

绝经后非老年女性血清 GDF11 浓度及其与骨质疏松发病的关系

金苗苗¹ 宋淑敏² 郭丽娟² 蒋铁建² 林涨源^{3*}

1. 长治医学院附属和济医院内分泌科, 山西 长治 046000

2. 中南大学湘雅医院内分泌科, 湖南 长沙 410008

3. 中南大学湘雅医院骨科, 湖南 长沙 410008

中图分类号: R446 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 08-1017-05

摘要: **目的** 观察绝经后非老年女性人群中 GDF11 浓度的变化, 探讨其与骨质疏松症发病的关系及其是否可作为该年龄组人群骨质疏松症发病的预测指标。 **方法** 收集绝经后非老年女性人群空腹血清, 使用 GDF11 特异性 ELISA 方法检测受试者血清 GDF11 浓度。对所有受试者后前位腰椎 1-4 及左侧髋部进行双能 X 线骨密度测定。使用 SPSS 软件进行 GDF11 浓度与 BMD 值相关性的分析。按血清 GDF11 四分位数将受试者进行分组, 比较各组骨质疏松症发病率并计算组间骨质疏松症发病风险比值比。 **结果** 在此人群中, GDF11 与骨密度呈负性相关。高 GDF11 人群组骨质疏松症发病率显著高于低 GDF11 人群组。高 GDF11 人群组骨质疏松症发病风险明显高于低 GDF11 人群组。 **结论** 在绝经后非老年女性人群中, 血清 GDF11 浓度与 BMD 值呈负性相关; GDF11 浓度升高与骨质疏松症发病相关且可作为骨质疏松症发病的预测指标。

关键词: 生长分化因子 11; 骨质疏松症; 绝经后; 非老年女性

The relationship between serum GDF11 levels and the prevalence of osteoporosis in non-elderly postmenopausal women.

JIN Miaomiao¹, SONG Shumin², GUO Lijuan², JIANG Tiejian², LIN Zhangyuan^{3*}

1. Department of Endocrinology, The Heji Affiliated Hospital of Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China

2. Department of Endocrinology, The Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China

3. Department of Orthopedics, The Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: LIN Zhangyuan, E-mail: zhangyuanlin1605@163.com

Abstract: **Objective** To observe the changes in serum growth differentiation factor 11. (GDF11) levels in non-elderly postmenopausal women, evaluate its relationship with the prevalence of osteoporosis and its predictive value for osteoporosis in the study participants. **Methods** The concentrations of fasting serum GDF11 were determined by a GDF11-specific immunoassay. Bone mineral density (BMD) of lumbar spine (L1-L4) and left hip was measured by dual-energy X-ray absorptiometry. Correlations between GDF11 and BMD and the relationship between GDF11 and the risk for osteoporosis were calculated using SPSS. **Results** Our data showed negative correlations between serum GDF11 levels and BMD at the lumbar spine and femoral neck. The serum GDF11 levels were grouped according to quartile intervals, and the prevalence and risk of osteoporosis were found be significantly greater with increased GDF11 levels. **Conclusion** This study demonstrated that GDF11 was negatively correlated with BMD in non-elderly postmenopausal women. Furthermore, osteoporotic risk increased significantly with increases in GDF11 levels. GDF11 was a predictor of osteoporosis in our study participants.

Key words: GDF11; Osteoporosis; Postmenopausal; Non elderly women

骨质疏松症是绝经后女性人群中常见的代谢性疾病。本病的发生是由于骨重建过程中成骨细胞的骨形成与破骨细胞骨吸收作用失衡所造成。其原因

无疑与性腺激素水平的下降有关^[1]。然而, 近年众多研究表明, 循环中一些细胞因子如氧化应激相关因子亦参与了本病的发生发展^[2,3]。生长分化因子 11 (growth differentiation factor 11, GDF11) 也被称为骨形态发生蛋白 11 (bone morphogenetic protein 11,

*通讯作者: 林涨源, Email: zhangyuanlin1605@163.com

BMP-11), 为转化生长因子 β (TGF- β) 超家族成员之一。近年众多研究表明 GDF11 在老年机体组织再生及功能恢复方面意义重大, 且与骨细胞代谢有关, 而其具体作用仍无定论^[4,6]。本组前期研究证实血清 GDF11 浓度变化与老年女性骨质疏松发病相关^[7]。本研究选取绝经后非老年女性为研究对象, 观察血清 GDF11 浓度变化及其与骨密度下降及骨质疏松发病的关系, 从而为骨质疏松的防治提供新思路。

1 材料和方法

1.1 研究对象选取

随机选取于 2014 年 9 月至 2016 年 5 月在中南大学湘雅医院健康管理中心体检的成年女性 127 例, 年龄范围在 42 ~ 59 岁。所有受试者来自于长沙及周边市区居民。对所有受试者的既往病史进行详细问卷调查, 并进行体格检查。排除标准: ①既往曾患影响骨代谢疾病, 如肝肾疾病、甲状腺疾病、甲状旁腺疾病、糖尿病、月经稀发或绝经年龄小于 40 岁、高泌乳素血症、卵巢切除术、风湿性关节炎、强直性脊柱炎、吸收不良综合征、恶性肿瘤、血液病或曾发生病理学骨折者。②曾服用如下药物: 糖皮质激素、甲状腺激素、雌激素、氟化物、双膦酸盐类、降钙素、噻嗪类利尿剂、巴比妥类、维生素 D 及钙剂。③曾有或现有吸烟、大量饮酒、长期大量服用咖啡因类饮品或药品者。所有受试者均签署知情同意书, 并经中南大学湘雅医院伦理委员会审批同意。

1.2 研究方法

1.2.1 生化指标及 GDF11 因子检测

嘱受试者空腹, 并在上午 7 时至 9 时抽取受试者静脉血液标本, 待血液凝固后离心分离血清, 将血清装在标本盒中后置于 - 70 °C 低温冰箱保存。

GDF11 测定采用类似于 Egerman 报道的人 GDF11 特异性 ELISA 方法^[8], 即用 GDF11 特异性抗体 (R&D Systems, clone 743833) 包被高结合性 96 孔板进行 GDF11 检测。采用本实验室通用微板分光光度计 (Bio-Tek Instruments, Inc., Highland Park, Winooski, VT, USA) 读取 OD 值并计算浓度。本法最低可检测浓度为 0.125 ng/mL, 批内及批间变异系数均低于 10%。

1.2.2 骨密度测定

本研究所有受试者骨密度测定均采用湘雅医院内分泌科双能 X 线骨密度仪 (Hologic Delphi A; Hologic, Bedford, MA, USA)。参考数据库为湘雅

医院内分泌科所建立的大样本人群骨密度参考数据库。对所有受试者后前位腰椎 1-4 及左侧髌部进行骨密度测定。其准确性采用 root-mean-square coefficient of variation (RMSCV) 分析法^[9]进行评估, 其变异系数分别为: 腰椎 0.83%、股骨颈 1.88%、总髌部 0.88%, 常规每日对仪器进行腰椎仿真模型扫描, 其变异系数为低于 0.45%。

1.3 统计学处理

统计分析采用 SPSS 19.0 统计软件 (SPSS Inc., Chicago, IL) 完成, 所有数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 形式表示, GDF11 浓度数据符合对数正态分布, 故采用几何均数 $\pm$ 标准差表示, 多组间均数的比较采用单因素方差分析 (ANOVA); 相关性分析采用 Pearson 相关及偏相关分析; 采用卡方检验分析不同影响因子水平骨质疏松症发病率的比较; 采用 OR 值分析不同影响因子对骨质疏松症发病风险性的预测作用。骨质疏松的诊断采用 WHO 诊断标准, 即 T 值 ≤ -1.0 者诊断为骨量减少, T 值 ≤ -2.5 诊断为骨质疏松症^[10]。

2 结果

2.1 一般临床资料

本研究共纳入 127 例成年女性受试者。平均年龄为 52.0 ± 5.3 岁; 绝经年限为 5.4 ± 3.7 年; 绝经年限中位数为 4 年, 95% 受试者绝经年限为 1 ~ 12 年。其具体临床及生化指标检测结果见表 1。

2.2 GDF11 与年龄的相关性

如图 1 所示, 血清 GDF11 浓度随年龄有所升高, 与年龄呈正相关, 其相关系数有统计学意义。

2.3 GDF11 与 BMD 的相关性

如表 2 所示, 血清 GDF11 浓度与左侧股骨颈及后前位腰椎 (L_{1-4}) BMD 值均呈负相关, 其相关系数有统计学意义, 且在矫正年龄、BMI 后的相关系数仍具有统计学意义。

2.4 GDF11 与骨质疏松发病风险的关系

如图 2 所示, 将受试者按血清 GDF11 浓度四分位数分为 Q1、Q2、Q3、Q4 组, 以股骨颈骨密度 T 值 ≤ -2.5 作为骨质疏松诊断标准, 各组骨质疏松的发病率之间具有明显差异, 随着血清 GDF11 浓度的增高, 骨质疏松症发病率明显增高, Q4、Q3 组骨质疏松的发病率明显高于 Q2、Q1 组, 其差异有统计学意义。而 Q2 组骨质疏松发病率较 Q1 组有所升高, 二者差异无统计学意义。

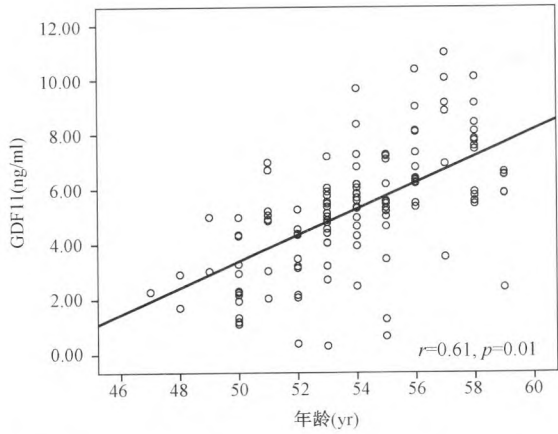


图 1 血清 GDF11 浓度随年龄变化散点图。GDF11, 生长分化因子 11

Fig. 1 Scatter plots of serums GDF11 concentration versus age in patients. GDF11, growth differentiation factor 11

表 1 受试者一般临床资料、BMD 值及 GDF11 浓度
Table 1 Clinical characteristics, BMD and GDF11 concentration of study participants

均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)	
年龄 (岁) Age (yr)	54.0 ± 2.8
绝经年限 (年) Years after menopause (yr)	5.0 ± 3.6
身高 (cm) Height (cm)	156.1 ± 4.9
体重 (kg) Weight (kg)	53.9 ± 9.7
体重指数 (kg/m ²) BMI (kg/m ²)	22.0 ± 1.5
骨密度 (g/cm ²) BMD (g/cm ²)	
腰椎 Lumbar spine	0.900 ± 0.132
股骨颈 Femoral Neck	0.745 ± 0.092
生长分化因子 11 (ng/mL) GDF11 (ng/mL)	5.28 ± 2.21
雌激素 (pg/mL) Estradiol (pg/mL)	157.3 ± 97.5
25-OH 维生素 D (ng/mL) 25-hydroxyvitamin D (ng/mL)	32.5 ± 5.8
PTH (pg/mL)	40.9 ± 25.6

注: 所有数据均以均数 ± 标准差表示。BMI, 体重指数; PTH, 甲状旁腺激素; BMD, 骨密度值; GDF11, 生长分化因子 11。

Note: The data were provided as mean and standard deviation. BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone; BMD, bone mineral density; GDF11, growth differentiation factor 11.

表 2 血清 GDF11 浓度与 BMD 值的相关系数列表
Table 2 Correlation coefficients for serum GDF11 and BMD in patients

	GDF11 (ng/mL)	
	未校正 (Unadjusted)	校正年龄、BMI 后 (Age and BMI adjusted)
腰椎 BMD (Lumbar spine BMD)	-0.237 ^{##}	-0.181 [#]
股骨颈 BMD (Femoral neck BMD)	-0.238 ^{##}	-0.166 [#]

注: Pearson's 相关系数及校正年龄、BMI 后的偏相关系数。BMI, 体重指数; BMD, 骨密度值; GDF11, 生长分化因子 11。[#] $P < 0.05$; ^{##} $P < 0.01$ 。

Note: Pearson's correlation coefficients and Partial correlation coefficients after adjustment for age and BMI were shown. BMI, body mass index; BMD, bone mineral density; GDF11, growth differentiation factor 11. [#] $P < 0.05$; ^{##} $P < 0.01$.

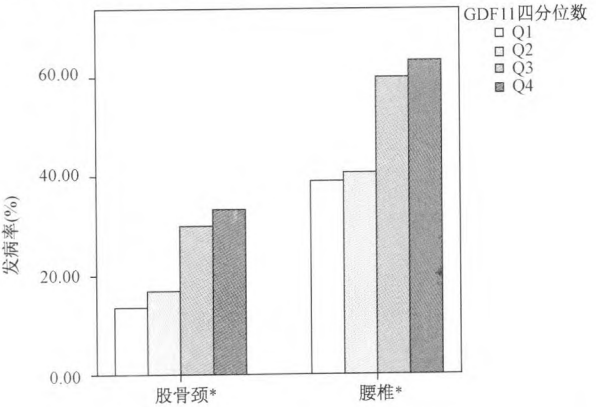


图 2 以血清 GDF11 浓度四分位数进行分组后, 各组骨质疏松症发病率比较。* 指的是分别以股骨颈、腰椎 BMD 及 T 值所诊断的骨质疏松症; GDF11, 生长分化因子 11。

Fig. 2 Comparison of the prevalence of osteoporosis among quartiles of GDF11. * Indicates osteoporosis diagnosed using BMD T-score of femoral neck or lumbar spine; GDF11, growth differentiation factor 11)

为了进一步明确各组之间骨质疏松发病风险的关系, 我们对每两组之间骨质疏松发病的风险比 (OR 值) 进行了计算。如表 3 所示, 以 Q1 组为参照组, 首先以以股骨颈 T 值为诊断标准, Q4、Q3、Q2 组骨质疏松发病风险分别为 Q1 组的 2.9 倍、2.6 倍、1.2 倍。其次以腰椎 T 值为补充诊断标准, Q4、Q3、Q2 组骨质疏松发病风险分别为 Q1 组的 2.4 倍、2.2 倍、1.2 倍。故推测, 血清 GDF11 浓度升高与骨质疏松发病风险增高有关。

表 3 所有受试者按血清 GDF11 浓度四分位数进行分组后, 各组骨质疏松症发生风险 OR 值及 95% 可信区间列表

Table 3 The risk of osteoporosis at the femoral neck or lumbar spine by quartile of serum GDF11 concentration, presented as odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI)

变量 (Variables)	股骨颈* Femoral neck		腰椎* Lumbar spine	
	OR (95% CI)	P 值	OR (95% CI)	P 值
GDF11 四分位数 GDF11 quartile				
Q1	1		1	
Q2	1.2(0.4-3.3)	0.81	1.2(0.5-2.4)	1.00
Q3	2.6(1.4-6.4)	0.04	2.2(1.5-4.4)	0.03
Q4	2.9(1.2-8.1)	0.02	2.4(1.2-5.4)	0.01

注: * 指的是分别以股骨颈、腰椎及 T 值所诊断的骨质疏松症。GDF11, 生长分化因子 11。

Note: * osteoporosis diagnosed using the T-score of femoral neck and T-score of lumbar spine. GDF11, growth differentiation factor 11.

3 讨论

绝经后骨质疏松症 (PMO) 是原发性骨质疏松症中最常见类型, 亦是女性慢性代谢性疾病中的常见疾病。其发病与雌激素水平下降关系密切, 发病机制尚未完全清楚。近年众多研究表明, 一些细胞因子在本病的发生发展中起重要作用, 如 TGF- β 、IL-17、瘦素、FGF-23、IGF-1^[11-16]。GDF11 是转化生长因子 β (TGF- β) 超家族成员之一。近年来, 诸多研究认为 GDF11 可以使老年动物的心脏、骨骼肌、神经组织恢复年轻时的活力^[17,18]。而 Egerman 等^[8] 研究报道 GDF11 在老年动物及人体中浓度升高, 且对机体组织再生起到了负性调控作用。故目前对 GDF11 的研究仍存在诸多争议。本组前期研究使用类似于 Egerman 研究的特异性 GDF11 ELISA 检测方法, 对所有受试者进行了血清 GDF11 检测, 结果显示在老年女性人群中, 血清 GDF11 浓度升高与骨质疏松症发病相关。本研究以绝经后非老年女性为研究对象, 观察在此年龄组人群中 GDF11 浓度的变化与骨质疏松症发病的关系。

近年众多研究关注 GDF11 对老年机体组织功能的“返年轻化”作用, 关于 GDF11 随年龄的变化趋势仍不统一。Loffredo 等^[4] 在 2013 年报道 GDF11 在小鼠循环中的浓度随年龄增长而减低。Zhang 等^[19] 研究报道老年动物及人体血清 GDF11 较青年机体减低, 且可通过激活 PPAR- γ , 促进成骨细胞骨形成作用。而 Egerman 等^[8] 研究报道 GDF11 在老年动物及人体中浓度升高, 且对机体组织的再生起

到了负性调控作用。该研究指出以往研究对于 GDF11 的检查特异性不高, 因其不能排除 GDF11 类似物 GDF8 的误差。本研究采用类似于 Egerman 等研究报道的相对特异性高的 GDF11 检测方法, 结果显示 GDF11 浓度随年龄的增长轻度升高, 与 Egerman 研究结果一致。

近年研究报道 GDF11 与骨代谢关系密切, 如 Li 等^[20] 研究发现, 转基因小鼠使 GDF11 表达失活后, 可导致成骨细胞活性增加, 骨形成作用增强。本组近期动物实验显示, 外源性给予重组 GDF11, 提高循环中 GDF11 浓度, 可起到抑制骨形成、促进骨量丢失的作用, 而使用中和抗体降低动物体内 GDF11 浓度, 可使骨形成作用增强^[21]。本文从绝经后非老年女性人群的角度观察 GDF11 浓度与骨质疏松诊断金标准双能 X 线骨密度仪所测得 BMD 值的相关性, 结果显示二者负性相关, 其结果与动物实验一致。故进一步推测, 此年龄组人群中骨密度的下降与循环中 GDF11 浓度增高有关。此外, 本研究进一步观察了 GDF11 不同浓度人群中骨质疏松症的发生率及发生风险的比较。结果显示, GDF11 高浓度人群中骨质疏松症发生率及发生风险比值比均明显高于 GDF11 低浓度人群。故认为 GDF11 浓度的升高可作为骨质疏松症发生的预测指标之一。然其具体作用机制仍未完全阐明, 新近研究指出, GDF11 可能通过促进 SMAD2/3 磷酸化, 抑制骨髓间充质干细胞的骨形成作用^[21], 其对骨代谢的调控作用亦与此通路有关。本组后续研究将以更大样本量的人群为研究对象, 进一步探讨循环中 GDF11 浓度的升高与骨质疏松症发生的相关性, 并探讨其作用机制。

综上所述, 在绝经后非老年女性人群中, 骨质疏松症的发生与循环中 GDF11 浓度增高存在相关性。在去除年龄及 BMI 影响后, GDF11 浓度的升高仍与其骨密度下降相关。故认为 GDF11 浓度升高可作为该年龄组人群骨质疏松症发病风险的预测指标。

【参 考 文 献】

- [1] Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest*, 2006, 116:1186-1194.
- [2] Shoback D. Update in osteoporosis and metabolic bone disorders. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:747-753.
- [3] Peacock M, Turner CH, Econs MJ, et al. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev*, 2002, 23(3):303-326.
- [4] Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, et al. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. *Cell*, 2013, 153(4): 828-839.

- [5] Katsimpardi L, Litterman NK, Schein PA, et al. Vascular and neurogenic rejuvenation of the ageing mouse brain by young systemic factors. *Science*, 2014, 344(6184):630-634.
- [6] Sinha M, Jang YC, Oh J, et al. Restoring systemic GDF11 levels reverses age-related dysfunction in mouse skeletal muscle. *Science*, 2014, 344(6184): 649-652.
- [7] Jin M, Song S, Guo L, et al. Increased serum GDF11 concentration is associated with a high prevalence of osteoporosis in elderly native Chinese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(11):1145-1147.
- [8] Egerman MA, Cadena SM, Gilbert JA. GDF11 increases with age and inhibits skeletal muscle regeneration. *Cell Metab*, 2015, 22(1):164-174.
- [9] Wu XY, Zhang H, Xie H, et al. Reference intervals of bone turnover markers determined by using their curve-fitting valley for adult females in China. *Osteoporosis International*, 2014, 25: 943-952.
- [10] Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1994, 9(8):1137-1141.
- [11] Brincat SD, Borg M, Camilleri G, et al. The role of cytokines in postmenopausal osteoporosis. *Minerva Ginecol*, 2014, 66:391-407.
- [12] Molnar I, Bohaty I, Somogyi-Vari E. IL - 17A-mediated sRANK ligand elevation involved in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2014, 25:783-786.
- [13] Zhao R. Immune regulation of bone loss by Th17 cells in oestrogen-deficient osteoporosis. *Eur J Clin Invest*, 2013, 43: 1195-1202.
- [14] Sridharan M, Cheung J, Moore AE, et al. Circulating fibroblast growth factor 23 increases following intermittent parathyroid hormone (1-34) in postmenopausal osteoporosis: association with biomarker of bone formation. *Calcif Tissue Int*, 2010, 87(5): 398-415.
- [15] Sun J, Zhang C, Xu L, et al. The transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) gene polymorphisms (TGF- β 1 T869C and TGF- β 1 T29C) and susceptibility to postmenopausal osteoporosis: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(4):e461.
- [16] 赵燕, 王艳, 张燕, 等. GLP-1 对 2 型糖尿病大鼠血清 OPG、RANKL 及骨密度的影响研究. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(6):700-705.
- Zhao Y, Wang Y, Zhang Y, et al. The effect of GLP-1 on serum concentrations of OPG and RANKL and bone mineral density in type 2 diabetic rats. *Chin J Osteoporos*, 2016, 22(6):700-705.
- [17] Scudellari M. Ageing research: Blood to blood. *Nature*, 2015, 517(7535):426-429.
- [18] Bitto A, Kaeberlein M. Rejuvenation: it's in our blood. *Cell Metab*, 2014, 20(1):2-4.
- [19] Zhang Y, Shao J, Wang Z. Growth differentiation factor 11 is a protective factor for osteoblastogenesis by targeting PPAR γ . *Gene*, 2015, 557(2):209-214.
- [20] Li Z, Zeng F, Mitchell AD, et al. Transgenic overexpression of bone morphogenetic protein 11 propeptide in skeleton enhances bone formation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416(3-4):289-292.
- [21] Lu Q, Tu ML, Li CJ, et al. GDF11 Inhibits Bone Formation by Activating Smad2/3 in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Calcif Tissue Int*, 2016, 99(5):500-509.

(收稿日期: 2017-01-25;修回日期:2017-03-08)

(上接第 1010 页)

- [7] Fleming A, Sato M, Goldsmith P. High-throughput in vivo screening for bone anabolic compounds with zebrafish. *Journal of Biomolecular Screening*, 2006, 10(8): 823-831.
- [8] 鞠黎. 胚胎期多氯联苯暴露对斑马鱼骨骼发育的影响. 南京医科大学, 2012.
- Ju L. Effects of exposure to PCBs during embryonic period on skeletal development of zebrafish. Nanjing Medical University, 2012. (in Chinese)
- [9] 刘晨, 陈斌, 徐又佳. 斑马鱼疾病模型. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2014, 7(3): 277-280.
- Liu CH, Chen B, Xu YJ. Zebrafish as an animal model of human disease. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Disease*, 2014, 7(3): 277-280. (in Chinese)
- [10] Siccaldi AJ III, Padgett-Vasquez S, Garris HW, et al. Dietary strontium increases bone mineral density in intact zebrafish (*Danio rerio*): a potential model system for bone research. *Zebrafish*, 2010, 7(3): 267-273.
- [11] Jobgen WS, Jobgen SC, Li H, et al. Analysis of nitrite and nitrate biological samples using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2007, 851(1-2): 71-82.
- [12] 彭维兵, 韩建, 陈维云, 等. 昆布多糖对氯化镉诱导斑马鱼骨骼发育毒性的改善作用. *山东科学*, 2015, 28(5): 22-26.
- Han WB, Han J, Chen WY, et al. Recovery effect of laminarin on cadmium chloride induced developmental toxicity of zebrafish skeleton[J]. *Shan dong Science*, 2015, 28(5): 22-26. (in Chinese)

(收稿日期: 2017-01-11;修回日期:2017-03-07)