide range of variability, They are bound to be used widely because of their advantages of non-invasive, easy repeatability and timeliness.

Key words: Bone formation markers; Bone absorption markers; Bone mineral density; Osteoporosis; Detection and treatment

流行病学调查显示, 绝经后妇女多发生骨质疏松症及相关的脆性骨折。目前, 工业化国家中 60 岁以上女性骨质疏松症的患病率为 40%, 80 岁以上女性为 70%^[1]。随着社会的老齡化, 老年人越来越

多, 而骨量随着年龄的增大而减少, 故患骨质疏松症的人越来越多。骨质疏松症发生是破骨细胞和成骨细胞的平衡失调引起的。绝经后雌激素缺乏导致骨转换加速即骨吸收超过骨形成, 这就导致了负钙平衡以及脱钙^[2]。骨吸收和骨形成的速率可以通过测定血清或尿液中细胞代谢的特有产物而确定^[3]。在过去十年里, 人们已经建立了各种各样可以用于体外和体内研究的免疫法。免疫法的系统验证使其可以用于很多方面, 如协助生物医学研究、了解骨质疏

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371440, 30500515); 山西省自然科学基金资助项目(20041117, 2006021045)

作者单位: 030001 太原, 山西医科大学第二医院骨科, 骨与软组织损伤修复山西重点实验室

通讯作者: 卫小春, Email: weixiaochun06@yahoo.com.cn.

松症的发病机理、提高临床诊断、评价新的治疗方式等。笔者对骨转化生化标志物(Biochemical markers of bone turnover, BTMs)的最新研究进展进行了综述,并讨论其在骨折预测、药物开发及疗效监测等方面的应用。

1 骨的细胞和结构要点

骨主要由 I 型胶原纤维、羟基磷灰石晶体 [$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot (\text{OH})_2$] 和基质组成。按照结构的不同将骨分为皮质骨和小梁骨。皮质骨是由一层厚且致密的钙化组织组成,而小梁骨由薄的小梁构成了强大而柔韧的网状结构。骨保持稳态是其维持强度和耐力的基础。在骨重建过程中,破骨细胞和成骨细胞在基底多细胞单位(BMU)中互连,旧骨退化,被等量新骨取代。妇女在绝经前,成骨细胞和破骨细胞的作用相互平衡,因此骨吸收和骨形成也平衡^[4]。然而绝经后,骨吸收明显快于骨形成,从而导致负钙平衡和骨量丢失,骨量持续丢失导致骨量减少、骨组织微架构改变、骨骼脆性增加、骨折风险增大^[5]。

2 骨转化生化标志物

骨转化生化标志物根据其从 BMU 的起源可分为 3 类:①胶原性骨吸收标志物 破骨细胞降解骨过程中释放的 I 型胶原降解产物。②破骨细胞调节蛋白 调节破骨细胞前体分化和增殖为成熟破骨细胞的蛋白质,参与成骨细胞和破骨细胞之间耦联的蛋白质。③骨形成标志物 成骨细胞的酶活性,骨蛋白和骨形成过程中释放的前胶原片段。

2.1 胶原性骨吸收标志物

2.1.1 I 型胶原交联 C 末端肽 (C-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen, CTX) 来源于 I 型胶原 C-末端的 8-氨基酸片段。CTX 是由组织蛋白酶 K 降解 I 型胶原 C-末端产生的,其释放速率可以有效反映破骨细胞的活性。CTX 的抗原表位包含一个天冬氨酰甘氨酸序列(DG),而 DG 很容易自发异构。因此,新合成的 I 型胶原降解时释放的是 α 链抗原表位,而成熟的 I 型胶原降解时释放的是 β 链抗原表位。已建立的 α/β 比值是测量骨陈旧度的有效指标,该比值越小骨组织越陈旧^[6]。新合成 I 型胶原的吸收率可以用特异的免疫法通过测定尿样中的 αCTX 而确定,而成熟胶原的降解率可以用特异的免疫法通过测定尿样及血样中的 βCTX 而确定。

2.1.2 I 型胶原交联 N 末端肽 (N-terminal

crosslinking telopeptide of type I collagen, NTX) 来自 I 型胶原 N-末端的 8-氨基酸片段。该片段是组织蛋白酶 K 分解 I 型胶原 N-末端产生的,其释放速度也能反映骨吸收的效率。有研究^[7]认为 NTX 是反映骨吸收最敏感的指标。尿样及血样中的 NTX 可以用特异的免疫法测定。

2.1.3 I 型胶原交联羧基末端肽 (C-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen, ICTP) 是位于成熟 I 型胶原 C-末端两条 α -1 链上的一个相对大的疏水的富含苯丙氨酸的吡啶诺林交联^[8]。ICTP 抗原表位临近 CTX,但它是基质金属蛋白酶作用于 I 型胶原后生成的^[9]。组织蛋白酶 K 分解 ICTP 的抗原表位。ICTP 可以在血清中测到。

2.1.4 吡啶酚 (deoxypyridinoline/pyridinolines, DPD/PYD) 是在成熟的 I 型胶原中发现的,其参与了相邻胶原多肽间交叉连接的组建。吡啶交联似乎没有新陈代谢。由于这些交叉连接在纤维生成的后期形成,因此其成为成熟胶原降解的指征^[10]。通过特异性免疫法,吡啶酚可以在血清和尿液中检测到。

2.2 破骨细胞调节蛋白

破骨细胞前体转变为成熟破骨细胞的过程受到破骨细胞调节蛋白的精确调节。破骨细胞调节蛋白包括两类,第一类是反映破骨细胞活性的调节蛋白,包括 RANKL 和 OPG,第二类是反映破骨细胞数量的调节蛋白,包括 TRAcP 和 Cat K。OPG/RANKL/RANK 细胞因子调节系统对破骨细胞生物学是至关重要的。一些研究指出,这个系统的改变与代谢性骨病发生有关。雌激素缺乏时, RANKL 增加且 OPG 水平下降,导致成熟破骨细胞数量和寿命增加^[12]。第一类标志物是比较新的,其在生物医学研究和骨质疏松症治疗的临床试验方面有很大潜力,初步研究表明,它们有助于阐明新药物作用破骨细胞的机理和疗效。

2.2.1 核因子 NF- κ B 配体的受体激活剂 (receptor activator of nuclear factor NF- κ B ligand, RANKL) 是肿瘤坏死因子(TNF)的家族成员之一,它是由成熟的成骨细胞与激活的 T 淋巴细胞共同作用产生的。它可以激活位于破骨细胞前体上的特异性受体 RANK,从而与巨噬细胞集落刺激因子(MCS-F)共同促进破骨细胞的成熟。它是破骨细胞激活、分化及存活的主要调节因子^[13]。RANKL 的表达与血清 17 β -雌二醇的水平呈负相关,而与骨吸收标志呈正相关^[12],可以作为衡量破骨细胞活性的标志。

2.2.2 骨保护素 (Osteoprotegerin, OPG) 是一种可溶

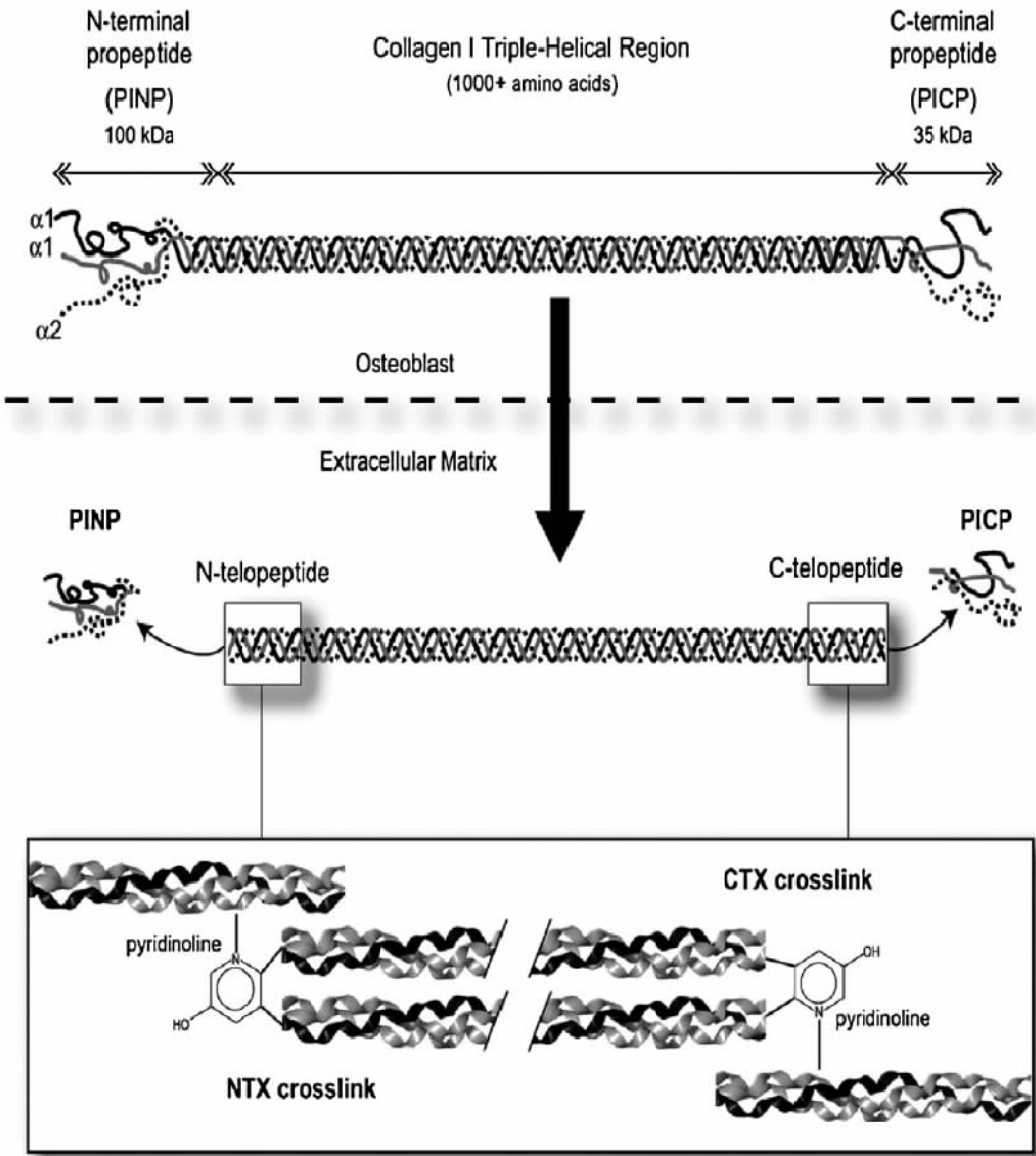


图 1 I 型胶原降解产物中目前常用标志物的分子基础^[11]

性诱饵受体,它可以由多种组织产生,如骨髓、肝、胃、小肠和肺。成骨细胞可以分泌 OPG,OPG 可与 RANKL 竞争性结合,从而阻止 RANK 与 RANKL 结合,抑制破骨细胞活性^[14]。OPG 的量与雌激素水平呈正相关^[15]。

2.2.3 抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase,TRAcP)是成熟破骨细胞、活化巨噬细胞和树突状细胞共同作用产生的一种糖蛋白。TRAcP 的肽链被蛋白酶分解成 5a 和 5b 两个亚型。TRAcP 5b 亚型来源于破骨细胞,可用来反映破骨细胞数量,但不能反映破骨细胞活性,故不能反映骨吸收程度^[16]。血清中可检测到 TRAcP 5b。据报道,健康和

绝经后妇女体内 TRAcP 5b 的量都随其年龄的增大而增加^[17],因此临床上可以用 TRAcP 5b 评价骨质疏松症新疗法的疗效。

2.2.4 组织蛋白酶 K (Cathepsin K, Cat K)为半胱氨酸蛋白酶家族的成员,是由成熟破骨细胞大量合成的^[18]。这种酶在破骨细胞降解 I 型胶原时发挥了关键作用。骨吸收陷窝中骨无机相的溶解是有机相退化的前提条件,而这个过程主要由 Cat K^[19] 参与。分泌到骨陷窝中的 Cat K 降解胶原分子的螺旋区和端肽区。此标志可在血清中检测到。

2.3 骨形成标志物

常用于评价骨形成的标志物有:I 型前胶原 C

末端和 N 末端前肽、骨钙素、骨特异性碱性磷酸酶。

2.3.1 I 型前胶原 C 末端前肽 (C-terminal propeptide of type I procollagen, PICP) 和 I 型前胶原 N 末端前肽 (N-terminal propeptide of type I procollagen, PINP) 都是三聚的球形肽,由新合成的前肽在融入细胞外基质前酶解产生。有研究证明血中 PINP 的水平与骨形成指标直接相关^[20]。PICP 和 PINP 可通过特异检测法在血清或血浆中检测。

2.3.2 骨钙素 (Osteocalcin, OC) 由成骨细胞合成和分泌,是构成骨基质非胶原蛋白的主要成分^[21]。骨钙素与钙有高亲和力,从而把骨钙素肽 (49 氨基酸残基) 变成一个紧凑 α -螺旋结构,其中谷氨酸残基促进骨基质内羟基磷灰石的吸收^[21]。基础和临床研究已显示循环的骨钙素与组织形态测定方法相关^[22]。骨钙素可通过特定免疫法在血浆或血清测定。

2.3.3 骨特异性碱性磷酸酶 (Bone specific alkaline phosphatase, BSAP) 血清碱性磷酸酶是由骨、肝、肠、胎盘和肾等同工酶组成的,所以特异性不强。血清中 ALP 有 50% 来源于骨^[23],其次来源于肝,少部分来源于小肠和胎盘。BSAP 浓度与成骨细胞和成骨细胞前体的活性呈线性关系。在增殖后期 (12 ~ 18 天),骨细胞外基质持续矿化。骨矿化时,所有细胞的碱性磷酸酶 (AP) 免疫组化反应呈阳性,这表明 AP 参与了骨的矿化过程。BSAP 可在血清中检测到。

3 生化标志物的变异性

大多数骨转换生化标志物都有显著的变异性。由此就产生了一个问题: 当一个患者的标志物水平有所改变时,这种改变是治疗引起的,还是标志物固有的变异性引起的。要解释这个问题,就必须清楚各种标志物的变异性。一般情况下,非特异变异包含分析前变异和分析变异。理想的标志物和检测方法应具备以下两个特点 ①良好的分析性能 (即精密密度和准确度); ②最低限度的和可预见的分析前变异。遗憾的是,临床中没有完全符合所有这些标准的检测方法。事实上,现有的方法都存在大量的分析前变异。故在测定生化标志物时要将很多变异因素考虑在内。

有报道称骨吸收的胶原标志物展现出生物节律变化: 上午和下午时为低谷,而夜间和清晨为高峰^[24]。因此,夜间骨吸收的增加值与白天骨吸收的减少值相当。生物节律变化与性别、年龄、绝经状态、运动、视觉及垂体激素分泌无关^[25]。最近有研究表明,骨吸收标志物生物节律变化是食物摄入量不同引起的,可能涉及内源性胰高血糖素肽-2 (GLP-2) 的分泌^[26]。虽然节律变化的原因仍不清楚,但血清钙稳态可能在此过程中起重要作用^[26]。因此,为了准确估计骨吸收标志物,血样和尿样必须在空腹状态和特定时间段采集。

表 1 骨转化生化标志物

标志物	组织来源	标本	测定方法	备注	
胶原性骨吸收标志物	CTX	所有含有 I 型胶原的组织	尿 血清	ELISA RIA	I 型胶原,多数来源于骨,天冬氨酰随着胶原分子的老化发生异构化
	NTX	所有含有 I 型胶原的组织	尿 血清	ELISA CLIA,RIA	I 型胶原,多数来源于骨
	ICTP	骨 皮肤	血清	RIA	I 型胶原,多数来源于骨 ;可能源自新合成的胶原
	DPD/ PYD	骨 牙本质	血清 尿	HELC,ELISA	胶原,骨中浓度很高 ;软骨和皮肤中没有 ;只存在于成熟胶原
破骨细胞调节蛋白	RANKL	骨 血液	血清	Immundiagnostik	成熟的成骨细胞与激活的 T 淋巴细胞共同作用产生的
	OPG	骨 肝 肺等	血清	Immundiagnostik	在 1997 年发现的一种新的 TNF 受体超家族成员,因其具有降低破骨细胞分化的功能又被称为破骨细胞抑制因子
	TRAcP	骨 血液	血浆 血清	比色法 RIA, ELISA	人类组织中有六种同工酶 ;TRAcP 5b 亚型来源于破骨细胞
	Cat K	破骨细胞	血浆 血清	ELISA	半胱氨酸蛋白酶,切断 TRAcP 的环形结构域且激活酶原 ;其测定正被评估
骨形成标志物	PICP	骨 皮肤 软组织	血清	RIA,ELISA	未成熟软骨细胞和成纤维细胞的特异性产物
	PINP	骨 皮肤 软组织	血清	RIA,ELISA	未成熟软骨细胞和成纤维细胞的特异性产物 ;部分加入了骨细胞外基质
	OC	骨 血小板	血清	RIA,ELISA	成骨细胞特异性产物 ;血中有许多免疫反应形式 ;有些可能源于骨吸收
	BSAP	骨	血清	电泳	成骨细胞特异性产物,某些测定方法与肝同工酶有 20% 交叉

注: RIA 放射免疫法, ELISA 酶联免疫法, HELC 高压液相层析法, CLIA 化学发光法

4 生化标志物的应用

4.1 生化标志物在骨质疏松症中的应用

骨质疏松症是一种异质性疾病。因此,患这种疾病人群的骨转换率往往差别很大。虽然大多数横断面研究显示一定比例的绝经后患有骨质疏松症的妇女的骨转换加速,但患病和健康人群通常有广泛的重叠^[27]。这是由于研究对象通常是高度选择性的人群,这可能无法总是代表具有典型临床表现的人群。为避免选择偏差选取大样本数据库来研究,结果表明,没有哪一个骨转换生化指标能充分诊断椎体骨量减少或骨质疏松症^[28]。然而另一个大样本研究表明,根据尿 NTX 水平可以区分出老年人髌部骨密度是正常的、骨量减少还是骨质疏松骨^[29]。然而,这并不适用于年轻男性的脊椎。近来有研究^[30]表明,可以用 OC 和 DPD 来预测哪部分骨量减少的女性可能进展为骨质疏松症。事实上,骨代谢的长期失衡可能导致脆性增加,高转换率可能会持续很长时间,并且骨丢失随着年龄的增长而增加,这些都有助于制定合理的治疗方案。然而,其他因素如年龄、药品、甲状腺功能和骨折本身都可以影响骨代谢,因此需要考虑生化指标,并运用于患者。显然,没有任何骨转换生化指标可以作为诊断骨质疏松症的单一指标。

4.2 生化标志物在评估骨密度及骨丢失中的应用

大多数临床研究显示骨转换指标和骨密度(bone mineral density, BMD)呈负相关。Goemaere 等^[31]对 283 名年龄小于 70 岁的健康男性的研究发现,骨形成标志物(OC、BSAP)和骨吸收标志物(sCTX、uCTX、Dpd)与股骨近端及前臂远端骨密度呈负相关,血清 CTX 与所有部位骨密度显著相关。Lenora 等^[32]对 601 名 75 岁老年女性的前瞻性研究表明,OC、DPD、TRACP5b、CTX 与小腿部位 BMD 存在显著负相关。校正后发现,OC 与髌部、股骨颈 BMD 呈负相关,而 TRACP5b 只与股骨颈 BMD 呈负相关。最近一个对 429 名妇女的 5 年随访研究发现,骨形成标志物(OC、ALP)和骨吸收标志物(钙、羟脯氨酸)与骨密度显著相关^[33],这表明骨转换标志物可能预测骨密度。Christiansen 等^[34]通过随访一群处于绝经后早期的妇女证明,同时检测血清总碱性磷酸酶、OC、尿钙、羟脯氨酸及 DPD 可以预测 60%~70% 的骨丢失。一些前瞻性研究显示骨转换标志物水平和骨丢失率间存在明显的相关性,这个结论是通过 1~13 年系列测量不同骨骼部位的 BMD 而

得到的^[35],这表明骨转换生化标志物可以预测未来的骨丢失。一项前瞻性研究^[36]表明,根据随后 2~12 年里生化标志物的升高水平可鉴定出哪些人群是快速骨丢失者(每年的骨密度损失 > 3%)。尽管骨转换生化标志物可能是骨密度测量的有益补充,但只用这单一指标是不能评估骨密度、骨量丢失或骨折风险的。但也有研究^[37]认为,骨转换标志物的用途是预测腰椎骨丢失和髌部骨密度,而且测量单一指标也有预测价值。

4.3 生化标志物在评估骨折风险中的应用

脆性骨折是骨质疏松症的临床并发症之一。骨密度被广泛用于预测骨折风险,但大约 33%~50% 脆性骨折患者的骨密度值高于骨质疏松症的诊断阈值(T 值小于 -2.5 个 SD)^[38]。有研究表明^[39],骨折的风险也与骨转换相关。Woo 等^[40]是第一个用生化标志物预测老年人骨质疏松性骨折的调查组。他们在对 283 名年龄 ≥ 60 岁的中国老年人的研究中发现,羟脯氨酸可作为预测骨折的指标。该研究的局限是骨折例数太少($n = 7$)。Garnero 等^[10]在 1996 年对骨吸收标志物预测老年妇女髌部骨折的风险预测进行了评估。共有 7598 名 75 岁以上健康女性参与了该研究,其中有 126 名在随访的 22 个月中发生了髌部骨折。随访中比较骨折与非骨折患者尿中 NTx、CTX 和 DPD 的水平。结果显示,骨吸收标记物水平的提高预示了髌部骨折发病率增加。CTX 或 DPD 水平高的妇女髌部骨折风险分别增加了 4.8 或 4.1 倍。Garnero 等^[41]在 1998 年的另一项研究指出,预测老年妇女未来髌部骨折风险时要将尿中 CTX 检查和髌部骨密度测量相结合。另一课题组评估尿 CTX、血清 OC 和 BSAP 在长期预测椎体骨折方面的作用^[42],此研究的对象为 603 名绝经后患骨质疏松症的妇女。研究显示,骨转换标志物的基础值与脊柱骨密度的基础值和随访值呈显著负相关。有人认为,连续两次(间隔 3 个月)测量血清 OC 及尿 CTX 结合骨密度测量有助于确定妇女椎体骨折的风险性。与 3 个月 OC 变化大的妇女比,变化小的妇女在随后的 36 个月里椎体骨折的风险降低了 69%。目前只有少数的研究评估了生化标志物在评估男性骨折风险时的效用。在一个病例对照队列研究中,Meier 等^[43]对 151 名老年男性进行了 6.3 年随访,其中 50 名男性发生低创伤性骨折而其余 100 名没有发生。结果显示,血清 ICTP 是骨折的发生独立危险因素,高 ICTP 人群发生骨折的风险是低 ICTP 的人群的 2.8 倍。综上所述,血清或尿中的骨转换标志

物是预测骨折风险的独立因素^[10]。但是,还不清楚生化标志物能否涵盖骨折的所有危险因素。因此,目前建议在评估骨折风险时应将骨密度测量及生化标志物测量结合进行^[43]。

4.4 生化标志物在监测治疗效果方面的应用

双膦酸盐、雷洛昔芬、雷奈酸锶、雌激素、钙剂、降钙素和特立帕肽都可以不同程度地提高骨密度,减少骨质疏松性骨折的危险。然而,这些抗骨质疏松药物对骨转换率的影响却相差很大。有研究表明,骨密度变化只能解释骨折风险减小的部分原因^[44],据估计骨密度的变化只能解释椎体骨折风险降低的 4%~28%^[45]。骨转换率及其在抗骨吸收治疗后的变化可能会更好预测抗骨质疏松的疗效。已绝经妇女接受 3 年雷洛昔芬治疗后,其初始 6~12 个月骨转换标志物的变化可预测脊椎骨折风险,这表明骨转换标志可作为评估疗效的指标^[46]。随后的两项研究^[47,48]证实了以上结果,同时证明血清 OC 和 PINP 1 年的变化就能够预测的 3 年治疗后的椎体骨折的风险减少。另有两项研究^[49,50]调查了已绝经妇女接受双膦酸盐治疗后骨转换标志和骨折风险的变化。结果表明,接受治疗 3 至 6 个月后 CTX-I 和 NTX-I 的减少与 3 年后发生的椎体/非椎体骨折显著相关^[50]。而骨吸收标志可以解释骨折风险减少 50%~60% 的原因。Bauer 等^[49]报道说,在阿仑膦酸钠治疗的妇女中,骨转换的抑制幅度越大,骨质疏松骨折发生的风险就越低。在他们的研究中,1 年中 BSAP 每降低 1 个标准差,脊柱、非椎体及髌部骨折的风险分别降低了 0.74、0.89 及 0.61。总之,在雷洛昔芬和双膦酸盐治疗后,骨转换的变化与以后骨折风险的降低相关,而且比骨密度变化与骨折风险降低的相关性大得多。以上研究表明,骨转换生化指标是评估相对较短的时间内治疗效果非常有用的工具,而且系列测量骨标志物有助于判断某种抗吸收药物是否对患者有效。

4.5 生化标志物在改善患者依从性方面的应用

依从性是慢性疾病长期治疗过程中的一个重要问题。患者的依从性可能因轻微不便就被破坏,尤其当药物治疗的是慢性无症状疾病如骨质疏松症时。药物每日严格的剂量可能破坏一些患者的依从性,这反过来又阻碍了药物的长期疗效。询问是监督患者依从性最简单经济的方式,但这种方式的有效性并不强。而系列测定骨生化标志物却可以有效的监督患者。在一个对 200 名平均年龄为 63.1 岁健康绝经后妇女的研究中^[14],让不同患者接受不同

剂量伊班膦酸盐从而模拟患者对于口服药物的依从性,然后系列测定其血清 CTX。结果表明,对患者进行 CTX 系列检测就可得知其依从性。测量生化标志物不仅可以让医生知道治疗效果,而且让患者知道坚持长期规律治疗好不好。骨密度测量的低灵敏度使其无法提供这种早期反馈。在初始 3 个月系列测量骨生化标记物是大有好处的,这也被有关研究证实,即头 3 个月由药物引起的骨标志物变化与随后 24~36 个月发生的骨密度变化密切相关^[51]。虽然上述研究表明骨标志物应用于改善患者的依从性是非常合理的,但这需要研究证实。

4.6 生化标志物在药物开发方面的应用

骨质疏松症的诊断与低骨量有着内在的联系,因此只有在干预时监测骨密度的变化才能确定何时终止骨质疏松症的药物治疗。药物的理想剂量是在二期临床建立的。需要强调的是,无论是骨量自然丢失的安慰剂组还是积极接受药物的治疗组,每年骨密度的变化都相对较小。此外,即使是重复测量,骨密度测定的误差也在 1%~2%^[52]。此外,尽管骨密度可以作为观察药物疗效的重要指标,但是 DXA 检查是有限制的。因此在过去 20 年里,更加重视寻求简单而有效的替代指标。由于治疗期间增加的骨密度只能解释部分骨折风险的降低,因而生化标志物在预测骨折风险方面的用途逐渐受到重视^[28]。与成像技术相比,血清或尿液中骨吸收生化标志物的变化明显较大。由于骨吸收生化标志物不受噪声信号干扰且对治疗的反应迅速,故可反映抗吸收或促合成治疗的相对作用,从而确定各种抗骨质疏松药物的最佳剂量。有研究表明^[53],生化标志物 3~6 个月的变化与 2 年以上骨密度变化相关。因此,将生化标志物用于药物的剂量评估,可大大降低二期临床的成本。生化标志物可以进一步协助揭示医疗干预对骨形成和吸收的相对影响,据此可区分候选药物是起抗吸收作用还是起促合成作用。

笔者综述了骨转换生化标志物的研究进展,包括 3 个新标志物 (Cat K、OPG、RANKL)、8 个旧标志物 (CTX、ICTP、NTx、PYR、BSAP、OC、PINP/PICP、TRAcP) 以及其在骨折预测、药物开发及疗效监测等六方面的应用。生化标志物已成为骨有关的生物医学研究的重点。生化标志物的优点在于在其动态性,这使其能够对干预进行早期反馈,而这种反馈与以后的骨量变化及骨折风险密切相关。治疗骨质疏松症药品的开发过程花费很大,整个过程需要经过二期临床阶段(数百人参与)和三期临床阶段(数千

人参与),耗时至少 2 年。生化标志物可以广泛应用于体内和体外实验^[54],从而降低药物开发成本。

应用骨生化标志物前应慎重考虑需要评估哪些代谢活动。笔者综述的标志物都可以测定,但在测定某一特定标志物时要明白其代谢过程。在骨质疏松和其他代谢骨骼疾病的临床和流行病学研究中,骨吸收和骨形成常常是通过测量血清样本进行评估,而血中的标记物的数值不需要肌酐校正。血清 CTX-I 与 PINP 或 OC 的结合测量似乎是一个合理的选择,因为它们反映了基质分子的分解和合成。因此,多项研究都选择测定这些标志物,其中一些研究笔者已经提到。然而在不同的病理生理过程或在用抗吸收/促合成类药物治疗过程中,我们通过结合测量胶原骨吸收标志和非胶原破骨细胞标记物能获得什么优势,还需作进一步研究。生化标志物结合骨密度测量的方案能否成为药物评价的最终方案,这一问题仍在讨论中。如果这个问题的答案是肯定的,我们将降低药物开发的成本,并为骨质疏松症患者疾病的预防和治疗提供更便宜的药品。

[作者简介] 邢学武(1984.6-),男,山西古交人,硕士在读(七年制),研究方向:关节软骨的损伤与修复]

【参 考 文 献】

- [1] Cooper C, Barrett-Connor E (1996) Epidemiology of osteoporosis. Osteoporosis (1996). Proceedings of the 1996 world congress on osteoporosis. Amsterdam, The Netherlands, 18-23 May, 1996. Eds. Papapoulos SE, Lips P, Pols HAP, Johnston CC, Delmas PD. Elsevier, 75-86.
- [2] Horowitz MC, Xi Y, Wilson K, et al. Control of osteoclastogenesis and bone resorption by members of the TNF family of receptors and ligands. Cytokine Growth Factor Rev, 2001, 12: 9-18.
- [3] Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. J Bone Miner Res, 1993, 8(Suppl 2): S549-S555.
- [4] Lindsay R, Hart DM, Forrest C, et al. Prevention of spinal osteoporosis in oophorectomized women. Lancet, 1980, 2: 1151-1154.
- [5] Consensus Development Conference V. Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am J Med, 1993, 90: 646-650.
- [6] Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, et al. Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen. Identification of a beta-isomerized Asp-Gly sequence within the C-terminal telopeptide (alpha1) region. J Biol Chem, 1997, 272: 9755-9763.
- [7] García-Pérez MA, Moreno-Mercer J, Tarín JJ, et al. Similar efficacy of low and standard doses of transdermal estradiol in controlling bone turnover in postmenopausal women. Gynecol Endocrinol, 2006, 22(4): 179-84.
- [8] Risteli L, Elomaa I, Niemi S, et al. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. Clin Chem, 1993, 39: 635-640.
- [9] Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. J Bone Miner Res, 2003, 18: 859-867.
- [10] Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. J Bone Miner Res, 1996, 11: 1531-1538.
- [11] Herrmann M, Seibel M. The amino- and Carboxyterminal Cross-linked telopeptides of collagen type I, NIX-I and CTX-I. Clinica Chimica Acta, 2008, 393: 57-75.
- [12] Hofbauer LC, Kuhne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. J Musculoskelet Neuronal, 2004, Interact 4: 268-275.
- [13] Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. Nat Rev Genet, 2003, 4: 638-649.
- [14] Tanko LB, Mouritzen U, Lehmann HJ, et al. Oral ibandronate: changes in markers of bone turnover during adequately dosed continuous and weekly therapy and during different suboptimally dosed treatment regimens. Bone, 2003, 32: 687-693.
- [15] Holecki M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J. Osteoprotegerin—does it play a protective role in the pathogenesis of bone loss in obese perimenopausal women? Endokrynol Pol, 2007, 58(1): 7-10.
- [16] Alatalo SL, Ivaska KK, Waguespack SG, et al. Osteoclast-derived serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b in Albers-Schönberg disease (type II autosomal dominant osteopetrosis). Clin Chem, 2004, 50: 883-890.
- [17] Chao T, Yu J, Ku C, et al. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a useful serum marker for extensive bone metastasis in breast cancer patients. Clin Cancer Res, 2005, 11: 544-550.
- [18] Holzer G, Noske H, Lang T, et al. Soluble cathepsin K: a novel marker for the prediction of nontraumatic fractures? Lab Clin Med, 2005, 146: 13-17.
- [19] Karsdal MA, Henriksen K, Sørensen MG, et al. Acidification of the osteoclastic resorption compartment provides insight into the coupling of bone formation to bone resorption. Am J Pathol, 2005, 166: 467-476.
- [20] Ettinger B, San Martin J, Crans G, et al. Differential effects of teriparatide on BMD after treatment with raloxifene or alendronate. J Bone Miner Res, 2004, 19: 745-751.
- [21] Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. Clin Chem, 1999, 45: 1359-1368.
- [22] Schaller S, Henriksen K, Sveigaard C, et al. The chloride channel inhibitor N53736 prevents bone resorption ovariectomized rats without changing bone formation. J Bone Miner Res, 2004, 19: 1144-1153.
- [23] Sassi ML, Eriksen H, Risteli L, et al. Immunochemical characterization of assay for carboxyterminal telopeptide of human type I collagen: loss of antigenicity by treatment with cathepsin K. Bone, 2000, 26: 367-373.
- [24] Qvist P, Christgau S, Pedersen BJ, et al. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTX): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. Bone, 2002, 31: 57-61.
- [25] Slemmon A, Hassager C. Acute fasting diminishes the circadian

- rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur J Endocrinol*, 1999, 140 :332-337.
- [26] Henriksen DB, Alexandersen P, Byrjalsen I, et al. Reduction of nocturnal rise in bone resorption by subcutaneous GLP-2. *Bone*, 2004, 34 :140-147.
- [27] Meier C, Meinhardt U, Greenfield JR, et al. Serum Cathepsin K Levels Reflect Osteoclastic Activity in Women with Postmenopausal Osteoporosis and Patients with Paget's Disease. *Clin Lab*, 2006, 52 :1-10.
- [28] Seibel M, Woitge H, Scheidt-Nave C, et al. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in populationbased screening for overt vertebral osteoporosis : results of a pilot study. *J Bone Miner Res*, 1994, 9 :1433-1440.
- [29] Schneider DL, Barrett-Connor EL. Urinary N-telopeptide levels discriminate normal, osteopenic, and osteoporotic bone mineral density. *Arch Intern Med*, 1997, 157 :1241-1245.
- [30] Iki M, Morita A, Ikeda Y, et al. Biochemical markers of bone turnover may predict progression to osteoporosis in osteopenic women : the JPOS Cohort Study. *J Bone Miner Metab*, 2007, 25(2) :122-129.
- [31] Goemaere S, Van Pottelbergh I, Zmierzak H, et al. Inverse association between bone turnover rate and bone mineral density in community-dwelling men < 70 years of age : no major role of sex steroid status. *Bone*, 2001, 29 :286-291.
- [32] Lenora J, Ivaska KK, Obrant KJ, et al. Prediction of bone loss using biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int*, 2007, 18(9) :1297-1305.
- [33] Lofman O, Magnusson P, Toss G, et al. Common biochemical markers of bone turnover predict future bone loss : a 5-year follow-up study. *Clin Chim Acta*, 2005, 356 :75-76.
- [34] Christiansen C, Riis BJ, Rodbro P. Screening procedure for women at risk of developing postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis Int*, 1990, 1 :35-40.
- [35] Stephan JJ. Prediction of bone loss in postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2000, 11(Suppl 6) :S45-S54.
- [36] Bagger YZ, Tanko LB, Alexandersen P, et al. Two to three years of hormone replacement treatment in healthy women have long-term preventive effects on bone mass and osteoporotic fractures : the PERF study. *Bone*, 2004, 34 :728-735.
- [37] Keen RW, Nguyen T, Sobnack R, et al. Can biochemical markers predict bone loss at the hip and spine ? : a 4-year prospective study of 141 early postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 1996, 6 :399-406.
- [38] Schuit SC, Van der Klift M, Weel AE, et al. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women : the Rotterdam Study. *Bone*, 2004, 34 :195-202.
- [39] Glover SJ, Gamero P, Naylor K, et al. Establishing a reference range for bone turnover markers in young, healthy women. *Bone*, 2008, 42(4) :623-630.
- [40] Woo J, Lau E, Swaminathan R, et al. Biochemical predictors for osteoporotic fractures in elderly Chinese-a longitudinal study. *Gerontology*, 1990, 36 :55-58.
- [41] Gamero P, Dargent-Molina P, Hans D, et al. Do markers of bone resorption add to bone mineral density and ultrasonographic heel measurement for the prediction of hip fracture in elderly women ? The EPIDOS prospective study. *Osteoporos Int*, 1998, 8 :563-569.
- [42] Bruyere O, Collette J, Delmas P, et al. Interest of biochemical markers of bone turnover for long-term prediction of new vertebral fracture in postmenopausal osteoporotic women. *Maturitas*, 2003, 44(4) :259-265.
- [43] Meier C, Nguyen TV, Center JR, et al. Bone resorption and osteoporotic fractures in elderly men : the dubbo osteoporosis epidemiology study. *J Bone Miner Res*, 2005, 20 :579-587.
- [44] Cummings SR, Black DM, Thompson DE, et al. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures : results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA*, 1998, 280 :2077-2082.
- [45] Li Z, Meredith MP. Exploring the relationship between surrogates and clinical outcomes : analysis of individual patient data vs. meta-regression on group-level summary statistics. *J Biopharm Stat*, 2003, 13 :777-792.
- [46] Bjarnason NH, Sarkar S, Duong T, et al. Six and twelve month changes in bone turnover are related to reduction in vertebral fracture risk during 3 years of raloxifene treatment in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2001, 12 :922-930.
- [47] Sarkar S, Reginster JY, Crans GG, et al. Relationship between changes in biochemical markers of bone turnover and BMD to predict vertebral fracture risk. *J Bone Miner Res*, 2004, 19 :394-401.
- [48] Reginster JY, Sarkar S, Zegels B, et al. Reduction in PINP, a marker of bone metabolism, with raloxifene treatment and its relationship with vertebral fracture risk. *Bone*, 2004, 34 :344-351.
- [49] Bauer DC, Black DM, Gamero P, et al. Fracture Intervention Trial Study Group. Change in bone turnover and hip, non-spine, and vertebral fracture in alendronate-treated women : the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res*, 2004, 19 :1250-1258.
- [50] Eastell R, Barton I, Hannon RA, et al. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res*, 2003, 18 :1051-1056.
- [51] Delmas PD, Pomel B, Felsenberg D, et al. Three-year follow-up of the use of transdermal 17beta-estradiol matrix patches for the prevention of bone loss in early postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 184 :32-40.
- [52] Delmas PD, Seeman E. Changes in bone mineral density explain little of the reduction in vertebral or nonvertebral fracture risk with anti-resorptive therapy. *Bone*, 2004, 34 :599-604.
- [53] Johnell O, Kanis JA, Oden A, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res*, 2005, 20 :1185-1194.
- [54] Grados F, Brazier M, Kamel S, et al. Prediction of bone mass density variation by bone remodeling markers in postmenopausal women with vitamin D insufficiency treated with calcium and vitamin D supplementation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88 :5175-5179.
- [55] Schaller S, Henriksen K, Hoegh-Andersen P, et al. *In vitro*, *ex vivo*, and *in vivo* methodological approaches for studying therapeutic targets of osteoporosis and degenerative joint disease : how biomarkers can assist ? *Assay Drug Dev Technol*, 2005, 3 :553-580.