

· 论著 ·

血清 β -胶原降解产物、组织蛋白酶 K 和骨保护素对绝经后骨质疏松患者诊断的研究

王丹 王治洁*

上海市第八人民医院妇产科, 上海 200235

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 09-1231-05

摘要: **目的** 观察血清 β -胶原降解产物(β -CTX)、组织蛋白酶 K(Cathe K)和骨保护素(OPG)在绝经后骨质疏松患者的诊断意义。**方法** 选择2011年1月至2017年12月在同济医院和第八医院就诊诊断为绝经后骨质疏松的患者110例,为骨质疏松组。选择同期在我院诊断为骨量减少者(65例)和骨量正常者(30例)分别为骨量减少组和骨量正常组。观察各组血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平,骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 与骨折的关系和椎体骨折严重程度的关系,骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平的相关性分析,及血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 的受试者工作特征曲线(ROC)在诊断椎体骨折的价值。**结果** 骨质疏松组的血清 β -CTX 和 Cathe K 水平明显高于骨量减少组和骨量正常组($P < 0.01$),骨量减少组明显高于骨量正常组($P < 0.01$),而骨质疏松组的 OPG 水平明显低于骨量减少组和骨量正常组($P < 0.01$),而骨量减少组明显低于骨量正常组($P < 0.01$)。骨折组的血清 β -CTX 和 Cathe K 水平明显高于未骨折组($P < 0.01$),而骨折组的 OPG 水平明显低于未骨折组($P < 0.01$)。骨质疏松患者血清 β -CTX 和 Cathe K 水平随着骨折严重程度的增加出现升高($P < 0.01$),而 OPG 水平随着严重程度增加而降低($P < 0.01$)。骨质疏松患者血清 β -CTX 与 Cathe K 呈正相关($r = 0.816, P < 0.05$),与 OPG 水平呈负相关($r = -0.763, P < 0.05$),Cathe K 与 OPG 水平呈负相关($r = -0.687, P < 0.05$)。通过 ROC 来预测骨质疏松发生椎体骨折的灵敏度和特异性,联合检测 ROC 曲线下的面积明显高于 β -CTX($Z = 2.389, P = 0.017$),Cathe K($Z = 2.707, P = 0.007$)和 OPG($Z = 2.926, P = 0.003$)检测,而 β -CTX、Cathe K 和 OPG 的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 联合检测 β -CTX、Cathe K 和 OPG 对骨质疏松患者合并椎体骨折的诊断具有重要的临床价值。

关键词: β -胶原降解产物;组织蛋白酶 K;骨保护素;骨质疏松;绝经

Diagnostic significance of serum β -collagen degradation products, cathepsin K, and osteoprotegerin in postmenopausal osteoporosis

WANG Dan, WANG Zhijie *

Department of Obstetrics and Gynecology, the Eighth Hospital of Shanghai, Shanghai 200235, China

* Corresponding author: WANG Zhijie, Email: michaelzhang120@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the diagnostic significance of serum β -cross-linked C-telopeptide of type I collagen (β -CTX), cathepsin K (Cathe K), and osteoprotegerin (OPG) in postmenopausal osteoporosis patients. **Methods** One hundred and ten post-menopausal patients in our hospital were selected in osteoporosis group from January 2015 to December 2017. At the same period, 65 patients were selected in bone mass loss and 30 patients in normal bone mass group. The levels of serum β -CTX, Cathe K, and OPG in each group were observed. The relationship among β -CTX, Cathe K, and OPG, and the severity of vertebral fractures were also observed in osteoporosis patients. ROC of serum β -CTX, Cathe K, and OPG were used in the diagnosis of vertebral fractures. **Results** The serum levels of β -CTX and Cathe K in osteoporosis group were significantly higher than those in bone loss group and normal bone mass group ($P < 0.01$), and the levels of those in bone loss group was significantly higher than those in the normal bone mass group ($P < 0.01$). The OPG levels in osteoporosis group were significantly lower than those in bone loss group and normal mass bone group ($P < 0.01$), while those in bone loss group were significantly lower than in the normal bone mass group ($P < 0.01$). The levels of serum β -CTX and Cathe K in fracture group were significantly higher than those in non-

基金项目: 上海市第六人民医院联合体科研项目

* 通信作者: 王治洁, Email: michaelzhang120@hotmail.com

fracture group ($P < 0.01$), while the OPG levels in fracture group were significantly lower than those in non-fracture group ($P < 0.01$). The levels of serum β -CTX and Cathe K increased with the increase of fracture severity ($P < 0.01$), and the level of OPG decreased with the increase of the severity ($P < 0.01$). The serum β -CTX levels were positively correlated with Cathe K in patients with osteoporotic fractures ($r = 0.816$, $P < 0.05$), but negatively correlated with OPG ($r = -0.763$, $P < 0.05$). There was a negative correlation between Cathe K and OPG ($r = -0.687$, $P < 0.05$). ROC was used to predict the sensitivity and specificity of osteoporosis in vertebral fractures. The area under curve of combination detection was significantly higher than that of β -CTX ($z = 2.389$, $P = 0.017$), Cathe K ($z = 2.707$, $P = 0.007$), and OPG ($z = 2.926$, $P = 0.003$). There was no significant difference among β -CTX, Cathe K, and OPG ($P > 0.05$). **Conclusion** Combination detection of β -CTX, Cathe K, and OPG has important clinical value in the diagnosis of vertebral fracture in patients with osteoporosis.

Key words: β -cross-linked C-telopeptide of type 1 collagen; cathepsin K; osteoprotegerin; osteoporosis; menopause

骨质疏松症的特征为骨吸收和骨形成平衡被打破,骨质出现低骨密度和骨组织结构的退化,严重者导致脆性骨折,绝经后妇女易发生骨质疏松症,以50~70岁最为常见。早期预防和干预治疗可以减少骨折发生^[1]。 β -胶原降解产物(β -CTX)是一种成熟胶原降解产物,反映骨吸收和骨破坏水平^[2]。血清组织蛋白酶K(Cathe K)是破骨细胞介导骨基质重构时的重要蛋白水解酶,骨质疏松患者血清 Cathe K 出现明显升高,是评估骨质疏松的重要指标^[3]。骨保护素(OPG)具有抑制破骨细胞的分化和活化,提高破骨细胞的凋亡,对骨质具有抑制吸收的作用^[4]。本研究通过观察绝经后骨质疏松后血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平与骨质疏松症的关系,探讨其对骨质疏松骨折的临床意义。

1 材料和方法

1.1 临床资料

选择2011年1月至2017年12月在我院就诊诊断为绝经后骨质疏松的患者110例,为骨质疏松组。其中平均年龄 63.5 ± 6.2 (45~79)岁,绝经时间 9.3 ± 2.5 (3~15)年,平均病程 10.5 ± 4.3 (1~38)年,体质指数(BMI) 22.31 ± 2.94 (11.35~33.46) kg/m²。选择同期在我院诊断为骨量减少者65例为骨量减少组,其中平均年龄 63.8 ± 7.7 (45~79)岁,绝经时间 9.5 ± 2.9 (4~17)年,平均病程 10.7 ± 3.9 (1~36)年,BMI为 22.45 ± 2.67 (12.34~32.69) kg/m²。同样选择同期在我院行健康体检者30例,绝经女性骨量正常,其中平均年龄 63.8 ± 5.5 (46~79)岁,绝经时间 9.2 ± 2.7 (2~17)年,BMI为 22.51 ± 2.76 (11.35~33) kg/m²。纳入标准:所有受试者绝经距发病超过1年;均经骨密度测定;均经受试者和家属知情同意,医院伦理委员会批准通过。排除标准:椎体骨折合并神经损伤;继发性骨质疏松;肿瘤患者;有心肝肾等重要脏器功能不全;肝炎,结核和肺炎等

急慢性感染。3组在年龄,绝经时间和BMI等一般资料差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 诊断标准:骨密度测定,采用双能X线吸收法(美国Hologic公司的Discovery Wi型SXA机)对椎体骨折进行测定,检测前用标准体模进行校正,骨密度的测定均由统一培训并认证合格人员操作检测,由系统自动给出骨密度测定T值。根据世界卫生组织推荐的诊断标准,-2.5~-1为骨量减少,小于等于-2.5为骨质疏松,大于-1为骨量正常。椎体骨折严重程度分级:采用影像学诊断确定椎体骨折的部位,采用椎体畸形半定量评估的方法将椎体骨折分为3级,I级为椎体压缩程度小于25%;III级椎体压缩超过40%;而椎体压缩在25%~40%为II级。

1.2.2 血液指标的检测:患者入院时,取患者肘静脉血约10 mL,采用离心机2 500 r/min,离心半径6 cm,离心约10 min,分离出上清液放置在-80℃的冰箱中保存。采用双抗体夹心化学发光法检测 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平,用生物素化单克隆 β -CTX、Cathe K 和 OPG 特异性抗体与血清混合,形成抗原抗体复合物,然后加入链霉素磁珠微粒进行二次孵育,通过生物素和链霉素亲和素作用结合,通过电磁效应将磁珠吸附在电极表面,通过电极的电压促进复合物化学发光,测定发光强度,采用 Elecsys 软件自动通过定标曲线计算出 β -CTX、Cathe K 和 OPG 含量。

1.2.3 观察指标:各组血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平的比较,骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 与骨折的关系和椎体骨折严重程度的关系,骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平的相关性分析,及血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 的受试者工作特征曲线(ROC)在诊断椎体骨折的作用。

1.3 统计学处理

数据采用 Excel 表记录,并通过 SPSS 12.0 软件进行统计分析,所有计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示,多组比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验;率的比较采用 χ^2 检验;采用 Logistic 回归建立联合检测的新变量,与各指标独立检测绘制 ROC 曲线。 $P<0.05$ 视为差异有统计学意义,检验水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组血清 β -CTX, Cathe K 和 OPG 水平的变化

从表 1 可知骨质疏松组的血清 β -CTX 和 Cathe K 水平明显高于骨量减少组和骨量正常组 ($P<0.01$),骨量减少组明显高于骨量正常组 ($P<0.01$),而骨质疏松组的 OPG 水平明显低于骨量减少组和骨量正常组 ($P<0.01$),而骨量减少组明显低于骨量正常组 ($P<0.01$)。

表 1 各组血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平的变化

Table 1 The changes of serum β -CTX, Cathe K, and OPG level in different groups

组别	例数	β -CTX/($\mu\text{g/L}$)	Cathe K/(ng/L)	OPG/($\mu\text{g/L}$)
骨量正常组	30	0.56 $\pm$ 0.16	21.36 $\pm$ 5.37	2.09 $\pm$ 0.24
骨量减少组	65	2.36 $\pm$ 0.47 ^a	27.84 $\pm$ 6.49 ^a	1.65 $\pm$ 0.19 ^a
骨质疏松组	110	8.61 $\pm$ 1.35 ^{ab}	35.04 $\pm$ 9.34 ^{ab}	0.98 $\pm$ 0.13 ^{ab}
F 值	1430.710	51.796	814.513	
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	

注:与骨量正常组比较,^a $P<0.01$;与骨量减少组比较,^b $P<0.01$ 。

2.2 骨质疏松组患者是否发生骨折血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平变化

从表 2 可知,骨折组的血清 β -CTX 和 Cathe K

水平明显高于未骨折组 ($P<0.01$),而骨折组的 OPG 水平明显低于未骨折组 ($P<0.01$)。

表 2 骨质疏松组患者是否发生骨折血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平变化

Table 2 The changes of serum β -CTX, Cathe K, and OPG level in patients with or without fractures

组别	例数	β -CTX/($\mu\text{g/L}$)	Cathe K/(ng/L)	OPG/($\mu\text{g/L}$)
骨折组	37	10.49 $\pm$ 1.46	43.78 $\pm$ 10.54	0.71 $\pm$ 0.09
未骨折组	73	7.65 $\pm$ 1.19	30.61 $\pm$ 8.67	1.12 $\pm$ 0.23
t 值	10.941	6.991	10.427	
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	

2.3 骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平与骨折严重程度的关系

骨质疏松患者血清 β -CTX 和 Cathe K 水平随着

骨折严重程度的增加出现升高 ($P<0.01$),而 OPG 水平随着严重程度增加而降低 ($P<0.01$)。

表 3 骨质疏松患者血清 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平与骨折严重程度的关系

Table 3 The correlation between levels of serum β -CTX, Cathe K, and OPG and the severity of the fractures

组别	例数	β -CTX/($\mu\text{g/L}$)	Cathe K/(ng/L)	OPG/($\mu\text{g/L}$)
I 级	8	7.35 $\pm$ 1.16	30.65 $\pm$ 9.65	1.25 $\pm$ 0.26
II 级	17	9.94 $\pm$ 1.37 ^a	41.48 $\pm$ 10.37 ^a	0.62 $\pm$ 0.15 ^a
III 级	12	13.36 $\pm$ 1.85 ^{ab}	54.46 $\pm$ 12.38 ^{ab}	0.48 $\pm$ 0.08 ^{ab}
F 值	41.156	12.355	63.042	
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	

注:与 I 级比较,^a $P<0.01$;与 II 级比较,^b $P<0.01$ 。

2.4 骨质疏松患者 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平的相关性

骨质疏松患者血清 β -CTX 与 Cathe K 呈正相关

($r=0.816, P<0.05$),与 OPG 水平呈负相关($r=-0.763, P<0.05$),Cathe K 与 OPG 水平呈负相关($r=-0.687, P<0.05$)。

2.5 血清 β -CTX, Cathe K 和 OPG 水平在诊断骨质疏松患者发生骨折方面的诊断价值

从表 4 和图 1 可知,通过 ROC 来预测骨质疏松发生椎体骨折的灵敏度和特异性,联合检测 ROC 曲

线下的面积明显高于 β -CTX ($Z = 2.389, P = 0.017$), Cathe K ($Z = 2.707, P = 0.007$) 和 OPG ($Z = 2.926, P = 0.003$) 检测,而 β -CTX、Cathe K 和 OPG 的比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 血清 β -CTX, Cathe K 和 OPG 水平在诊断骨质疏松患者发生骨折方面的诊断价值

Table 4 The value of serum levels of β -CTX, Cathe K, and OPG in the diagnosis of fracture in patients with osteoporosis

组别	最佳截断值	灵敏度/%	特异度/%	AUC	95%CI
β -CTX	>8.791	89.2	86.3	0.935	0.872~0.973
Cathe K	>34.990	94.6	72.6	0.904	0.833~0.952
OPG	≤ 0.871	100.0	82.2	0.933	0.869~0.972
联合检测	>69.591	97.3	97.3	0.997	0.961~1.000

3 讨论

随着老龄化社会的发展,骨质疏松发病率出现明显升高,尤其绝经后的女性更容易发生骨质疏松,常常易发生骨折。骨代谢是由成骨细胞和破骨细胞作用形成的动态平衡,当破骨细胞黏附到骨的表面,促进骨的吸收,骨折吸收超过骨质形成时,将导致骨质疏松形成。 β -CTX 是一种 I 型胶原降解产物,但破骨细胞活性增加时,会出现大量 I 型胶原降解^[5],导致 β -CTX 出现入血水平升高,并认为 β -CTX 是骨吸收的重要血清学指标^[6]。本研究表明骨质疏松组血清 β -CTX 水平明显高于骨量减少组和骨量正常组,骨质疏松合并骨折患者血清 β -CTX 水平明显高于未骨折组,并且对照骨折严重程度的升高,说明血清 β -CTX 水平是骨质疏松的重要指标,参与了骨质疏松疾病的发生发展过程。现有研究表明 β -CTX 是评价破骨细胞活性及骨吸收最为有价值的方法^[7-8],本研究说明骨质疏松患者体内的骨质吸收明显增强,大量的 β -CTX 释放入血,故 β -CTX 被认为是骨质吸收的良好指标,是判断绝经后骨质疏松有效筛选指标。

本研究发现骨质疏松组血清 Cathe K 水平明显高于骨量减少组和骨量正常组,并且发现骨质疏松患者骨折组血清 Cathe K 水平明显高于未骨折组,并且随着骨折严重程度的增加而升高,说明 Cathe K 参与了绝经妇女骨质疏松疾病的发生发展过程,是评价骨质疏松严重程度的重要指标。Cathe K 属于溶酶体半胱氨酸酶中的超家族成员,在基础研究中发现敲除 Cathe K 基因的小鼠表现为骨样硬化,表现为基质降解异常,不能有效吸收骨质,出现骨质硬化^[9-10]。Cathe K 表达伴随整个破骨细胞分化的过程,在老鼠的研究中发现 Cathe K 主要分布于软骨正在重建的骨部位,通过基因沉默的方法发现 Cathe

K 表达能够抑制骨吸收和胶原的分解。Cathe K 水平与骨密度具有明显的相关性,可以作为骨折风险的指标^[11-12]。现已知 Cathe K 能够降解多种骨基质蛋白,对快速重建骨骼如脊柱的影响较为明显^[13],而对代谢较低如骨髓等部位影响较少,被认为破骨细胞活性的标志物。

OPG 是一种可溶性蛋白,参与配体的结合抑制破骨细胞的形成,在许多种脏器均有表达,尤其在骨和骨髓中具有较高的含量^[14-15]。本研究中发现骨质疏松组血清 OPG 水平明显高于骨量减少组和骨量正常组,骨质疏松和骨折患者 OPG 水平明显低于未骨折患者,并随着骨折严重程度的升高而水平出现明显降低,说明 OPG 是骨质疏松的重要保护指标,参与了骨质疏松病理生理过程,是评价骨折严重程度的重要指标。现有研究表明绝经妇女骨密度较低的患者血清 OPG 水平明显低于骨密度高的患者,说明 OPG 与骨密度具有重要的相关性。本研究表明骨质疏松患者血清 β -CTX 与 Cathe K 呈正相关,与 OPG 水平呈负相关, Cathe K 与 OPG 水平呈负相关,说明 β -CTX、Cathe K 和 OPG 水平存在某种平衡,通过某种机制达到破骨和成骨的平衡,当平衡打破后出现骨质疏松。本研究还发现 ROC 来预测骨质疏松发生椎体骨折的灵敏度和特异性,联合检测 ROC 曲线下的面积明显高于 β -CTX、Cathe K 和 OPG 检测,而 β -CTX、Cathe K 和 OPG 的比较,差异无统计学意义,说明联合检测 β -CTX、Cathe K 和 OPG 在预测骨质疏松脊椎骨折方面具有更高的灵敏度和特异性,其曲线下面积明显优于各个单个指标的检测,并且患者容易接受,可以在基层医院容易推广。

总之, β -CTX、Cathe K 和 OPG 参与了绝经女性骨质疏松的发生发展过程,联合检测对骨质疏松患者合并椎体骨折的诊断具有重要的临床价值。

【参 考 文 献】

- [1] Sanfelix-Gimeno G, Julia-Sanchis ML, Librero J, et al. Variations in osteoporosis medication utilization. A population-based ecological cross-sectional study in the region of Valencia, Spain [J]. PLoS One, 2018, 13: e199086.
- [2] Liu DM, Lu N, Zhao L, et al. Serum Sema3A is in a weak positive association with bone formation marker osteocalcin but not related to bone mineral densities in postmenopausal women [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99: E2504-E2509.
- [3] Mukherjee K, Chattopadhyay N. Pharmacological inhibition of cathepsin K: A promising novel approach for postmenopausal osteoporosis therapy [J]. Biochem Pharmacol, 2016, 117: 10-19.
- [4] Pandey A, Khan Y A, Kushwaha SS, et al. Role of serum osteoprotegerin as a diagnostic indicator of primary osteoporosis in perimenopausal and postmenopausal women: an indian perspective [J]. Malays Orthop J, 2018, 12: 31-35.
- [5] 赵国权, 罗春山, 陆廷盛, 等. 颈脊髓损伤后患者 P1NP 和 β -CTX 的研究分析 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23 (12): 1617-1620.
- [6] Enciso R, Keaton J, Saleh N, et al. Assessing the utility of serum C-telopeptide cross-link of type I collagen as a predictor of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review and meta-analysis [J]. J Am Dent Assoc, 2016, 147: 551-560.
- [7] 华仲森, 陈之青. 绝经后骨质疏松性腰椎骨折患者血清 β -CTX、P1NP 的水平及意义 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38 (7): 1642-1643.
- [8] 何伟. 颈脊髓损伤后 β -CTX 与 P1NP 的检测及意义 [J]. 中国社区医师, 2017, 33 (2): 121, 123.
- [9] Bromme D, Panwar P, Turan S. Cathepsin K osteoporosis trials, pycnodysostosis and mouse deficiency models: Commonalities and differences [J]. Expert Opin Drug Discov, 2016, 11: 457-472.
- [10] Barbarash OL, Lebedeva NB, Kokov AN, et al. Decreased Cathepsin K Plasma Level may Reflect an Association of Osteopenia/Osteoporosis with Coronary Atherosclerosis and Coronary Artery Calcification in Male Patients with Stable Angina [J]. Heart Lung Circ, 2016, 25: 691-697.
- [11] Duong LT, Leung AT, Langdahl B. Cathepsin K Inhibition: A New Mechanism for the Treatment of Osteoporosis [J]. Calcif Tissue Int, 2016, 98: 381-397.
- [12] Abdel-Magid AF. Inhibition of cathepsin K: a novel and promising treatment for osteoporosis [J]. ACS Med Chem Lett, 2015, 6: 628-629.
- [13] Engelke K, Nagase S, Fuerst T, et al. The effect of the cathepsin K inhibitor ONO-5334 on trabecular and cortical bone in postmenopausal osteoporosis: the OCEAN study [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29: 629-638.
- [14] Ozden FO, Sakalliglu EE, Demir E, et al. Effect of bisphosphonate as an adjunct treatment for chronic periodontitis on gingival crevicular fluid levels of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in postmenopausal osteoporosis [J]. J Oral Sci, 2017, 59: 147-155.
- [15] 周建烈, 刘忠厚. 补充钙和维生素 D 防治骨质疏松症的全球临床指南进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23 (3): 371-380.

(收稿日期: 2018-09-18; 修回日期: 2018-11-14)