

· 论 著 ·

血清 SM4D 水平与绝经后骨质疏松症患者骨密度和骨代谢指标的相关性研究

吴林清¹ 陈运崇¹ 张国如² 王婧婧³ 王继宏⁴ 温树正⁴ 潘富文^{1*}

1. 三亚中心医院骨科,海南 三亚 572000

2. 三亚中心医院脊柱与关节科,海南 三亚 572000

3. 三亚中心医院检验科,海南 三亚 572000

4. 内蒙古医科大学第二附属医院手足外科,内蒙古 呼和浩特 010000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 03-0392-04

摘要: **目的** 探讨绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, POP)患者血清 4D 同型二聚体(SM4D)水平与骨密度(bone mineral density, BMD)和骨转换指标的关系。**方法** 通过双能 X 线吸收测定法对 257 例 POP 患者和 90 例健康对照者进行 BMD 测量。通过酶联免疫吸附测定法测定受试者血清 SM4D、BAP、BGP 和 TRACP-5b 水平。使用自动电化学发光系统测量 I 型血清交联 N 端肽(NTX)、25-羟基维生素 D[25(OH)D]和骨钙素的 N-mid 片段水平(N-MID-OT)。**结果** 与健康对照组相比,POP 妇女的 SM4D 水平显著升高[(1.40±0.33) μg/L vs. (0.58±0.18) μg/L, $P=0.006$]。SM4D 水平与血清 TRACP-5b 和 NTX 水平呈正相关,与腰椎和股骨颈 BMD、血清 BAP 和 BGP 水平呈负相关。SM4D 水平与年龄、体质指数以及血清 25(OH)D 和 N-MID-OT 水平之间无相关性。腰椎和股骨颈骨密度($\beta=-0.354, P<0.001$; $\beta=-31.234, P<0.001$)和血清 BAP 水平($\beta=0.127, P=0.019$)是 POP 患者血清 SM4D 水平的独立预测因子。**结论** 绝经后骨质疏松症女性 SM4D 与骨密度和骨转换指标密切相关。

关键词: SM4D;绝经后骨质疏松症;骨密度;骨转换**Correlation between serum SM4D level and bone mineral density and bone metabolism indexes in postmenopausal osteoporosis patients**WU Linqing¹, CHEN Yunchong¹, ZHANG Guoru², WANG Jingjing³, WANG Jihong⁴, WEN Shuzheng⁴, PAN Fuwen^{1*}

1. Department of Orthopedics, Sanya Central Hospital, Sanya 572000

2. Department of Spine and Joint, Sanya Central Hospital, Sanya 572000

3. Department of Laboratory, Sanya Central Hospital, Sanya 572000

4. Department of Hand and Foot Surgery, Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, China

* Corresponding author: PAN Fuwen, Email: 2859975092@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the association of serum semaphorin 4D (SM4D) levels with bone mineral density (BMD) and bone turnover markers in patients with postmenopausal osteoporosis (POP). **Methods** BMD was measured by dual-energy X-ray absorptiometry in 257 POP patients and 90 healthy controls. Serum SM4D, BAP, BGP and TRACP-5b levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay. Serum cross linked N-telopeptides of type I (NTX), 25-hydroxyvitamin D[25(OH)D] and N-mid fragment of osteocalcin (N-MID-OT) levels were measured using automated electrochemiluminescence system. **Results** SM4D level was significantly higher in POP women compared to healthy controls [(1.40±0.33) μg/L vs. (0.58±0.18) μg/L, $P=0.006$]. SM4D level was positively correlated with serum TRACP-5b and NTX levels and negatively correlated with BMD and serum BAP and BGP levels. There were no correlations between SM4D level and age, body mass index, and serum 25(OH)D and N-MID-OT levels. BMD of lumbar spine and femoral neck ($\beta=-0.354, P<0.001$; $\beta=-31.234, P<0.001$) and serum BAP level ($\beta=0.127, P=0.019$) were the independent predictors of serum SM4D level in POP patients. **Conclusion** The SM4D and bone turnover indexes are closely related to bone density in postmenopausal women with osteoporosis.

* 通信作者: 潘富文, Email: 2859975092@qq.com

Key words: SM4D; postmenopausal osteoporosis; bone mineral density; bone turnover

骨质疏松症是临床最常见的骨骼疾病之一,特征是骨量降低和骨小梁微观结构的退变,导致脆性增加和骨折发生率明显升高^[1]。与绝经相关的骨质疏松症通常被称为绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, POP),因为受其影响的女性主要为绝经后女性^[2]。骨骼通过骨骼重塑进行连续更新,在此期间旧的骨组织被吸收,新骨形成,随后形成骨骼^[3]。当吸收和形成之间的平衡被破坏时,就会发生骨丢失;骨吸收与骨形成之间的平衡可以通过骨转换标志间接评估^[4]。最近,Love 等^[5]发现轴突导向因子 4D 同型二聚体(SM4D)与 α V β 3 整合蛋白异二聚体之间有很强的相似性,后者是骨吸收破骨细胞中表达最丰富的整合蛋白受体。Negishi-Koga 等^[6]的研究表明,与野生型动物相比,缺少 SM4D 小鼠的骨量、骨小梁厚度和骨强度更高;在切除卵巢的小鼠中,用抗 SM4D 抗体治疗可促进骨形成,而不会影响骨吸收。SM4D 主要在神经系统、血小板和卵巢中表达,并可能在神经突增生、神经元迁移和刺激血管生成中发挥重要作用^[7];SM4D 也参与小鼠卵巢的卵泡成熟^[8]。目前关于绝经后妇女血清 SM4D 水平与骨质疏松症之间的相关性研究有限,因此,本研究的目的是探讨 POP 患者血清 SM4D 水平与腰椎和股骨颈骨密度(bone mineral density, BMD)与骨转换标志物之间的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

本研究共纳入 257 例 POP 患者和 90 名健康的绝经后女性(对照组)。对于 POP 患者,纳入标准为:①绝经已经超过 12 个月;②POP 患者的平均 BMD 至少比正常成年人低 2.5 个标准差。排除标准:患有继发性骨质疏松症、先天性骨畸形、脊髓灰质炎、严重的肝脏或肾脏疾病,患甲状腺功能亢进或甲状腺功能减退、胶原蛋白疾病、糖尿病,患骨癌、骨软化病以及其他相关的骨关节疾病;在一年内接受过影响骨骼代谢药物的治疗,包括钙剂、降钙素、维生素 D、雌激素、双膦酸盐和雷洛昔芬;或先前接受过放射疗法的治疗。90 名对照组女性在三亚中心医院进行了体格检查,均被排除患有骨质疏松症和其他可能影响骨代谢的相关疾病。该研究获得了三亚中心医院机构审查委员会的批准(202001012)。

每位受试者均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 骨密度检测:BMD 是评估骨量的金标准,可用于评估骨量丢失的严重程度。在本研究中,腰椎(L₁₋₄)和左侧股骨颈(FN)的 BMD 通过双能 X 线骨密度仪(DEXA)(Norland XR-46 Excell plus, USA)测量。骨质疏松症定义为 T 值 < -2.5;批内和批间变异系数(CV)分别为 <1.4% 和 <2.6%。

1.2.2 血清指标检测:血清 SM4D、骨碱性磷酸酶(BAP)、骨钙素(BGP)和抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP-5b)的水平通过酶联免疫吸附测定(ELISA, R&D, USA)进行测定。批内 CV 分别为 3.6%~4.4%, 3.7%~4.3%, 3.3%~4.8% 和 4.0%~5.1%, 批间 CV < 6%。使用自动 Roche 电化学发光系统测量 I 型血清交联的 N-端肽(NTX)、25-羟基维生素 D(25(OH)D)和骨钙素的 N-mid 片段水平(N-MID-OT)。批内 CV 分别为 3.4%~4.2%, 3.7%~4.5%, 4.2%~5.5% 和 3.8%~5.3%, 批间 CV < 6%。

1.3 统计学分析

使用统计分析软件 SPSS 19.0 分析所有统计数据。数据使用均数 $\pm$ 标准差(SD)表示。组间的差异通过独立样本 *t* 检验进行评估。使用 Spearman 相关系数进行相关分析。在校正其他因素后,进行了多元回归分析以确定每个独立变量的影响。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者一般资料

研究人群的一般临床特征如表 1 所示。POP 患者的年龄、绝经年龄、体重、身高和体质量指数与健康对照组比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。POP 组血清 SM4D、TRACP-5b 和 NTX 水平均显著高于对照组(P 均 < 0.05)。POP 组血清 BGP 和 BAP 水平明显低于对照组(P 均 < 0.05)。POP 患者血清 25(OH)D 和 N-MID-OT 水平与对照组比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

2.2 SM4D 和其他指标相关性分析

血清 SM4D 水平与血清 TRACP-5b 和 NTX 水平呈正相关,与腰椎和股骨颈骨密度、BAP、骨钙素水平呈负相关。血清 SM4D 水平与年龄、体质量指

数、25(OH)D、N-MID 相比,未发现显著相关性。见表 2。

表 1 研究人群的特征和生化检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Characteristic and biochemical data of study population ($\bar{x} \pm s$)

参数	对照组 (n=90)	骨质疏松症组 (n=257)	P 值
年龄/岁	61.36±3.75	62.73±3.94	0.383
绝经年限/年	53.13±2.94	53.75±2.76	0.227
体重/kg	57.59±7.21	57.47±7.73	0.432
身高/m	1.54±0.09	1.55±0.07	0.374
BMI/(kg/m ²)	24.77±4.13	24.65±3.67	0.188
腰椎 BMD/(g/cm ²)	0.99±0.15	0.79±0.19	0.013
股骨颈 BMD/(g/cm ²)	0.972±0.09	0.660±0.100	0.006
T 值	-1.58±0.45	-3.42±0.83	0.008
SM4D/(μg/L)	0.58±0.18	1.40±0.33	0.006
BAP/(U/L)	60.28±15.33	33.17±9.22	0.008
BGP/(μg/L)	7.75±1.36	4.82±0.77	0.017
TRACP-5b/(U/L)	3.40±0.82	5.61±1.07	0.023
NTX/(μmol/L)	14.49±3.88	23.02±7.41	0.035
25(OH)D/(ng/mL)	15.77±6.33	16.02±7.13	0.582
N-MID-OT/(ng/mL)	17.07±6.44	16.96±5.96	0.633

表 2 POP 患者血清 SM4D 与年龄、BMI、BMD 和骨转换指标的相关性

Table 2 Correlations of serum SM4D with age, BMI, BMD, and bone turnover markers in POP patients

变量	r 值	P 值
年龄	0.005	0.768
BMI	-0.073	0.161
腰椎 BMD	-0.572	<0.001
股骨颈 BMD	-0.436	0.002
BAP	-0.396	0.007
BGP	-0.411	0.006
TRACP-5b	0.365	0.014
NTX	0.287	0.019
25(OH)D	0.058	0.227
N-MID-OT	0.045	0.169

2.3 多元回归分析结果

多元回归分析如表 3 所示。因变量为血清 SM4D 水平,自变量为年龄、BMI、腰椎和股骨颈骨密度、血清 BAP、BGP、TRACP-5b、NTX、25(OH)D 和 N-MID-OT 水平。结果表明,腰椎及股骨颈骨密度、血清骨钙素水平是 POP 患者血清 SM4D 水平的独立预测因子。

3 讨论

本研究结果表明,与对照组相比,POP 组患者的血清 SM4D 水平显著升高、血清 BAP 和 BGP 水平显著降低、血清 TRACP-5b 和 NTX 水平显著升高。血清 SM4D 水平与血清 TRACP-5b 和 NTX 水

表 3 POP 患者的多元回归结果

Table 3 Results of multiple regression in POP patients

变量	B 值	SE 值	β 值	t 值	P 值
年龄	-0.031	0.077	-0.019	-0.041	0.762
BMI	-0.024	0.172	-0.005	-0.087	0.883
腰椎 BMD	-33.122	4.270	-0.354	-7.574	<0.001
股骨颈 BMD	-31.234	3.967	-0.276	-7.432	<0.001
BAP	4.331	1.205	0.127	2.044	0.019
BGP	2.117	0.743	0.039	0.932	0.078
TRACP-5b	-0.176	0.175	-0.083	-1.277	0.097
NTX	-0.433	0.072	-0.065	-0.921	0.106
25(OH)D	0.067	0.059	0.034	0.771	0.459
N-MID-OT	-0.056	0.037	-0.073	-0.945	0.330

平呈正相关,与 BMD、血清 BAP 和 BGP 水平呈负相关,与年龄、BMI、血清 25(OH)D 和 N-MID-OT 水平之间无显著相关性。这些结果为调节绝经后妇女因骨质疏松引起的疼痛、骨折等问题及骨形成与骨吸收之间的平衡机制提供了新依据。本研究观察到的结果证实并扩展了先前研究报告的结果。

Dacquin 等^[9]已发表的体外数据显示,缺乏 SM4D 的原代破骨细胞出现铺展、粘附、迁移和吸收的损伤。在体内,由于破骨细胞的骨吸收不良,性成熟雌性小鼠中的 SM4D 缺失导致高骨量表型。在卵巢切除的 SM4D^{-/-}小鼠中,骨吸收表型被废除,提供了高骨量表型取决于卵巢功能的证据^[10]。Negishi-Koga 等^[9]的研究结果表明,SM4D 特异性抗体治疗可显著预防 POP 小鼠模型的骨丢失。综上所述,这些研究结果表明,SM4D 可能在破骨细胞功能中有重要作用,因此 SM4D 可能逐渐成为发现和开发骨合成代谢药物的新治疗靶标。

目前关于血清 SM4D 水平与 BMD 之间关系的临床研究有限。本研究中血清检测结果证实了 SM4D 和 BMD 之间呈负相关。BAP 介导成骨细胞增殖,而 BGP 参与骨矿化率的维持^[10-11]。两者均与本研究中的 POP 患者的血清 SM4D 水平呈负相关。TRACP-5b 和 NTX 决定骨吸收^[12]。因此,在本次临床研究中,两者均与 POP 患者的血清 SM4D 水平呈正相关。本研究结果显示的血清 SM4D 水平和骨密度及骨代谢指标之间的相关性可能与 SM4D 对破骨细胞的影响有关,由于 SM4D 生成增加表明破骨细胞的活性增加,导致骨代谢加速,因此出现骨代谢指标均升高,最终导致骨密度降低,骨量流失。

尽管这是一项关于 POP 患者血清 SM4D 水平与 BMD 相关性的临床研究,但该研究仍存在一定的局限性。首先,该结果应通过大规模研究进一步证实,因为只有一项已发表的研究表明 SM4D 在骨质

疏松小鼠模型中可作为有效的骨形成抑制剂^[6];其次,血清 SM4D 水平与骨质疏松性骨组织中局部因素之间的关联尚待阐明;第三,需要进行机制研究,而不是使用抗 SM4D 抗体促进去卵巢小鼠的骨形成。需要进行与抗罗莫单抗单克隆抗体相似的临床研究,该研究可提高绝经后妇女的骨密度和骨形成,并减少骨吸收^[13-14]。

总之,本研究结果表明 SM4D 可能与 POP 的发病机制有关,并且在骨骼形成和吸收中起着关键作用。SM4D 可能是治疗 POP 的新型治疗靶标。血清 SM4D 水平可作为 POP 的预测指标,并用于监测抗骨质疏松症的治疗。

【参 考 文 献】

- [1] 赵静,程亮.不同方式长期运动对老年女性骨密度的影响[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(1):50-53.
- [2] 许鹏超,李健阳,祝华,等.福州地区绝经后妇女随访骨密度年变化情况分析[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(1):21-24.
- [3] 张悦,李运峰.骨质疏松症动物模型研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(1):152-156.
- [4] 张慧君,沈志娟,覃小敏,等.低剂量结合雌激素与标准剂量 CEE 联合天然黄体酮或地屈孕酮对围绝经期综合征患者骨密度的影响研究[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(2):198-201.
- [5] Love CA, Harlos K, Mavaddat N, et al. The ligand-binding face of the semaphorins revealed by the high-resolution crystal structure of SEMA4D[J]. Nat Struct Biol, 2003, 10(10):843-848.
- [6] Negishi-Koga T, Shinohara M, Komatsu N, et al. Suppression of bone formation by osteoclastic expression of semaphorin 4D[J]. Nat Med, 2011, 17(11):1473-1480.
- [7] Rajabinejad M, Asadi G, Ranjbar S, et al. Semaphorin 4A, 4C, and 4D: Function comparison in the autoimmunity, allergy, and cancer[J]. Gene, 2020, 746:144637.
- [8] Regev A, Goldman S, Shalev E. Semaphorin-4D (Sema-4D), the Plexin-B1 ligand, is involved in mouse ovary follicular development[J]. Reproduct Biol Endocrinol, 2007, 5(1):123-129.
- [9] Dacquin R, Domenget C, Kumanogoh A, et al. Control of bone resorption by semaphorin 4D is dependent on ovarian function[J]. PLoS One, 2011, 6(10):e26627- e26632.
- [10] Aonuma H, Miyakoshi N, Hongo M, et al. Low serum levels of undercarboxylated osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women receiving an inhibitor of bone resorption.[J]. Tohoku J Exp Med, 2009, 218(3):201-205.
- [11] 庄铭城,王小燕,林泽伟.不同年龄段健康人群骨代谢指标 I 型前胶原 N 末端前肽的特点分析[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(2):268-272.
- [12] 姚洁,欧国峰,董博,等.抗疏强骨合剂结合基础抗骨质疏松药物治疗原发性骨质疏松症的疗效分析[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(1):79-84.
- [13] M Clung. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density[J]. N Engl J Med, 2014,370(5):412-420.
- [14] Miyauchi A, Dinavahi RV, Crittenden DB, et al. Increased bone mineral density for 1year of romosozumab, vs placebo, followed by 2years of denosumab in the Japanese subgroup of the pivotal FRAME trial and extension[J]. Archives of Osteoporosis, 2019, 14(1):59-65.

(收稿日期:2020-05-01;修回日期:2020-06-07)