

· 论 著 ·

铁过载对绝经后骨质疏松患者骨密度和骨代谢的影响

林琳¹ 林安平^{2*}

1. 重庆两江新区第一人民医院妇产科, 重庆 401121

2. 重庆医科大学附属第二医院妇科, 重庆 401336

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 12-1747-04

摘要: **目的** 观察铁过载对绝经后骨质疏松患者骨密度和骨代谢的影响。**方法** 将 234 名绝经后妇女按照骨密度 (bone mineral density, BMD) 分为正常组、骨量减少组和骨质疏松组。分析铁过载对年龄、绝经年数、血钙 (Ca)、磷 (P)、体质指数 (bone mass index, BMI)、肝肾功能、葡萄糖代谢、脂质代谢、炎症反应、BMD、抗酒石酸酸性磷酸酶 5b (TRACP-5b)、ALP、I 型胶原交联 C 端肽 (β -CTX) 和 I 型胶原交联 N 端肽 (PINP) 的影响。**结果** 与正常组相比, 骨量减少组和骨质疏松组血清铁蛋白 (Fer) 显著升高 ($P < 0.05$)。Fer 水平与 BMD 呈负相关 ($P < 0.05$)。TRACP-5b 水平在骨质疏松组明显高于正常组 ($P < 0.05$)。与正常组相比, 骨质疏松组的 ALP 水平显著升高 ($P < 0.05$)。与骨量减少组相比, 骨质疏松组血清 β -CTX 水平明显升高 ($P < 0.05$); 且骨质疏松组的 PINP 水平显著高于正常组 ($P < 0.05$)。更重要的是, 血清 Fer 和 PINP 之间存在正相关 ($P < 0.05$); 血清 Fer 和 β -CTX 之间呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论** 铁过载对绝经后骨质疏松患者骨密度和骨代谢均有显著影响。

关键词: 铁过载; 绝经后妇女; 骨质疏松症; 骨量减少; 骨代谢; 骨密度

Effects of iron overload on bone mineral density and bone metabolism in postmenopausal patients with osteoporosis

LIN Lin¹, LIN Anping^{2*}

1. Department of Obstetrics and Gynecology, First People's Hospital, Liangjiang New District, Chongqing 401121, China

2. Department of Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401336, China

* Corresponding author: LIN Anping, Email: linanping@cqum.edu.cn

Abstract: **Objective** To observe the effects of iron overload on bone mineral density and bone metabolism in postmenopausal osteoporosis patients. **Methods** According to bone mineral density result, 234 postmenopausal women were divided into Normal group, Osteopenia group, and Osteoporosis group. We evaluated the effects of iron overload on age, years of menopause, Ca, P, BMI, liver and kidney function, glucose metabolism, lipid metabolism, inflammatory response, BMD, Tartrate resistant acid phosphatase type 5b (TRACP-5B), ALP, N-terminal propeptides of type I procollagen (PINP) and carboxyterminally cross-linked telopeptides (β -CTX). **Results** Compared with Normal group, the serum ferritin (Fer) levels in Osteopenia group and Osteoporosis group were significantly increased ($P < 0.05$). Fer level was negatively correlated with BMD ($P < 0.05$). TRACP-5B levels in Osteoporosis group were significantly higher than that in Normal group ($P < 0.05$). ALP levels in Osteoporosis group were significantly up regulated compared with Normal group ($P < 0.05$). β -CTX levels in Osteoporosis group were significantly increased compared with Osteopenia group ($P < 0.05$). PINP levels in Osteoporosis group were significantly higher than that in Normal group ($P < 0.05$). More importantly, there was a positive correlation between serum Fer and PINP ($P < 0.05$). Serum Fer showed a positive correlation with serum β -CTX ($P < 0.05$). **Conclusion** Iron overload has significant effects on bone mineral density and bone metabolism in postmenopausal osteoporosis patients.

Key words: iron overload; postmenopausal women; osteoporosis; reduced bone mass; bone metabolism; bone mineral density

铁是人体生理功能中必不可少的微量元素^[1]。

缺铁会导致骨质流失, 然后诱发骨质疏松症^[2]。体内铁超负荷对成骨细胞有毒性作用, 通过抑制成骨细胞增殖和分化来增加骨质疏松症, 并增加破骨细

* 通信作者: 林安平, Email: linanping@cqum.edu.cn

胞生成^[3]。超负荷的铁加重了卵巢切除术对骨量的影响^[4]。小鼠铁过载与铁蛋白(Fer)升高和Runx2的mRNA水平降低有关,并抑制间充质干细胞的成骨分化^[5]。斑马鱼铁过载模型显示出明显的骨形成抑制,伴随着成骨细胞特异性基因表达降低^[6]。绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)是一种全身性骨代谢疾病,其特征是绝经后进行性骨质流失^[7]。已知绝经导致的雌激素缺乏会增加骨吸收并加速骨质流失。以往研究提供的证据表明,铁只在没有雌激素的情况下影响骨量,并且雌激素对铁诱导骨量减少的抑制与骨吸收特别是与骨形成有关,因此铁过载成为PMOP的重要危险因素^[8]。可以确定血清中的骨标志物用于PMOP患者的诊断和监测。鉴于其更好的实用性、更低的个体间与个体内的变异性,所以推荐血清作为骨代谢的测试材料。本研究将评估铁超负荷对绝经后骨质疏松患者骨代谢和骨密度的影响。

1 材料和方法

1.1 一般临床资料

有234名来自体检中心并且接受了骨密度测定的绝经后女性参加了这项研究。排除患有继发性骨质疏松症、肠吸收不良疾病或其他类型营养不良的受试者。根据女性临床特征,使用型号为DPX-NT(Lunar Inc.)的双能X射线吸收仪在受试者腰椎(1~4)和股骨颈处测量BMD和T值,BMD单位为g/cm²。对于骨质疏松症的诊断标准符合WHO的建议,即 $T \geq -1$ 为正常, $-2.5 < T < -1$ 为骨丢失或骨质减少, $T \leq -2.5$ 为骨质疏松。同时测量并记录受试者身高和体重,计算BMI。所有受试者在招募前都签署了知情同意书。

1.2 方法

所有患者均测量血钙(Ca)、磷(P)、25-羟维生素D(25-OH)、血红蛋白、C反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)、肌酐、尿酸的基线血清水平酸、总氮和二氧化碳、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)和葡萄糖。经过10 h或更长时间的过夜禁食后获取受试者静脉血,并且在每个受试者的单个时间点对单个血液样品进行所有测量。通过电化学发光检测(Cobas 600, POCHÉ, Switzerland)测定血清Fer和TRF;通过电阻抗法(XN-3000, SYSMEX, 日本)检测血液常规;通过酶动力学方法(AU 5400, OLYMPUS, Japan)测量血液生化电解质;

运用标准ELISA方法(Elecsys 2010, ROCHE, Switzerland)评估 β -CTX和PINP水平。

1.3 统计学分析

Dunnett的多重比较检验用于比较骨吸收相关生物标志物、正常与骨质疏松症或正常与骨丢失组的显著性。回归分析用于检测血清铁和基线特征、骨代谢指标的相关性。所有数据均使用SPSS 19.0统计软件进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

根据受试者的骨密度测量结果,将所有受试者分为正常组($n = 56$)、骨量减少组($n = 142$)和骨质疏松组($n = 36$)。所有患者的基线特征如表1所示,25-OH、Ca、P、血红蛋白、WBC、总N及CO₂、肌酐和尿酸比较没有显著差异(P 均 > 0.05)。与正常组相比,骨质疏松组的年龄、绝经年数、BMI和CRP有显著性差异($P < 0.05$)。随着年龄和更年期的增加,骨质疏松症的风险可能显著增加。从正常组到骨质疏松症组的BMI显示出显著的下降趋势($P < 0.05$);骨质疏松症过程与BMI显著降低有关。绝经年数增加伴有铁超负荷增加且呈正相关趋势($R^2 = 0.072$; $P < 0.05$)。血清铁与CRP水平呈正相关趋势($R^2 = 0.033$; $P < 0.05$)。和正常组相比,其他两组均显著增加($P < 0.05$)。骨质疏松症患者血清TRF水平明显低于正常组($P < 0.05$)。骨质疏松组血清TRACP-5b水平[(4.37 $\pm$ 1.46) U/L]显著高于正常组[(4.10 $\pm$ 1.60) U/L, $P < 0.05$]。骨质疏松组血清ALP水平[(112.06 $\pm$ 62.05) U/L]与正常组相比显著升高[(80.22 $\pm$ 14.94) U/L, $P < 0.05$]。骨质疏松组血清 β -CTX水平[(667.90 $\pm$ 316.55) ng/L]显著高于正常组[(406.06 $\pm$ 112.12) ng/L, $P < 0.05$]。骨质疏松组血清PINP水平[(78.03 $\pm$ 37.31) μ g/L]明显高于正常组[(37.60 $\pm$ 13.17) μ g/L, $P < 0.05$]。详见表1和表2。

回归分析表明Fer对血清ALP和TRACP-5B水平没有显著影响。血清Fer水平、BMD、PINP和 β -CTX进行回归分析,结果表明血清Fer水平与BMD(股骨颈和腰椎)呈显著负相关(分别为 $R^2 = 0.272$, $P < 0.05$; $R^2 = 0.287$, $P < 0.05$);此外,血清Fer水平与血清PINP水平之间存在显著正相关($R^2 = 0.092$, $P < 0.05$);血清Fer水平与血清 β -CTX水平呈显著正相关($R^2 = 0.115$, $P < 0.05$)。

表 1 正常、骨量减少和骨质疏松组患者的基线特征

Table 1 Baseline characteristics in normal bone density, osteopenia, and osteoporosis groups

参数	正常组	骨量减少组	骨质疏松组	P 值
年龄/年	66.22±11.23	70.83±9.78	77.87±10.56	0.015
股骨颈(T-Score)	-0.37±0.86	-1.76±0.78	-3.26±0.57	0.011
L ₁₋₄ (T-Score)	-0.36±0.66	-1.88±0.83	-3.54±0.56	0.001
身高/cm	158.26±5.68	158.66±5.67	154.55±4.53	0.456
体重/kg	57.67±9.66	59.56±8.67	49.55±9.46	0.744
BMI	23.42±3.33	23.63±3.65	20.45±3.87	0.004
绝经时间/年	15.83±9.74	19.94±8.33	27.44±11.73	0.007

表 2 三组患者的生化指标

Table 2 Biochemical indicators of the three groups of patients.

参数	正常组	骨量减少组	骨质疏松组	P 值
25-OH/(mmol/L)	43.55±9.44	43.34±19.44	44.76±22.45	0.285
Ca/(mmol/L)	2.27±0.34	2.34±0.25	2.19±0.32	0.456
P/(mmol/L)	1.07±0.19	1.11±0.17	1.10±0.25	0.729
血红蛋白/(g/L)	113.22±16.34	116.45±19.56	108.11±18.56	0.001
CRP/(mg/L)	8.04±4.34	8.89±4.66	9.98±5.88	0.129
WBC/(10 ⁹ /L)	6.98±2.50	6.77±2.46	6.23±2.53	0.114
N/%	70.76±10.57	69.98±9.46	71.15±9.22	0.136
总 CO ₂ /(mmol/L)	26.63±2.23	25.23±2.24	25.24±6.05	0.349
肌酐/(μmol/L)	53.23±8.36	56.83±20.06	58.35±14.45	0.479
尿酸/(μmol/L)	227.54±36.33	255.35±74.62	243.33±75.66	0.544
甘油三酯/(mmol/L)	0.89±0.44	1.23±0.33	1.31±1.34	0.733
总胆固醇/(mmol/L)	4.44±1.45	4.89±1.04	4.78±0.93	0.723
AST/(U/L)	21.33±5.67	25.67±19.67	24.76±11.55	0.324
ALT/(U/L)	17.87±7.55	18.03±20.45	19.88±12.44	0.873
葡萄糖/(mmol/L)	6.21±0.82	5.81±1.11	5.89±0.94	0.332
Fer/(μg/L)	120.45±43.33	224.44±98.24	312.50±101.44	0.002
TRF/(g/L)	2.10±0.22	1.91±0.34	1.60±0.25	0.008

3 讨论

骨骼由两组具有相反活动的细胞连续重塑,成骨细胞与骨形成有关,破骨细胞与骨吸收有关。当骨吸收率超过成骨细胞破骨细胞形成新骨的速度时,会发生钙、胶原和蛋白质的消耗。骨质疏松症被定义为“一种骨骼疾病,其特征是骨强度受损并且易于增加骨折风险”。前一个事实尤为重要,因为骨折是造成老年人死亡率和发病率显著的原因。根据 2005~2010 年美国国家健康与营养检查调查和 2010 年人口普查计数报告显示,50 岁及以上的美国人口中骨质疏松症的患病率为 10.3%,这意味着 2010 年美国约有 1 020 万老年人患有骨质疏松症^[9]。面对庞大的人口,迫切需要确定有效的危险因素,以尽量减少这种疾病对患者身体和家庭经济的影响。

国内女性的绝经年龄一般为 50 岁左右^[10];通常年龄越大,绝经年数越多,体内雌激素水平越低。

随着绝经后女性年龄的增加,其骨量从正常到骨量减少逐渐到骨质疏松。骨质疏松症患者的高度和体重均显示出明显的下降趋势,最终导致其 BMI 指数显著降低。CRP 是炎症反应的重要指标。骨量减少和骨质疏松症组的 CRP 显著增加,这再次证实了骨量减少或骨质疏松症与炎症反应相关^[11]。因此,研究骨质疏松症的炎症途径或相关途径也可能是治疗骨质疏松症的潜在方式。

许多体外研究表明,铁盐可以抑制羟基磷灰石晶体在无细胞和非酶促钙化模型中的生长,这表明铁对骨矿化有直接的抑制作用^[12],不依赖于细胞、蛋白质和酶。因此,骨质疏松症患者的血清 Fer 显著增加,BMD 显著下降。这再次证实了铁对骨密度的负面影响,绝经后时间越长,铁负荷就会越严重。此外,血清铁积累也可能是导致骨质疏松症患者炎症反应的重要因素之一,因为随着 Fer 的积累 CRP 逐渐增加。

碱性磷酸酶(ALP)由成骨细胞分泌并促进骨矿化。血清 ALP 升高被认为是主要增加成骨细胞活性的标志,或者其次是骨吸收增加的矫正反应^[13]。抗酒石酸酸性磷酸酶 5b 型(TRACP-5b)在骨吸收期间作为骨特异性同工酶释放到血流中,并且通常反映破骨细胞的活性和骨吸收的程度^[14]。骨由 17%~20% 的胶原和其他成分组成,骨胶原被认为有助于骨骼的韧性(骨折能量),减轻矿物质的脆性,并有助于骨骼强度^[15]。I 型胶原蛋白是最普遍存在的胶原蛋白,占成骨细胞分泌的细胞外基质中所有蛋白质的约 30%^[15]。此外,细胞外基质中胶原蛋白的改变成分和翻译后修饰引发并推动疾病进展^[15]。通过测量 I 型原胶原的 N-末端前肽(PINP)和羧基末端交联的端肽(CTX),可以将 I 型胶原评估为合成骨基质的生物标志物^[16]。PINP 在血清中以两种形式发生:作为完整的三聚体肽,其对应于 I 型胶原合成期间原胶原的分离产物和作为前胶原的降解产物的单体肽;I 型胶原在骨吸收期间将 CTX 释放到血流中,包括 α-CTX 和异构化的 β-CTX 形式,然而,α-CTX 只能在尿液中确定^[17]。β-CTX 和 PINP 是 I 型胶原的降解产物。

有研究已表明金属离子确实促进或抑制胶原蛋白的降解。例如,Osorio 等^[18]发现锌过量减少基质金属蛋白酶介导的胶原降解。Fer 水平上升导致铁氧化酶和铁蛋白水平增加,这会导致成骨细胞活性被抑制,出现骨重建失去平衡,导致骨质疏松症^[19]。动物实验表明去势大鼠给予铁螯合剂治疗,8 周后

检测结果显示,这些大鼠体内铁水平与骨量丢失存在相关性,降低体内铁水平可缓解骨量丢失和骨微结构受损,研究结果显示降低铁过载可明显减少骨吸收;进一步研究^[20]发现降铁剂可抑制活性氧产生和过氧化物酶增加,并激活受体 γ 辅助活化因子 (PGC-1 β) 表达,从而抑制破骨细胞分化及细胞骨架重构活性,降低骨吸收能力。这些结果从正反两面证实了 Fer 水平对骨密度和骨代谢的危害,与本次研究结果一致。

本研究仍存在一些不足,如铁过载对骨形成抑制的机制尚不清楚。但可以确定的是铁过载会增加骨质的降解,并导致骨强度显著降低。

【参 考 文 献】

- [1] Rishi G, Secondes ES, Wallace DF, et al. Normal systemic iron homeostasis in mice with macrophage-specific deletion of transferrin receptor 2 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(3): G171-180.
- [2] 姜宇, 徐义佳. 铁调素与骨质疏松鼠[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(2): 256-258.
- [3] Yamasaki K, Hagiwara H. Excess iron inhibits osteoblast metabolism [J]. *Toxicology Letters*, 2009, 191(2-3): 211-215.
- [4] Xiao W, Beibei F, Guangsi S, et al. Iron overload increases osteoclastogenesis and aggravates the effects of ovariectomy on bone mass [J]. *Journal of Endocrinology*, 2015, 226(3): 121-134.
- [5] 位艳伟, 柳达, 付平, 等. 血清铁蛋白与血清铁调素在老年原发性高血压合并骨质疏松中作用的研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(1): 87-90.
- [6] Chen B, Yan YL, Liu C, et al. Therapeutic effect of deferoxamine on iron overload-induced inhibition of osteogenesis in a zebrafish model [J]. *Calcified Tissue International*, 2014, 94(3): 353-360.
- [7] Lewiecki, Michael E. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 2008, 35(2): 301-315.
- [8] Chen B, Li GF, Shen Y, et al. Reducing iron accumulation: A potential approach for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2015, 10(1): 7-11.
- [9] Wright NC, Looker AC, Saag KG, et al. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine [J]. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2014, 29(11): 2520-2526.
- [10] Lahdenperä M, Mar KU, Lummaa V. Reproductive cessation and post-reproductive lifespan in Asian elephants and pre-industrial humans [J]. *Frontiers in Zoology*, 2014, 11(1): 1-14.
- [11] Thanakun S, Pornprasertsuk-Damrongsri S, Izumi Y. C-reactive protein levels and the association of carotid artery calcification with tooth loss [J]. *Oral Diseases*, 2017, 23(1): 69-77.
- [12] Maciejewska K, Drzazga Z, Kaszuba M. Role of trace elements (Zn, Sr, Fe) in bone development: energy dispersive X-ray fluorescence study of rat bone and tooth tissue [J]. *Biofactors*, 2014, 40(4): 425.
- [13] Seibel MJ. Clinical use of markers of bone turnover in metastatic bone disease [J]. *Nature Clinical Practice Oncology*, 2005, 2(10): 504-517.
- [14] Chao TY, Wu YY, Janckila AJ. Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b (TRACP-5b) as a serum marker for cancer with bone metastasis [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2010, 411(22): 1553-1564.
- [15] Wynnkyj C, Omelon S, Savage K, et al. A new tool to assess the mechanical properties of bone due to collagen degradation [J]. *Bone*, 2009, 44(5): 840.
- [16] Dragsbæk K, Neergaard JS, Hansen HB, et al. Matrix metalloproteinase mediated type I collagen degradation-an independent risk factor for mortality in women [J]. *Ebiomedicine*, 2015, 2(7): 723-729.
- [17] Jung K, Lein M. Bone turnover markers in serum and urine as diagnostic, prognostic and monitoring biomarkers of bone metastasis [J]. *BBA-Reviews on Cancer*, 2014, 1846(2): 425-438.
- [18] Osorio R, Yamauti M, Osorio E, et al. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants [J]. *Journal of Dentistry*, 2011, 39(2): 148-153.
- [19] Liu G, Men P, Kenner GH, et al. Therapeutic effects of an oral chelator targeting skeletal tissue damage in experimental postmenopausal osteoporosis in rats [J]. *Hemoglobin*, 2008, 32(1-2): 181-190.
- [20] Iwai K. Coordination of PGC-1 β and iron uptake in mitochondrial biogenesis and osteoclast activation [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15(3): 259.

(收稿日期: 2018-10-19; 修回日期: 2018-11-08)