

· 骨质疏松 ·

血清 OPG、TGF- β 和 IL-6 水平对绝经后骨量减少合并 2 型糖尿病患者骨折风险的预测

鲍晓雪 王娜 李玉坤 王燕 薛鹏

【摘要】目的 研究绝经后骨量减少合并 2 型糖尿病(T2DM)患者血清骨保护素(OPG)、转化生长因子- β (TGF- β)和白细胞介素-6(IL-6)水平的变化;评估血清 OPG、TGF- β 和 IL-6 水平对绝经后骨量减少合并 T2DM 患者 10 年骨折风险的影响;分析上述因子在绝经后 T2DM 患者骨折进展中的作用。**方法** 该回顾性研究共纳入 128 名绝经后骨量减少患者,其中 64 名合并 T2DM 患者($-2.5 < T$ 值 < -1.0)为实验组,并将 64 名单纯骨量减少患者(糖代谢正常)设置为对照组;比较两组骨密度(BMD)、血清 OPG、TGF- β 和 IL-6 水平;应用骨折风险评估工具对上述研究对象的 10 年骨折风险进行预测,评估不同血清因子与 10 年骨折风险的相关性。**结果** 绝经后骨量减少合并 T2DM 患者的 BMD 与单纯骨量减少患者的 BMD 之间没有统计学差异($Z=0.841, P>0.05$);绝经后骨量减少合并 T2DM 患者血清 OPG ($Z=2.264, P=0.024$)、TGF- β ($Z=2.836, P=0.005$) 和 IL-6 ($Z=2.431, P=0.015$) 水平高于单纯骨量减少患者;两组患者的血清 OPG、TGF- β 、IL-6 水平与 10 年骨折风险均存在相关性。**结论** 绝经后骨量减少合并 T2DM 患者的促炎细胞因子和 OPG 水平高于单纯骨量减少患者,促炎因子 TGF- β 和 IL-6 水平的升高对于预测绝经后骨量减少合并 T2DM 患者的骨折风险具有重要意义。

【关键词】 糖尿病, 2 型; 骨质疏松症; 血清反应因子; 骨折风险

Prediction of fracture risk in postmenopausal type 2 diabetes mellitus with osteopenia by serum OPG, TGF- β and IL-6 levels Bao Xiaoxue, Wang Na, Li Yukun, Wang Yan, Xue Peng. Department of Endocrinology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China
Corresponding author: Xue Peng, Email: hebmuxuepeng@163.com.

【Abstract】 Objective To evaluate the variations of serum OPG, TGF- β and IL-6 levels with bone loss in postmenopausal women with or without type 2 diabetes mellitus (T2DM), to elucidate the role of serum OPG, TGF- β and IL-6 levels in prediction for 10-year probability of fracture risk, and to explore the impact of serum OPG, TGF- β and IL-6 levels on the progression of type 2 diabetic fracture. **Methods** This study included 128 postmenopausal women who were diagnosed as osteopenia (areal bone mineral density at spine and hip of all subjects were measured by DXA, patients with T score more than -2.5 and less than -1.0 were diagnosed as osteopenia). They were divided into two groups, T2DM group and non-T2DM group. Besides of BMD, all subjects were measured the serum levels of OPG, TGF- β and IL-6. Furthermore, we predicted the 10-year probability of fracture risk in all cohorts by FRAX® and analyzed the correlations of the risk with serum levels of OPG, TGF- β and IL-6 in all subjects. **Results** There were no significant differences of BMD between the two groups ($Z=0.841, P>0.05$). However, the serum levels of OPG ($Z=2.264, P=0.024$), TGF- β ($Z=2.836, P=0.005$) and IL-6 ($Z=2.431, P=0.015$) in T2DM group were higher than that in non-T2DM group. Furthermore, the serum levels of OPG, TGF- β and IL-6 were correlated with the 10-year probability of fracture risk in T2DM group. **Conclusion** The serum levels of OPG, TGF- β and IL-6 increased in osteopenia patients with T2DM, suggesting that the increased inflammatory factors could be used as predictors for the 10-year probability of fracture risk in osteopenia patients with T2DM.

【Key words】 Diabetes mellitus, Type 2; Osteoporosis; Serum response factor; Fracture risk

近年来国民人均寿命不断延长,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)和骨质疏松症在老年人群中的患病率逐年提高,女性人群骨质疏松症发病率明显高于男性,以围绝经期和绝经后女性更为明显^[1]。Janas等^[2]研究认为女性绝经后雌激素的缺乏是导致骨质疏松症的首要因素。T2DM、骨质疏松症及相关骨折已经成为当前重要的公共健康问题。T2DM是一种伴随多种并发症的代谢性疾病,可引起骨矿物质代谢异常。有关T2DM、骨质疏松症及骨折三者关系的研究发现,T2DM患者的骨密度(bone mineral density, BMD)可为增高、不变或降低三种情况,无论其BMD如何变化,患者骨折的风险均明显增高^[3-4]。

慢性炎症是糖尿病的病理生理过程之一,糖尿病患者中常能检测出炎症细胞因子的升高,其中以白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)和转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)最为突出,炎症细胞因子大多作用于破骨细胞,促进破骨细胞的形成、分化和功能调节。近年来研究发现,糖尿病患者血清骨保护素(osteoprotegerin, OPG)水平显著高于非糖尿病者^[5],OPG/RANKL/RANK系统是研究骨质疏松病理机制的重要系统。本文就OPG、TGF- β 和IL-6水平与绝经后T2DM合并骨量减少患者的骨折风险的相关性展开研究。

资料与方法

一、一般资料

本研究选取2016年1月至2016年12月在河北医科大学第三医院骨密度室行骨密度检查的绝经后骨量减少合并T2DM的患者64例,另选取64例单纯骨量减少患者(糖代谢正常)设立对照。T2DM的诊断标准依据1999年WHO糖尿病诊断标准:(1)糖尿病症状+任意时间血浆葡萄糖水平 ≥ 11.1 mmol/L或(2)空腹血浆葡萄糖水平 ≥ 7.0 mmol/L,至少测2次或(3)OGTT试验中,2小时血浆葡萄糖水平 ≥ 11.1 mmol/L。所有患者均符合下述入选标准。

二、纳入和排除标准

入选标准:(1)女性,绝经时间 ≥ 1 年;(2)应用法国MEDI LINK公司生产的双能X线骨密度检测仪测定骨密度为低骨量者($-2.5 < T \text{值} < -1.0$)。

排除标准:(1)存在左髋关节置换术或左股骨头坏死等影响左股骨颈骨密度因素者;(2)腰椎或双髋手术等影响骨密度检测结果者;(3)1型糖尿病、严

重心衰、心梗、肝、肾功能不全者;(4)甲亢、甲旁亢等影响骨代谢疾病者;(5)长期卧床者;(6)长期口服影响骨代谢药物者,如维生素D、钙剂等。

本研究已获得本院伦理委员会及所有患者的知情同意。

三、研究方法

(一)研究对象

包括出生日期、体重、身高、既往骨折史、父母髋部骨折史、吸烟饮酒史、肾上腺皮质激素应用史、是否存在类风湿性关节炎病史及继发性骨质疏松症病史、既往史、用药史、钙剂服用史及绝经年限等。

(二)测定血清OPG、TGF- β 、IL-6水平

清晨两组患者空腹状态下抽外周静脉血4 ml。应用非抗凝的干燥管收集血样,室温静置15 min之后于2000 r/min离心机下离心20 min,收集上层血清保存于 -80°C 的超低温冰箱中。采用酶联免疫吸附法严格按照试剂操作说明书检测血清TGF- β 、IL-6和OPG水平。

(三)检测患者BMD

使用法国MEDI LINK公司生产的双能X线骨密度检测仪测定BMD,每次检测前均采用标准体模校正仪器性能,由同一人完成操作,系统自动给出BMD检测值及相应T值。本研究测定患者腰椎2~4(L₂~L₄)和双髋(股骨颈、大转子、粗隆间)BMD。

(四)计算FRAX指数

进入FRAX测评系统(网址:<http://www.shef.ac.uk/FRAX/>),选择“亚洲-中国-语言简体中文”录入数据。依据所收集的患者一般资料录入患者一般情况及相关骨折风险因子,并录入左侧股骨颈BMD。FRAX测评系统自动生成10年内髋部骨折概率和10年内主要骨质疏松性骨折概率。为保证数据完整准确,数据由2人分别输入,最后核对。

四、统计处理

采用SPSS 16.0统计软件进行数据分析,由于本研究计量资料不满足正态分布和方差齐性,以中位数(最小值,最大值)表示。两组患者年龄、左股骨颈BMD、血清OPG、TGF- β 、IL-6水平的比较采用秩和检验,两组患者血清OPG、TGF- β 和IL-6水平与骨折风险相关性分析采用spearman秩相关分析,检验水准 α 值取双侧0.05。

结 果

一、两组一般情况比较

糖尿病组与非糖尿病组患者的年龄、左股骨颈

和腰椎BMD数值差异无统计学意义,两组资料具有可比性,见表1。

二、两组血清OPG、TGF- β 、IL-6水平比较

研究发现,糖尿病组血清OPG、TGF- β 、IL-6水平平均高于非糖尿病组,差异有统计学意义,见表2。

三、两组患者血清OPG、TGF- β 和IL-6水平与10年骨折风险的相关性

研究发现,FRAX主要骨质疏松性骨折风险,糖尿病组为4.55(1.9, 10.0)%,非糖尿病组为4.0(1, 9.9)%,两者差异无统计学意义($Z=1.549$, $P=0.121$)。FRAX髌部骨折风险,糖尿病组为1.25(0.1, 6.4)%,非糖尿病组为1.2(0.1, 4.8)%,两者差异无统计学意义($Z=0.432$, $P=0.666$)。

两组患者血清OPG、TGF- β 和IL-6水平与其10年主要骨质疏松性骨折、髌部骨折风险均存在相关性($P<0.05$),见表3。

讨 论

T2DM和骨质疏松症患病率逐年增加,早期评估T2DM患者骨质疏松性骨折风险已成为临床上不

容忽视的课题。研究显示约有2/3的糖尿病患者伴有BMD减低,其中有近1/3的患者可诊断为骨质疏松症。糖尿病性骨质疏松症主要是指糖尿病患者体内的代谢因素发生变化,造成患者的骨组织结构发生变化,从而导致患者骨质中骨量流失速度加快,增加了骨折等疾病的发生率^[6]。T2DM患者长期维持较高的血糖水平,导致成骨细胞功能降低,推动骨质疏松病情的发展^[7-8]。老年女性骨量减少更快,骨折的发病率更高。研究证实雌激素可有效预防绝经妇女骨量丢失,但却无法使患者骨量恢复至绝经前水平^[9-10]。众所周知,女性绝经后雌激素水平迅速下降,雌激素缺乏时,破骨细胞功能增强,骨丢失加速,导致骨质疏松^[11]。因此绝经后T2DM患者应常规行双能X线骨密度检查,以实现骨质疏松症的早期诊断和治疗。

BMD在诊断及治疗骨质疏松症方面是目前可以量化的主要标准,但对于未发生骨折又有低骨量的人群,临床难以做出治疗决策,在这种情况下应运用FRAX评估每一位低骨量个体发生骨质疏松性骨折的绝对风险^[12-13],进而为临床制定治疗方案提供一定依据。本研究中两组患者的一般人口学特征和

表1 两组2型糖尿病患者年龄、左股骨颈及腰椎BMD比较

组别	例数	年龄(岁)	左股骨颈BMD	腰椎BMD
糖尿病组	64	65(52, 89)	0.73(0.58, 0.95)	0.74(0.61, 0.95)
非糖尿病组	64	65(44, 82)	0.71(0.56, 0.94)	0.76(0.56, 0.94)
Z值		0.322	0.841	0.779
P值		0.748	0.400	0.436

注: BMD为骨密度

表2 两组2型糖尿病患者血清OPG、TGF- β 、IL-6水平比较

组别	例数	OPG(pg/ml)	TGF- β (μ g/l)	IL-6(pg/ml)
糖尿病组	64	357.16(159.98, 543.25)	40.35(23.51, 66.25)	11.91(7.14, 17.48)
非糖尿病组	64	337.33(168.42, 537.51)	36.75(10.34, 64.58)	10.00(5.26, 18.34)
Z值		2.264	2.836	2.431
P值		0.024	0.005	0.015

注: OPG为骨保护素; TGF- β 为转化生长因子- β ; IL-6为白细胞介素-6

表3 两组2型糖尿病患者血清OPG、TGF- β 和IL-6水平与骨折风险相关性分析

	OPG		TGF- β		IL-6	
	相关系数	P值	相关系数	P值	相关系数	P值
FRAX主要骨质疏松性骨折	0.329	<0.001	0.427	<0.001	0.369	<0.001
FRAX髌部骨折	0.260	0.003	0.328	<0.001	0.394	<0.001

注: OPG为骨保护素; TGF- β 为转化生长因子- β ; IL-6为白细胞介素-6

左股骨颈BMD均无统计学差异,大量研究表明T2DM患者的BMD可有增高、不变或降低三种情况,无论BMD如何变化,患者骨折的风险均明显增高^[3-4]。本研究进一步探究T2DM患者骨折风险增加的原因,发现糖尿病组血清OPG、TGF- β 、IL-6水平均高于非糖尿病组,差异有统计学意义,且两组患者血清OPG、TGF- β 和IL-6水平与10年主要骨质疏松性骨折、髌部骨折风险均存在相关性。

一、IL-6与骨代谢

大量研究证实,糖尿病和骨质疏松有着相同的病理生理过程即慢性炎症,因此糖尿病患者血清中的炎性细胞因子呈增高趋势。IL-6是一种多功能细胞因子,正常人体血清中IL-6的含量随绝经出现或年龄增加而升高,一方面为女性绝经后,雌激素水平的下降可能会触发IL-6基因的表达式^[14],另一方面老年人T细胞免疫调节功能减退也会导致IL-6基因表达调节失控。此外,高血糖可促进胰岛细胞分泌IL-6。IL-6一方面能刺激破骨细胞前体细胞分裂增殖进而增加破骨细胞的数量,并刺激正常成熟的破骨细胞形成骨吸收陷窝,为破骨细胞发挥作用提供合适的微环境;另一方面IL-6可通过增加胶原酶的释放而促进骨基质降解,进而影响成骨细胞的活性。

二、TGF- β 与骨代谢

以往大量研究表明,TGF- β 能有效抑制骨吸收,高浓度的TGF- β 可促进成骨细胞合成OPG并降低核因子 κ B受体活化因子配基(receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)的活性。RANKL与核因子 κ B受体活化因子受体(receptor activator of nuclear factor kappa B, RANK)结合后可促进破骨细胞的分化、成熟,而OPG能够同RANKL竞争与RANK的结合,从而阻断上述效应。有研究证实骨髓间充质干细胞的TGF- β 信号通路能促进其增殖和成骨分化^[15-16]。不过近期一些实验得出不同的结论,Karst等^[17]证实TGF- β 能诱发破骨前体细胞表达RANK,通过RANKL-RANK机制促进破骨细胞的生长、分化。Koseki等^[18]也证实,TGF- β 在体外无基质细胞存在的情况下可促进破骨细胞的分化。在一项体外实验中TGF- β 可显著延长破骨细胞的寿命,并明显促进破骨细胞的分化。综上可见,TGF- β 在骨代谢方面具有双面性。Worster的体外实验证明了TGF- β 在低浓度时确实能促进成骨分化及骨髓间充质干细胞(MSCs)的增殖,而高浓度时则抑制MSCs增殖,并促进其主要分化为血管平滑肌细

胞。TGF- β 只有在骨形态发生蛋白同时存在的情况下,才可促进MSCs向成骨细胞转化。大鼠体内研究也证实,TGF- β 通过影响正常及病理状态下的骨骼形态而发挥促进骨形成和骨吸收的双重作用^[19]。

三、OPG与骨代谢

OPG/RANKL/RANK系统在破骨细胞的分化过程中起重要作用。OPG可以与RANKL竞争性地与RANK结合,抑制破骨细胞的分化和成熟。Yano等^[20]研究发现OPG的水平随年龄增加而升高,这一点在绝经后骨质疏松女性中尤为突出,其OPG浓度明显高于绝经后非骨质疏松女性。这表明绝经后女性OPG水平的升高是继发于年龄增长后骨吸收增强的一种代偿反应机制。朱明明^[21]研究发现糖尿病骨质疏松组血清OPG的水平高于糖尿病骨量减少组,糖尿病骨量减少组高于糖尿病骨量正常组,糖尿病骨量正常组高于非糖尿病组。Knudsen等^[22]研究发现血糖急性升高并不直接引起血浆OPG水平的升高,而高胰岛素血症会使血浆OPG水平降低,这表明糖尿病患者血浆OPG水平的升高并非直接由高血糖所致,而与高血糖引发的代谢异常有关。许多研究已证实糖尿病呈现慢性炎症反应状态,糖尿病患者体内炎性反应因子水平较高,OPG与炎性反应因子呈明显正相关,IL-6等炎性反应因子可刺激血管内皮细胞和人血管平滑肌细胞使OPG分泌增加。因此T2DM血清OPG浓度的升高,一方面为炎性反应因子的促进作用,另一方面可能是骨吸收增加的代偿性变化,以遏制进一步的骨丢失^[23]。

本研究存在一定不足。第一,本研究为回顾性研究,样本量较小,如果能增大样本量,研究结果将更具说服力;第二,本研究涉及的血清因子指标较为单一,比如,除IL-6之外,还有很多炎性因子与糖尿病及骨代谢相关,另外,除OPG外,还有很多血清因子可以作为骨代谢的重要标志物,希望在后续研究中能进一步证实上述因子对糖尿病及骨代谢的影响。

本研究发现血清OPG、TGF- β 和IL-6的水平对绝经后骨量减少合并T2DM患者的骨折风险有一定的预测意义,本研究由于样本量较少,研究数据存在一定的局限性,希望能开展更多的研究以进一步探究上述因子水平升高的分子机制。绝经后T2DM患者是骨折的高危人群,临床医师在加强血糖控制的同时,应密切监测患者的骨健康情况,及早干预,及早治疗。

参 考 文 献

- 1 刘君英, 阎德文, 邓建新, 等. 围绝经期2型糖尿病骨质疏松症治疗中胰岛素与阿仑膦酸钠的联合应用效果观察 [J]. 山东医药, 2017, 57(19): 69-71.
- 2 Janas A, Folwarczna J. Opioid receptor agonists May favorably affect bone mechanical properties in rats with estrogen deficiency-induced osteoporosis [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2017, 390(2): 175-185.
- 3 Watanabe R, Okazaki R. Diabetes mellitus and osteoporosis. Diabetes mellitus and bone and Calcium metabolism [J]. Clin Calcium, 2012, 22(9): 1307-1314.
- 4 Montagnani A, Gonnelli S, Alessandri MA. Osteoporosis and risk of fracture in patients with diabetes: an update [J]. Aging Clin Exp Res, 2011, 23(2): 84-90.
- 5 Xiang GD, Xu L, Zhao LS, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2006, 55(7): 2126-2131.
- 6 胡玲萍, 吴雪华. 老年男性2型糖尿病并发骨质疏松相关危险因素研究现状 [J]. 中国临床保健杂志, 2014, 12(1): 107-109.
- 7 谢楚海, 陈斌伟, 郭剑鸿, 等. 阿法骨化醇与骨化三醇对骨质疏松患者HOP、BALP及组织形态学的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(19): 5590-5591.
- 8 Hozayen WG, El-Desouky MA, Soliman HA, et al. Antiosteoporotic effect of Petroselinum crispum, Ocimum basilicum and Cichorium intybus L. in glucocorticoid-induced osteoporosis in rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1): 165.
- 9 Shin YA, Lee KY. Low estrogen levels and obesity are associated with shorter telomere lengths in pre- and postmenopausal women [J]. J Exerc Rehabil, 2016, 12(3): 238-246.
- 10 Bellet M, Gray KP, Francis PA, et al. Twelve-Month estrogen levels in premenopausal women with hormone Receptor-Positive breast cancer receiving adjuvant triptorelin plus exemestane or tamoxifen in the suppression of ovarian function trial (SOFT): the SOFT-EST substudy [J]. J Clin Oncol, 2016, 34(14): 1584-1593.
- 11 叶任高, 陆再英. 内科学 [M]. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 860-861.
- 12 Leslie WD, Lix LM, Johansson H, et al. Independent clinical validation of a Canadian FRAX tool: fracture prediction and model calibration [J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(11): 2350-2358.
- 13 Sornay-Rendu E, Munoz F, Delmas PD, et al. The FRAX tool in French women: how well does it describe the real incidence of fracture in the OFELY cohort [J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(10): 2101-2107.
- 14 肖扬, 李强翔, 王万春, 等. 骨质疏松症和细胞因子关系的新思考 [J]. 医学与哲学, 2006, 27(12): 60-62.
- 15 Lim J, Tu X, Choi K, et al. BMP-Smad4 signaling is required for precartilaginous mesenchymal condensation Independent of Sox9 in the mouse [J]. Dev Biol, 2015, 400(1): 132-138.
- 16 Zhou N, Li Q, Lin X, et al. BMP2 induces chondrogenic differentiation, osteogenic differentiation and endochondral ossification in stem cells [J]. Cell Tissue Res, 2016, 366(1): 101-111.
- 17 Karst M, Gorny G, Galvin RJ, et al. Roles of stromal cell RANKL, OPG, and M-CSF expression in biphasic TGF β regulation of osteoclast differentiation [J]. J Cell Physiol, 2004, 200(1): 99.
- 18 Koseki T, Gao Y, Okahashi N, et al. Role of TGF-beta family in osteoclastogenesis induced by RANKL [J]. Cell Signal, 2002, 14(1): 31-36.
- 19 Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation [J]. Nat Med, 2009, 15(7): 757-765.
- 20 Yano K, Tsuda E, Washida N, et al. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/ osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis [J]. J Bone Miner Res, 1999, 14(4): 518-527.
- 21 朱明明. 2型糖尿病患者血清骨保护素水平与氧化应激的关系 [J]. 现代医学, 2017, 45(3): 358-362.
- 22 Knudsen ST, Jeppesen P, Poulsen PL, et al. Plasma concentrations of osteoprotegerin during normo- and hyperglycaemic clamping [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2007, 67(2): 135-142.
- 23 Suzuki K, Kurose T, Takizawa M, et al. Osteoclastic function is accelerated in male patients with type 2 diabetes mellitus: the preventive role of osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin (OCIF/OPG) on the decrease of bone mineral density [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2005, 68(2): 117-125.

(收稿日期: 2017-06-12)

(本文编辑: 吕红芝)

鲍晓雪, 王娜, 李玉坤, 等. 血清OPG、TGF- β 和IL-6水平对绝经后骨量减少合并2型糖尿病患者骨折风险的预测 [J/CD]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2018, 4(1): 9-13.