

· 专家共识 ·

骨代谢生化指标临床应用专家共识(2019)



扫一扫下载全文

张萌萌^{1*} 张秀珍^{2*} 邓伟民^{3*} 张智海^{4*} 徐辉^{5*} 葛继荣^{6*} 王永福^{7*} 黄宏兴^{8*} 史晓林^{9*}
张东伟^{10#} 毛未贤^{11#} 马倩倩^{11#} 高远^{11#} 郭郡浩¹² 张红红¹³ 张晓梅¹⁴ 印平¹⁵ 赵方¹⁶
晁爱军¹⁷ 张岩¹⁸ 李英华¹⁹ 李毅中²⁰ 赵国阳²¹ 董红宇²² 吴岩²³ 吴淦²⁴ 邹军²⁵
周惠琼²⁶

- 1.《中国骨质疏松杂志》社,北京 100102
- 2.同济大学附属同济医院,上海 200065
- 3.中国人民解放军南部战区总医院,广东 广州 510010
- 4.航空总医院,北京 100012
- 5.吉林大学,吉林 长春 130012
- 6.福建省中医药研究院,福建 福州 350003
- 7.内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院,内蒙古 包头 014010
- 8.广州中医药大学第三附属医院,广东 广州 510240
- 9.浙江中医药大学附属第二医院,浙江 杭州 310005
- 10.北京中医药大学糖尿病研究中心,北京 100029
- 11.吉林省一汽总医院,吉林 长春 130011
- 12.中国人民解放军东部战区总医院,江苏 南京 210002
- 13.解放军总医院,北京 100853
- 14.北京大学国际医院,北京 102206
- 15.大连医科大学附属金山医院,辽宁 本溪 117000
- 16.辽宁省金秋医院,辽宁 沈阳 110016
- 17.天津医院,天津 300211
- 18.上海中医药大学附属龙华医院,上海 200003
- 19.上海市第五人民医院,上海 200240
- 20.福建医科大学附属第二医院,福建 泉州 362000
- 21.江苏大学附属医院,江苏 镇江 212000
- 22.首都医科大学北京市石景山医院,北京 100043
- 23.内蒙古医科大学,内蒙古 呼和浩特 010110
- 24.内蒙古科技大学包头医学院,内蒙古 包头 014040
- 25.上海体育学院,上海 200438
- 26.中国人民解放军总医院第四医学中心,北京 100037

中图分类号: R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 10-1357-16

摘要: 骨代谢生化指标包括钙磷代谢调节指标、骨形成标志物、骨吸收标志物、激素与细胞因子。骨代谢生化指标分别来源于骨、软骨、软组织、皮肤、肝、肾、小肠、血液及内分泌腺体等,是由成骨细胞或破骨细胞分泌的酶和激素,以及骨基质的胶原蛋白代谢产物或非胶原蛋白。骨代谢生化指标可及时反映骨转换状态,灵敏度高、特异性强,用于骨质疏松诊断分型、预测骨折风险、抗骨质疏松治疗疗效评价,以及代谢性骨病的鉴别诊断。并且在骨质疏松流行病学、发病机制、骨质疏松药物的研究方面具有重要的临床意义。

关键词: 骨代谢; 钙磷代谢调节指标; 骨形成标志物; 骨吸收标志物; 激素; 细胞因子

* 通信作者: 张萌萌, Email: zhmm5866@163.com

#: 共同第一作者

Expert consensus on clinical application of biochemical indicators of bone metabolism (2019)

ZHANG Mengmeng^{1,*}, ZHANG Xiuzhen^{2*}, DENG Weimin^{3#}, ZHANG Zhihai^{4*}, XU Hui^{5*}, GE Jirong^{6*}, WANG Yongfu^{7*}, HUANG Hongxing^{8*}, SHI Xiaolin^{9*}, ZHANG Dongwei^{10*}, MAO Weixian^{11*}, MA Qianqian^{11*}, GAO Yuan^{11*}, GUO Junhao¹², ZHANG Honghong¹³, ZHANG Xiaomei¹⁴, YIN Ping¹⁵, ZHAO Fang¹⁶, ZHAO Aijun¹⁷, ZHANG Yan¹⁸, LI Yinghua¹⁹, LI Yizhong²⁰, ZHAO Guoyang²¹, DONG Hongyu²², WU Yan²³, WU Di²⁴, ZOU Jun²⁵, ZHOU Huiqiong²⁶

1.Chinese Journal of Osteoporosis ,Beijing 100102

2.Tongji Hospital affiliated Tongji University Shanghai 200065

3.General Hospital of Southern Theater of the COMMAND ,Guangzhou 510010

4.Aviation General Hospital , Beijing 100012

5.Jilin University , Changchun 130012

6.Fujian Academy of Chinese Medicine , Fuzhou 350003

7.The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College , Inner Mongolia University of Science and Technology , Baotou 014010

8.The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine , Guangzhou 510240

9.The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University of Chinese Medicine , Hangzhou 310005

10.Diabetes Research Center , Beijing University of Chinese Medicine , Beijing 100029

11.FAW General Hospital of Jilin Province , Changchun 130011

12.General Hospital of Eastern Theater of the COMMAND , Nanjing 210002

13.PLA General Hospital , Beijing 100853

14.Peking University International Hospital , Beijing 102206

15.Jinshan Hospital Affiliated to Dalian Medical University , Benxi 117000

16.Jinqiu Hospital of Liaoning Province , Shenyang 110016

17.Tianjin Hospital , Tianjin 300211

18.Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Chinese Medicine , Shanghai 200003

19.The fifth People's Hospital of Shanghai , Shanghai 200240

20.The Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University , Quanzhou 362000

21.Affiliated Hospital of Jiangsu University , Zhenjiang 212000

22.Shijingshan Hospital , Capital Medical University , Beijing 100043

23.Inner Mongolia Medical University , Hohhot 010110

24.Baotou Medical College , Inner Mongolia University of Science and Technology , Baotou 014040

25.Shanghai University of Sport , Shanghai 200438

26.The Fourth Medical Center of General Hospital of the Chinese People's Liberation Army , Beijing 100037 , China

* Corresponding author: ZHANG Mengmeng , Email: zhmm5866@163.com

#: Co-first author

Abstract: The bone metabolism biochemical markers included calcium and phosphorus metabolism indicators , bone formation markers , bone resorption markers , hormone and cytokine. The bone metabolism biochemical markers were derived from the bone , cartilage , soft tissue , skin , liver , kidney , small intestine , blood , endocrine glands , and so on. They were enzymes and hormones secreted by osteoblasts or osteoclasts , and the product or non-collagen proteins of metabolic bone collagen matrix. The bone metabolism biochemical markers could reflect the state of bone turnover promptly , with high sensitivity and specificity , it had been used in osteoporosis diagnosis , prediction of fracture risk , curative effect observation of drug treatment , and the differential diagnosis of metabolic bone disease. And it had important clinical significance in epidemiology , pathogenesis and drug research of osteoporosis.

Key words: bone metabolism; calcium and phosphorus metabolism indicator; bone formation markers; bone resorption markers; hormone; cytokine

骨是具有新陈代谢的活组织 ,由破骨细胞吸收旧骨、成骨细胞生成等量新骨取代以完成骨转换 在

伴随人一生的骨转换过程中 ,骨代谢生化指标(bone metabolism biochemical indicators) 发挥重要调节

作用^[1]。

骨代谢生化指标包括:钙磷代谢调节指标、骨形成标志物、骨吸收标志物、激素与细胞因子。其中骨形成标志物与骨吸收标志物合称为骨转换标志物。

骨代谢生化指标分别来源于骨、软骨、软组织、皮肤、肝、肾、小肠、血液及内分泌腺体等,是由成骨细胞或破骨细胞分泌的酶和激素,以及骨基质的胶原蛋白代谢产物或非胶原蛋白。

目前临床上的检测方法包括:酶标免疫分析(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、化学发光免疫测定(chemiluminescence immunoassay, CLIA)、电化学发光免疫分析(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)、放射免疫分析(radio immunoassay, RIA)、免疫放射分析(immunoradiometric assay, IRMA)、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)及比色法等。

骨代谢生化指标虽不能作为骨质疏松诊断的金标准,但通过检测血、尿中骨代谢生化指标水平,可以了解骨组织新陈代谢的情况,用于评价骨代谢状态、骨质疏松诊断分型、预测骨折风险、抗骨质疏松治疗疗效评价,以及代谢性骨病的鉴别诊断。在骨质疏松发病机制、骨质疏松药物的研究及流行病学研究方面具有重要的临床意义。

1 钙磷代谢调节指标

在骨代谢调节过程中,主要的钙磷代谢调节指标包括甲状旁腺素、降钙素和维生素D₃。

1.1 甲状旁腺素

甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)是由甲状旁腺主细胞分泌的、含有84个氨基酸的碱性单链多肽,人的PTH基因定位在11号染色体短臂(11p15)。对维持机体钙磷平衡和调节骨代谢起着重要作用。PTH与骨、肾等组织表面的受体结合,促使血钙水平升高,血磷水平下降^[1]。PTH可精细调节骨的合成、分解代谢,对成骨细胞和破骨细胞的分化、成熟、凋亡发挥重要作用。

PTH分泌受多种因素的调节,如维生素D、钙、磷、蛋白激酶、性腺类固醇类激素等。高血钙抑制PTH分泌,低血钙上调PTH表达。活性维生素D可抑制PTH基因转录,使PTH分泌减少。

PTH促进骨吸收和骨转换,动员骨钙入血,血钙升高。首先,PTH直接刺激破骨前体细胞,增加成熟的破骨细胞数量,破骨细胞功能增强,骨吸收增

加。有研究表明PTH可通过甲状旁腺素受体信号通路,上调破骨细胞核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)的表达,从而诱导骨吸收^[2]。其次,PTH与成骨细胞或成骨细胞前体细胞结合,抑制其活性,包括抑制I型胶原的合成和骨基质蛋白的合成。

研究表明,PTH对骨形成和骨吸收具有双重效应,PTH的生物效应取决于其作用剂量,在持续大剂量PTH的作用下,破骨细胞活性超过成骨细胞,导致骨丢失大于骨形成。间歇性小剂量PTH促进骨形成^[3]。

PTH增高,见于原发性甲状旁腺功能亢进、异位性甲状旁腺功能亢进、继发于肾病的甲状旁腺功能亢进、假性甲状旁腺功能减退等。PTH减低,见于甲状腺手术切除所致的甲状旁腺功能减退症、肾功能衰竭和甲状腺功能亢进所致的非甲状旁腺性高血钙症等^[4]。

测定血清PTH是诊断PTH相关性骨病的最重要指标,在判断和鉴别原发性和继发性甲状旁腺功能亢进时,可结合血钙、血磷和维生素D水平一起分析。PTH测定方法有生物学法、RIA、IRMA、ELISA等。其中,放射免疫分析法对测定循环中的PTH具有足够的敏感性且易于常规应用。酶联免疫法用以测定人体血中完整的PTH含量。

临床上诊断骨质疏松时,当血钙异常时,为查找原因常检测PTH,而当血钙正常时,通常不常规检测PTH,但血钙正常PTH也有升高现象。在应用二磷酸盐类药物治疗骨质疏松时,由于抑制破骨细胞的作用,使得血钙减低,PTH分泌增加,血中PTH轻度升高,同时激发维生素D合成增加^[5]。

1.2 降钙素

降钙素(calcitonin, CT)是一种重要的参与钙磷代谢调节的多肽类激素。在人体内由甲状腺滤泡旁细胞(parafollicular cells,又称明亮细胞或C细胞)产生和分泌^[1],是含有32个氨基酸的多肽激素,是Copp等研究者于1961年首次发现^[6],主要生理作用是降低破骨细胞的数量、抑制破骨细胞的活性,减少骨吸收;抑制小肠对钙离子的吸收,降低体内血钙浓度,使血中游离钙向骨组织中转化;抑制肾小管远端对钙磷的重吸收,增加尿钙排泄;还可直接作用于人成骨细胞,刺激成骨细胞增殖和分化。此外,降钙素对许多骨代谢疾病所引起的骨痛症状也具有较好的缓解作用^[7-8]。降钙素与甲状旁腺激素、1,25(OH)₂D₃共同维持人体内血钙的稳定。

降钙素主要的靶细胞为破骨细胞,通过与靶细胞膜上的降钙素受体(calcitonin receptor,CTR)特异性结合而产生作用^[9]。降钙素对破骨细胞的骨吸收功能有明显的抑制作用,成熟的降钙素是骨吸收的关键调节剂。通过对破骨细胞的增殖和凋亡进行调节,降钙素抑制破骨细胞的活性与增殖。此外,降钙素还可抑制破骨细胞的其他成分如酸性磷酸酶等生成。

降钙素对成骨细胞亦有直接作用。降钙素可以增加成骨细胞碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)的活性,促进骨的形成和矿化过程。降钙素可以促进成骨细胞增殖和分化,有利于骨形成,增加骨密度,提高骨骼的生物力学稳定性。降钙素可增加松质骨骨量,降低绝经后骨质疏松发生椎骨骨折的危险性,使腰椎骨密度(bone mineral density,BMD)少量增加,并适度降低骨转换。

与甲状旁腺素相比,降钙素对血钙的调节作用快速而短暂,即启动快,在1 h内就可达到高峰,但是持续作用时间较短,很快被PTH的代偿作用所抵消。降钙素在血浆中极易灭活,其半衰期很短,通常不超过15 min,在血液中的含量甚微。目前检测降钙素的实验方法有生物测定法和放射免疫测定法。

血清降钙素测定可用于诊断降钙素缺乏症。降钙素水平减低,见于重度甲状腺功能亢进、甲状腺手术切除等^[1]。血降钙素水平升高,见于甲状腺髓样癌、产生降钙素的异位肿瘤、原发性甲状腺功能亢进症、慢性肾病、原发性甲状旁腺机能减退症、肢端肥大症、其他如恶性贫血、高钙血症、脑膜炎、胰腺炎等,某些内分泌激素如胰高血糖素和胃泌素升高,也可使降钙素水平升高。降钙素具有良好的缓解骨质疏松症骨痛的作用,对临床骨质疏松、骨质疏松性骨折及变形性骨炎的治疗^[10-11]具有重要作用。

1.3 维生素D3

维生素D3是自然存在的脂溶性维生素,属类固醇激素^[12]。在人类30余种细胞及组织器官都发现了维生素D3受体的表达^[13-14]。

维生素D3是所有生物活性物质中一种非常独特的成分,具有多重作用,它是维生素,但本质上是激素,还可能是细胞因子。维生素D3参与机体免疫应答、细胞生长、分化、凋亡等生理和病理学过程^[13-15]。

人体内维生素D的来源有内源性合成和外源性吸收两种。内源性合成指在阳光或紫外线照射下,存在于大多数高等动物表皮组织的7-脱氢胆固醇

经光化学反应转化成维生素D3^[16]。环境因素(香烟、空气微粒、吸入性氧化剂等)、日照、地理纬度、年龄因素、皮肤因素、种族、人工紫外线等都影响维生素D3的合成^[17]。外源性吸收指人类通过摄取含有维生素D2或D3的饮食来补充体内维生素D含量。

1,25(OH)₂D₃能够促进小肠黏膜细胞合成钙结合蛋白,增加小肠黏膜对钙的吸收,增加磷吸收。在肾脏,1,25(OH)₂D₃能够增加近端肾小管对钙、磷的重吸收,升高血钙水平,增加骨密度。在骨组织中,1,25(OH)₂D₃直接作用于骨的矿物质代谢,促进骨基质形成及类骨质矿化。

血清1,25(OH)₂D₃的水平可反映体内活性维生素D的绝对含量,但其在体内代谢快、半衰期短(6~8 h,5~7 d)、储存少,25(OH)D₃是人体内维生素D的主要储存形式,是反映机体维生素D代谢最好、最重要的指标,临床上一般通过监测血清25(OH)D₃的含量来反映血液维生素D3的水平。目前多数学者认为,血清25(OH)D₃>30 ng/mL(75 nmol/L)为维生素D充足,20~30 ng/mL(50~75 nmol/L)为维生素D不足,<20 ng/mL(50 nmol/L)为维生素D缺乏,<10 ng/mL(25 nmol/L)为维生素D严重缺乏。按照这一标准,维生素D不足或缺乏相当普遍。

维生素D3缺乏或不足可导致继发性甲状旁腺功能亢进。维生素D3缺乏与心血管病、肿瘤、糖尿病、慢性肾病、自身免疫性疾病密切相关。国内外众多学者对维生素D3进行了大量研究。

维生素D3缺乏已成为国内乃至全球的公共健康问题,严重影响人们的生活质量。国内外多项流行病学研究结果显示,维生素D3不足的发生率高达30%~80%,老年人、较贫困地区的发病率可能更高,全球近10亿人维生素D3不足或缺乏,且逐年上升。40%~100%的欧美老人存在维生素D3缺乏;50%的绝经后骨质疏松妇女药物治疗时存在维生素D3不足[25(OH)D₃水平小于30 ng/mL(75 nmol/L)]。维生素D3缺乏已成为世界范围的公共健康问题。

深入研究维生素D3与人类疾病发生的关系,研究维生素D3缺乏导致的骨质疏松及其与维生素D3代谢相关疾病的预防、治疗具有重要的、深远的意义。

2 骨形成标志物

骨形成标志物包括骨特异性碱性磷酸酶、骨钙

素、I型前胶原C-端前肽/N-端前肽、骨保护素。

2.1 骨特异性碱性磷酸酶

ALP是指碱性条件下水解多种磷酸酯并具有转磷酸基作用的一组糖蛋白酶。骨特异性碱性磷酸酶(bone specific alkaline phosphatase, BALP)是成骨细胞的一种细胞外酶,其主要作用是在成骨过程中水解磷酸酯,为羟基磷灰石的沉积提供磷酸,同时水解焦磷酸盐,解除其对骨盐形成的抑制作用,有利于成骨。

BALP的增殖、分化和成熟与骨骼的正常生长发育密切相关。BALP合成于骨基质成熟阶段,与骨基质矿化密切相关,在碱性环境中骨矿化活跃,成骨细胞释放的血清碱性磷酸酶可水解无机磷酸盐,进而降低焦磷酸盐浓度,利于骨的矿化。骨骼矿化受阻时,成骨细胞合成大量碱性磷酸酶,使血清BALP明显升高。

骨特异性碱性磷酸酶参与骨形成过程,在血清中稳定,是成骨细胞成熟和具有活性的标志^[1]。临床研究表明, BALP水平与成骨细胞和前成骨细胞活性呈线性关系,血清BALP定量测定与动态观察可作为监测骨形成变化的有效参数。BALP被认为是最精确的骨形成标志物之一。血清BALP定量测定与动态观察对骨代谢疾病,特别是骨质疏松症的早期诊断、治疗效果的监测、病情预后的判断等提供有效的依据。

目前主要采用免疫分析法测定,包括单克隆抗体的免疫放射测定法和酶联免疫分析法,但是这类检测方法的特异性并不完全,与肝源性ALP有一定的交叉,因此,当血清BALP升高时,临床上需要综合分析。

骨特异性碱性磷酸酶能够反映骨细胞的形成和活动状态,稳定性好,半衰期长。血清BALP定量测定与动态观察对骨代谢疾病的早期诊断、治疗效果的监测、病情预后的判断等提供有效的依据。高转换的代谢性骨病均可有ALP和BALP的增高,如变形性骨炎(Paget's病)、原发和继发性甲状旁腺功能亢进、甲状腺功能亢进、高转换型骨质疏松症及佝偻病和软骨病、骨转移癌等^[18-19]。应用二膦酸盐类药物治疗骨质疏松可以使骨特异性碱性磷酸酶下降,而这种下降往往在骨密度增加之前,所以BALP是骨质疏松治疗疗效评价的重要指标。

2.2 骨钙素

骨钙素(osteocalcin, OC或bone gla protein, BGP)又称为 γ -羧基谷氨酸骨蛋白(R-hydroxy

glutamic acid protein, GLa蛋白),是由非增殖期成骨细胞合成和分泌的一种特异非胶原骨基质蛋白,由49个氨基酸组成,是骨组织内非胶原蛋白的主要成分,属于非胶原酸性糖蛋白,是一种维生素K依赖性钙结合蛋白。骨钙素是骨基质矿化的必需物质,目前已能将血液中的羧基化、部分羧基化和未羧基化的BGP区别开来。在骨吸收和骨溶解时,沉积在骨基质中BGP的片段,如游离的 γ -羧基谷氨酸就会游离出来^[18],这类多肽在血中的量则表示骨吸收的变化。骨钙素在调节骨钙代谢中起重要作用,成熟的骨钙素主要沉积于骨组织间质细胞外和牙质中,少部分释放入血循环中^[19]。

骨钙素是骨组织含量最丰富的非胶原蛋白,占非胶原蛋白的10%~20%,主要由成熟的成骨细胞(osteoblast, OB)、成牙质细胞和增生的软骨细胞合成^[20]。成熟的BGP分子大部分进入细胞外骨基质中,小部分进入血循环,从骨释放入血的时间大约为3h,血中半衰期为4~5min,大部分经肾脏过滤并分解排泄,肾脏功能影响血中骨钙素水平。血清骨钙素可用免疫法测定。

骨钙素的主要功能是定位羟基磷灰石,在骨形成和骨吸收时均释放BGP,因此,骨钙素反映了骨代谢的总体水平。在成骨细胞发育成熟的3个阶段,成骨细胞活化增殖期、细胞外基质成熟期、基质矿化期中,骨钙素只有在第三期基质矿化后开始表达。

骨钙素是反映骨形成的特异性生化指标,不仅参与骨吸收的调节,更重要的是参与基质的矿化过程及成骨细胞分化,与骨转换相关,能够维持骨的正常矿化速率,抑制软骨的矿化速率,并抑制骨异常的羟磷灰石结晶形成^[21]。因此, BGP通常被认为是反映骨形成的生化指标。临床上,血清骨钙素水平与成骨功能变化相关。

血清骨钙素浓度升高时提示骨形成速率加快,主要见于儿童生长期、成骨不全、肾功能不全、骨折、变形性骨炎、肿瘤骨转移、低磷血症、甲状腺功能亢进症、甲状旁腺功能亢进症、高转换骨质疏松症、尿毒症、佝偻病、卵巢切除术后等。

BGP降低见于甲状腺功能减退症、肾上腺皮质功能亢进症、长期使用糖皮质激素、肝病、糖尿病患者及孕妇等。抗骨吸收药物可使BGP水平下降,刺激骨形成治疗则使BGP水平上升。

血清骨钙素水平与年龄呈明显负相关,但女性在绝经后骨转换增快, BGP再度升高,进入老年后

BGP 逐渐下降^[22]。单独使用 BGP 或者联合使用 BMD 测量,能更好地判断骨丢失率,间接预测骨折风险^[23-25]。血清中骨钙素水平能够直接反映骨质疏松患者成骨细胞活性和骨形成情况,对使用抗骨质疏松药物治疗中患者血药浓度的动态变化也有一定参考价值^[26]。临床上,骨钙素检测联合其他骨代谢指标被广泛应用于辅助绝经后骨质疏松诊断、抗骨吸收治疗疗效监测和骨折风险预测等方面。

2.3 I型前胶原 C-端前肽/N-端前肽

骨组织主要由有机质、无机矿物质、骨细胞和水组成。有机质约占骨干重的 35%,其 90%~98% 为 I 型胶原。I 型胶原是人体内含量最丰富的胶原类型,也是矿化骨中唯一的胶原类型,其合成与分解的代谢产物可间接反映骨转换的状况。

I 型胶原衍生自一个较大的蛋白,即 I 型前胶原。前胶原在成骨细胞内质网上合成,经高尔基复合体分泌出细胞,细胞外液中存在的内切肽酶使分泌出来的前胶原水解,去除其羧基及氨基端的附加肽段(extension peptide),生成原胶原,此后众多的原胶原再聚合成骨的胶原纤维。前胶原去除下来的羧基端附加肽段称 I 型前胶原羧基末端肽(type I procollagen carboxyl-terminal peptide, PICP),氨基端附加肽段称 I 型前胶原氨基末端肽(type I procollagen amino-terminal peptide, PINP)。PICP 或 PINP 在血清中的含量反映成骨细胞合成骨胶原的能力,构成监测成骨细胞活力和骨形成的基础实验室指标^[27]。PICP 相对分子质量为 10 000,血中半衰期为 6~8 min,经肝脏网状内皮细胞处, PINP 代谢类同。其血液中的含量主要反映 I 型胶原的合成速率和骨转换的情况,是新骨形成的特异性的敏感指标。

骨代谢疾病、肾功能不全患者血清总 PINP 升高。儿童发育期、妊娠晚期、骨肿瘤、骨转移、畸形性骨炎、酒精性肝炎、绝经后妇女、肺纤维化、严重肝损害等血清 PICP 升高^[28]。

Chen 等^[29]对患有骨质疏松的绝经后妇女使用特立帕肽治疗后发现,在所研究的骨代谢指标 BALP、PICP、PINP、D-Pyr、NTX 中, PICP 和 PINP 是治疗后 BMD 增加最佳的预测指标。张萌萌等^[22]研究结果表明,骨质疏松患者无论男性、女性血清 PINP 水平明显低于正常组,且与股骨颈 BMD 正相关,说明骨质疏松患者成骨细胞功能衰退,合成胶原减少,骨形成减少。综合多项研究,在众多骨代谢指标中, PICP、PINP 在预测骨质疏松的发生、评价骨

量、监测抗骨质疏松疗效等都有较高的特异性和敏感性, PINP 表现得尤为明显,且不受激素影响^[30],在临床研究和应用中有着重要的意义。因此,推荐空腹血清 PINP 为反映骨形成敏感性较高的标志物^[31]。

2.4 骨保护素

骨保护素(osteooprotegerin, OPG)又称护骨素、骨保护蛋白、破骨细胞生成抑制因子,由 Simonet 等于 1997 年首次在大鼠小肠表达序列标签 cDNA 计划中克隆得到,是可溶性肿瘤坏死因子受体超家族中的新成员。在骨髓基质细胞、成骨细胞、成纤维细胞等细胞中均有表达^[32]。OPG 主要通过 OPG/核因子 κ B 受体活化因子(RANK)/RANK 配体(RANKL)系统发挥调节骨代谢作用。OPG 的主要作用是影响骨代谢,可抑制破骨细胞(osteoclast, OC)发生,并促进成熟 OC 的凋亡^[33]。

OPG 是一种含 401 个氨基酸残基的蛋白质,人 OPG 基因定位在染色体 8q23~24。Southern 印迹显示 OPG 只有 1 个基因,长 27 kb,包括长度为 270、367、192、225 和 1 765 bp 的 5 个外显子^[34]。OPG 基因编码一段含有 401 个氨基酸残基的前体蛋白质, N 末端 21 个氨基酸残基裂解后成为成熟的 OPG。OPG 蛋白质分子具有两种形式,即 60 kDa 的单体和膜结合的同二聚体。其单体和二聚体分子生化特性相似,但二聚体分子具较强的肝素结合能力,单体分子则在生物体内的半衰期更长^[6]。

OPG mRNA 广泛表达于多种组织和细胞系,其中以肺、心脏、甲状腺和骨的表达最多。许多成骨细胞谱系细胞、动脉平滑肌细胞、内皮细胞、树突细胞及 B 淋巴细胞也有高水平表达^[35]。研究表明,OPG 的表达受到体内多种激素和细胞因子调控。

OPG/RANKL/RANK 系统是近年来发现的在破骨细胞分化过程中的一个重要信号传导通路,其主要机制是:(1)成骨细胞及骨髓基质细胞表面表达 RANKL,与破骨细胞前体细胞或破骨细胞表面上的 RANK 结合后促进破骨细胞的分化,从而引起骨溶解。(2)成骨细胞及骨髓基质细胞分泌表达 OPG,与 RANKL 竞争性结合,阻止 RANKL 与 RANK 之间的结合,或与 RANKL/RANK 结合体结合成三聚体,直接抑制 RANKL/RANK 的作用,从而抑制骨溶解的产生^[32]。

经离体实验显示,OPG 可提高骨密度,增加骨小梁骨量,减少破骨细胞数,控制钙的吸收,还可以

通过抑制破骨细胞 f-肌动蛋白环形成抑制骨吸收或干扰基质细胞与破骨细胞之间的相互作用,诱导破骨细胞凋亡^[35]。有研究发现,OPG 基因敲除大鼠有骨质疏松症状^[36],这与缺乏 OPG 而不能阻止 RANKL 和 RANK 的结合有关。程少丹等^[37]通过非频密繁殖法获得 OPG^{-/-}小鼠,发现与同龄野生型小鼠比较,OPG 基因缺失小鼠骨密度、股骨承受最大载荷、股骨刚度、腰椎椎体骨小梁数目和腰椎椎体骨小梁厚度均显著下降,证实与大鼠一样,OPG 基因缺失的小鼠也产生骨质疏松初期症状。OPG 被认为是 RANKL 的天然拮抗剂,在一期临床试验中发现,OPG 可以降低尿中 80% 的骨吸收标志物^[38]。有研究发现,大鼠切除卵巢后,成骨细胞和骨髓基质细胞 OPG 蛋白和 mRNA 表达降低;运动 3 个月后,成骨细胞和骨髓基质细胞 OPG 蛋白和 mRNA 表达升高^[39]。

类风湿性关节炎患者血清 OPG 水平明显增高。强直性脊柱炎患者骨吸收增强,血清 OPG 水平增高,是机体对抗过度骨吸收的保护性反应。

骨硬化症是 OC 形成和骨吸收减弱为特征的多基因遗传性疾病,与 OPG 和(或) RANKL 有关。肿瘤转移引起的溶骨性破坏 OPG 表达明显降低。前列腺癌患者 OPG 水平明显高于前列腺增生患者。肺癌患者血清 OPG 水平显著高于正常人群,肺癌骨转移患者高于肺癌骨未转移患者。OPG 可在内皮细胞、平滑肌细胞产生,通过自分泌和旁分泌作用提高内皮细胞活性,防止炎症细胞因子对血管的损害。糖尿病患者 OPG 水平反应性增加。OPG 随年龄递增,骨吸收增强后机体代偿性分泌,且低 OPG 水平者较高 OPG 水平者具有更高的骨折危险性。研究发现^[40]绝经后女性血清 OPG 水平随着年龄增加而升高,推测雌激素缺乏时破骨细胞功能活跃,机体为代偿骨吸收,骨形成增加,最终 OPG 升高。

3 骨吸收标志物

骨吸收标志物主要包括抗酒石酸酸性磷酸酶、I 型胶原交联 C-末端肽、I 型胶原交联 N-末端肽、尿吡啶啉、尿脱氧吡啶啉。

3.1 抗酒石酸酸性磷酸酶

抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, TRACP) 是酸性磷酸酶 6 种同工酶中的一种,主要存在于巨噬细胞、破骨细胞、Gaucher 细胞、红细胞、血小板、脾脏毛状细胞以及单核吞噬细胞中,在肺泡巨噬细胞和破骨细胞中含量丰富。人

类 TRACP 是位于第 19 号染色体 P13.2~13.3 处的一个基因编码的单一同工酶,该酶是一种结构高度保守的含铁糖蛋白,分子量为 30~40 kD,不同人种来源的 TRACP 氨基酸序列的同源性为 85%~95%,其差异性起源于转录初期的可选择性剪接和使用不同的翻译起始部位,或翻译后蛋白质的修饰,而不是产生于多基因家族。

在正常人血清中,TRACP 以两种不同的糖基化形式存在,即 TRACP-5a 和 TRACP-5b,其中 TRACP-5a 主要来源于炎性巨噬细胞,而 TRACP-5b 则主要来源于破骨细胞^[41]。TRACP-5a 可以在唾液酸酶作用下转变为 TRACP-5b。纯化的人破骨细胞的 TRACP 是 TRACP-5b,不含唾液酸残基,而 TRACP-5a 含有唾液酸残基。

TRACP-5b 由于其特异性高,不受昼夜变化、饮食、肝、肾疾病影响,故在监测骨代谢方面有重要作用。TRACP-5b 作为第 2 代骨吸收标志物,是一个有特异和高敏感度的骨吸收指标^[42]。TRACP 的主要检测方法有动力学法、非变性凝胶电泳法、非聚丙烯酰胺凝胶电泳实验、化学比色法、单克隆抗体法和免疫捕捉活性测定等。

TRACP 增高见于原发性甲状旁腺功能亢进症、慢性肾功能不全、畸形性骨炎、肿瘤骨转移、高转换型骨质疏松等;降低见于甲状腺功能减退症^[18]。

甲状旁腺机能亢进、Paget's 病等代谢性骨病时,血清 TRACP-5b 水平升高是由于破骨细胞活性增加所致。甲状旁腺机能亢进患者手术及药物治疗过程中血清 TRACP-5b 水平下降。

绝经后骨质疏松患者由于卵巢功能减退,雌激素水平减少,破骨细胞活性增加,骨重建失衡,骨吸收大于骨形成,血清 TRACP-5b 显著增高。70 岁以上老年性骨质疏松症患者血清 TRACP-5b 浓度也显著增加,且与骨密度呈显著负相关。

糖尿病患者体内胰岛素绝对或相对不足,导致维生素 D 缺乏,1,25(OH)₂D₃ 活性下降,肠道钙吸收减少,继发甲状旁腺机能亢进,破骨细胞活性增加,骨吸收加快,因而 TRACP-5b 水平升高。肾性骨病由于钙、磷及维生素 D 代谢障碍,继发甲状旁腺机能亢进,血 PTH 升高、CT 下降,骨吸收增加,血清 TRACP-5b 升高。

恶性肿瘤骨转移造成骨代谢活跃,主要表现为骨吸收大于骨形成,血清中 TRACP-5b 升高。

3.2 I 型胶原交联 C-末端肽

在骨的有机质中,90% 为 I 型胶原,I 型胶原交

联羧基末端肽 [I 型胶原交联 C-末端肽 (type I collagen carboxy-terminal peptide, CTX)] 是使用最为广泛的胶原降解标志物。

α -CTX 和 β -CTX 是骨吸收的重要指标, α -CTX 与 β -CTX 为同型异构体结构, α -CTX 与 β -CTX 的区别为 β -CTX 的肽序列中的天冬氨酸(Asp) 是 L-对映异构体, α -CTX 和 β -CTX 是含有骨 I 型胶原分子间交联物的重要区段, 和近似交联物的残基^[6], 结构紧密, 所以不受肾脏的进一步降解, 具有较好的结构稳定性。CTX 的水平反映了破骨细胞的骨吸收活性, CTX 是以破骨细胞活性显著增强为特点的代谢性骨病的有效标志物^[22-28]。

CTX 可以用放射免疫分析和酶联免疫吸附试验两种方法检测。

I 型胶原交联 C-末端肽水平反映了破骨细胞骨吸收活性, 是骨吸收的重要生化标志物^[43], 主要反映了溶骨性变化时的骨代谢指标变化, 其升高程度与破骨细胞活性增高的程度相一致。

骨质疏松症、Paget's 病、多发性骨髓瘤和肿瘤骨转移等患者血清 CTX 水平升高^[22-43-44]。CTX 与骨重吸收程度相关, 对抗骨吸收治疗反应迅速而灵敏, 检测血清 CTX 水平可以预测骨转换的严重程度, 并作为临床评估骨转换相关疾病的重要参考指标^[45]。

近年来, 国内外一些学者对 I 型胶原交联 C-末端肽反映骨吸收的作用进行了一些临床研究。有研究显示, 50~79 岁女性 CTX-1 明显高于其他年龄组女性, 与 BMD 呈负相关关系^[43]。一些研究发现^[46-47], 在骨密度水平相近的老年骨质疏松患者中, 髌部脆性骨折患者的血清 CTX 水平达到或超过正常值上限, 高于对照组, 可能独立预示髌部脆性骨折风险的增加。其他研究显示^[48], U-CTX 水平在股骨颈有骨质疏松的男性人群较正常健康男性显著升高, 并与 BMD 存在明显相关性, 认为 U-CTX 更能显示当前骨代谢状态。有学者^[49]探究骨代谢指标 BALP、BGP、CTX 对 2 型糖尿病合并骨质疏松的诊断及发病风险评估价值, 并分析三者与 2 型糖尿病合并骨质疏松患者的临床特征之间的关系。证明联合血清 BALP、BGP 和 CTX 3 项指标可协助 2 型糖尿病合并骨质疏松的诊断。

I 型胶原交联 C-末端肽是反映骨吸收的重要骨代谢指标, 是使用最为广泛的胶原降解标志物, 与骨吸收程度密切相关, 检测血清 CTX 水平可以预测骨转换的活跃程度, 并作为临床评估骨转换相关骨代

谢疾病的重要参考指标。推荐空腹血清 CTX 为反映骨吸收敏感性较高的标志物^[31]。

3.3 I 型胶原交联 N-末端肽

I 型胶原交联 N-末端肽 (type I collagen amino-terminal peptide, NTX) 是骨胶原在肝脏中降解后尿中出现的一种稳定的最终产物^[28], 是反映骨吸收的特异和敏感的指标。NTX 是含有尿吡啶啉 (Pyr) 和尿脱氧吡啶啉 (D-Pyr) 的低分子量多肽, 属于低分子量肽, 具有半抗原性。

I 型胶原交联 N-末端肽通过骨吸收入血, 经人体器官排泄后部分入尿液, 尿液中的 NTX 只来源于成熟的 I 型胶原, 因此, 正常含胶原饮食不会影响该生化指标的测量, 即 NTX 的代谢几乎不受食物影响。晨起和夜间的尿 NTX 最能反映骨吸收情况, 为减少尿量和体型的影响, NTX 结果需用尿肌酐 (uCr) 校正。NTX 是尿中稳定的骨质溶解终产物, 被认为是诊断骨吸收破坏特异性更高的指标。多项研究证实尿 NTX/Cr 与 BMD 呈显著负相关, 是反映骨吸收的特异和敏感的指标^[50]。I 型胶原交联 N-末端肽可以通过放射免疫分析和酶联免疫吸附试验检测, 目前的商品试剂盒多采用酶联免疫吸附试验。与 CTX 在血清中检测不同, 临床上 NTX 常在尿液中测定。

I 型胶原交联 N-末端肽作为破骨细胞降解骨 I 型胶原的部分直接产物, 主要反映破骨细胞骨吸收活性^[51], 可灵敏地反映骨代谢的变化, 是评价骨形态计量学骨吸收的重要参数^[52], 被认为是目前反映骨吸收状况最敏感、最特异的指标。

临床上骨质疏松、原发性甲状旁腺功能亢进症、畸形性骨炎、甲状旁腺功能亢进症、肿瘤骨转移和多发性骨髓瘤等都观察到 NTX 水平的升高^[53-54]。

研究证实^[55], 在多种用于肺癌骨转移诊断的血清学指标中, 尿 NTX 是诊断骨转移最有效的标志物。一项回顾性研究说明^[56], NTX 与 CTX 是骨代谢的敏感指标, 与骨密度的改变、骨折的发生具有良好的相关性, 其增加可提示骨关节炎患者骨量的减少。

I 型胶原交联 N-末端肽因其反映骨吸收特性的稳定性与敏感性, 被认为是诊断骨吸收破坏特异性较高的指标, 对骨代谢性疾病的早期预防、诊断与鉴别诊断、治疗转归判断, 具有重要的临床意义。

4 激素与细胞因子

4.1 生长激素

生长激素(growth hormone, GH)是机体组织细胞的生长、发育和代谢的调节因素之一,起十分重要的促细胞分化增殖作用^[6]。

人生长激素是由脑垂体前叶含有嗜酸性颗粒的生长激素分泌细胞所分泌,是腺垂体合成量最多的一种蛋白质激素,正常成人垂体含5~10 mg。GH的基因家族分为GH-1、GH-2、绒毛膜促生长素-1(chorionic somatomammotropin, CS-1)、CS-2和CS-P 5种。垂体和循环中GH的分子形式呈非均一性,包括多种形式的单体、同(异)多聚体、分子片段及单体与其结合蛋白的复合体等;其中最主要的GH形式是分子质量为22 124 Da(约22 kDa)的单体^[6]。

GH以脉冲方式分泌入血,受下丘脑生长激素释放激素(growth hormone-releasing hormone, GHRH)和生长激素释放抑制激素(somatostatin, SRIH)的双重调节。除了内分泌激素作用以外, GH具有促进骨的线性生长、骨重建、骨骼肌生长、糖脂代谢及免疫调节作用^[6]。儿童至青春期发育成熟的骨骼(长骨)线性生长主要由GH、胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor-1, IGF-1)、糖皮质激素和甲状腺素调节。儿童的躯体线性增长速度是了解有无GH缺乏或GH作用障碍的简单而特异的诊断指标。生长激素缺乏症(growth hormone deficiency, GHD)是一种生长发育障碍疾病,由于生长激素分泌不足而形成,主要临床表现为生长缓慢、身材矮小等,患病时常会伴脂代谢、糖代谢及骨代谢异常^[57]。研究表明,生长激素可直接、间接地对破骨细胞的前体细胞与成熟破骨细胞进行作用,并对骨吸收进行调控,同时也可对前体细胞向成骨细胞分化进行刺激,从而更好地促进软骨细胞和骨细胞增殖^[58-59]。

下丘脑分泌GHRH控制着GH细胞的生长,以及GH的合成和分泌。大鼠中的GHRH基因有126个碱基对,国外一项研究建立动物模型时,使用Neor代替了GHRH基因中内含子2的一部分和外显子3的大部分,获得了GHRH基因突变的GHD大鼠模型。在研究中,杂合子(+/-)的杂交育种得到25.8%的正常后代(++),以及52.8%的杂合子(+/-)后代、21.4%的突变后代(-/-),说明GHRH基因的变异在大鼠身上未表现出致命性。出生3周后,突变鼠(-/-)开始表现出了较为明显的生长阻碍;12周后,突变鼠的体重仅为正常鼠的60%^[60-62]。

近年来有研究认为, GH可直接作用于骨骼细胞,但更多的是通过刺激IGF-1的合成进行控制

的^[63-65]。胚胎时期存在着一个软骨内骨化的过程,生长板内的软骨细胞增殖、生长并分化形成新的软骨,新形成的软骨被血管入侵,然后形成骨小梁,这个过程受基因、激素、环境和营养等控制。Waters等^[66]发现这一时期胎儿生长主要是由非垂体的胎儿组织局部分泌的GH和胰岛素样生长因子控制,此时IGF-1的促生长作用独立于GH之外。GH和IGF-1在出生后的整个青春期中纵骨生长过程中都扮演着一个重要的角色^[67-72]。

IGF-1的含量受多种因素的影响,有研究认为血液中的IGF-1含量依赖于血液中GH的水平^[73]。GH对骨骼的影响是通过间接刺激肝脏合成IGF-1来发挥作用的,这些作用大部分是通过GH介导骨骼中IGF-1的表达和活性来完成的^[74-75]。研究显示, IGF-1基因突变的55岁患者与相同年龄的正常人相比,股骨颈和腰椎的骨密度降低了4~5个标准差^[76]。由此可见, IGF-1对骨代谢有重要调节作用。Tsiridis等^[77]研究也显示二者不仅促进骨形成,同时激活整个骨转换过程。

生长激素在维持骨骼健康中起着重要作用, GH分泌不足是引起中老年人骨质疏松的重要原因之一。研究发现生长激素分泌不足者骨密度较正常人低,随着年龄的升高,生长激素分泌水平逐渐下降,骨密度也随之降低^[78]。GH分泌不足者骨质疏松症的发病率明显增高,同时骨折的风险增加。

4.2 雌激素

雌激素(estrogen, E)在女性体内有雌酮(E1)、雌二醇(E2)、雌三醇(E3)3种。其中,雌二醇的生物活性最强,目前临床常用的雌激素类药物多是以雌二醇为母体人工合成的衍生物。

雌激素由18个碳组成的甾体类固醇类激素,具有广泛而重要的生物活性。

雌激素的生理作用主要是通过作用于组织细胞的雌激素受体(estrogen receptor, ER)进而调控靶基因的转录翻译来完成,具有广泛而重要的生物活性。

骨组织是雌激素作用的重要靶组织,雌激素受体 α 和 β 在骨和骨髓中广泛表达。研究表明,雌激素主要通过雌激素受体 α 作用发挥骨代谢调节作用。

雌激素与雌激素受体结合后,通过多种途径调节成骨细胞和破骨细胞活性,参与骨代谢活动。雌激素可抑制氧化应激反应^[79],促进成骨细胞增殖,抑制成骨细胞凋亡,延长成骨细胞生存时间^[80],促进胶原合成,促进骨形成蛋白(bone morphogenetic

protein, BMP) 合成,提高骨矿化;雌激素对破骨细胞的抑制作用可分为直接作用和间接作用,直接作用是通过雌激素与雌激素受体结合介导产生的^[81],间接作用主要是利用成骨细胞与免疫细胞分泌的细胞因子^[82-83],通过抑制破骨细胞活性,诱导破骨细胞凋亡维持骨密度,保护骨组织^[84]。此外,雌激素还可通过钙代谢调节系统影响骨代谢活动。

雌激素是维持正常骨骼骨量和骨结构的必需激素,雌激素在维持骨吸收和骨形成中起主要作用,其主要作用是:①雌激素刺激骨骺生长板中的软骨发生,促进骨的纵向生长;②雌激素的浓度决定了男性骨骺融合的时间;③直接影响个体峰值骨量的获得;④在生育年龄段,维持正常骨量和正常的骨结构;⑤在雌激素作用下,骨骼向女性型表型发育和生长^[6];⑥成年期,雌激素促进骨的成熟和骨髓生长板融合^[28]。

雌激素与雌激素受体作用的机制研究、骨质疏松与雌激素及雌激素受体的相关性研究一直是各国学者们研究的热点。

雌激素自然缺乏(如绝经后女性)或病理性缺乏(如卵巢切除、卵巢早衰等),循环雌激素水平明显下降,机体处于持续的雌激素缺乏状态,不仅生殖器官会发生明显变化,而且其他组织也会产生显著变化,最明显的变化之一是骨量丢失。主要原因是雌激素水平降低,骨形成受抑制,骨吸收增强,即骨形成减少伴骨吸收增多。雌激素缺乏是绝经后骨质疏松症发生的主要原因^[85]。雌激素能维持并增加绝经后妇女的骨量,且发现绝经后5~10年应用激素补充治疗能降低50%的骨质疏松性骨折的发生。大量研究证明,应用雌激素治疗可降低绝经后女性骨转换率,显著提高前臂、椎骨、髌骨骨密度,降低骨质疏松性骨折的发生。

4.3 睾酮

睾酮(testosterone, T)是男性体内主要的性腺激素,主要由睾丸间质细胞合成,在男性原发性骨质疏松症中起着非常重要的作用,且与男性原发性骨质疏松及骨折关系密切^[28]。

睾酮分泌水平有规律性变化,当进入青春期后睾酮分泌水平会逐渐增高,在20~30岁时达到最高峰,之后随着年龄的增长,男性体内睾酮的分泌会逐渐下降。据估计,60~80岁老年男性20%有睾酮下降。80岁以上男性中约30%处于雄激素缺乏状态。国外大样本流行病学调查表明,老年男性血清睾酮水平随年龄增长而降低,大约每增长10岁降低4

nmol/L,但存在显著的个体差异^[86]。

在靶组织如性腺、脑和骨中,睾酮转化成活性更高的代谢产物而发挥作用, 5α 还原酶可逆性地催化睾酮生成双氢睾酮,而芳香化酶则可逆性地催化睾酮生成雌激素^[6]。血液中的睾酮大部分是与一种特殊的 α -球蛋白,即皮质类固醇结合球蛋白或称睾酮结合球蛋白结合而进行运输的,少数睾酮与白蛋白非特异结合或以游离形式存在于血液中。

睾酮在骨骼的生长代谢、骨量维持及抗骨量丢失方面均起着重要作用。儿童期表现尤为突出,如促进骨骼肌发育、促进骨骼中钙盐沉积,使骨骼增厚生长等作用;青春期主要增加骨松质与骨皮质的骨量,对达骨峰值起着重要作用;成年后则主要促进骨形成并抑制骨吸收,并与其他调节骨代谢的激素共同维持骨量,调节骨代谢。

睾酮常用的检查方法是放射免疫分析法,抽取2 mL静脉血,分离血清即可测定。女性血清总睾酮的正常参考值为0.21~3.01 nmol/L;男性血清总睾酮的正常参考值为9.45~37.45 nmol/L。女性血清游离睾酮正常参考值为 (11 ± 2) pmol/L;男性血清游离睾酮正常参考值为 (276 ± 80) pmol/L。

4.4 白细胞介素-1

白细胞介素-1家族(interleukin-1 family, IL-1F)有11个成员,可称作IL-1F1至IL-1F11,IL-1又名淋巴细胞刺激因子,可由间充质细胞、成骨细胞^[6]、活化的单核-巨噬细胞产生,骨髓中的巨噬细胞也可合成少量IL-1。此外,几乎所有的有核细胞,如B细胞、NK细胞、体外培养的T细胞、角质细胞、树突状细胞、星形细胞、成纤维细胞、中性粒细胞、内皮细胞以及平滑肌细胞均可产生IL-1。人IL-1基因位于第2号染色体。IL-1可分为IL-1 α 和IL-1 β 两种活性形式,由不同的基因分别编码。

IL-1通过与IL-1受体结合发挥生物学作用。IL-1是一种重要的骨吸收因子,多通过其他激素或因子介导生物学效应。IL-1既可促进成骨细胞谱系RANKL的生成,又可直接作用于破骨细胞。IL-1可直接加强破骨细胞的活性及抑制成熟破骨细胞的凋亡,延长成熟破骨细胞的寿命。

当雌激素水平降低时,可通过IL-1和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 促进成骨细胞/基质细胞产生前列腺素E₂,进而刺激前B细胞和基质细胞表达RANKL,通过RANKL/RANK/OPG系统增加破骨细胞形成和分化^[87-88],促进破骨细胞前体分化及成熟的破骨细胞的功能。IL-1可降低骨保

护素的表达,抑制骨形成。IL-1也可直接通过RANKL影响破骨细胞的增殖分化成熟。

IL-1还可促进基质金属蛋白酶及其他分解产物的释放,激活破骨细胞,促进破骨细胞分化,从而促进骨丢失。大量的临床研究表明^[89],雌激素能够抑制IL-1的分泌,绝经前女性与经雌激素治疗的绝经后骨质疏松患者外周血单核细胞分泌的IL-1水平低于未经治疗的绝经后骨质疏松患者。IL-1 β 和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等可作用于软骨细胞诱导基质金属蛋白酶、促分解代谢因子和其他炎症因子基因的表达,引起软骨基质的降解。

可采用酶联免疫吸附法测定血清IL-1的含量。

IL-1是巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)、IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)的强有力的刺激因子,而M-CSF、IL-6、GM-CSF可刺激破骨细胞前体的增殖及分化。IL-1是破骨细胞的重要激活因子,也是决定骨密度的重要因素,是破骨细胞性骨吸收的强有力刺激因子,在雌激素缺乏情况下IL-1增加,伴随IL-1产物和IL-1 R α 阻抑的增加,因此,IL-1在骨质疏松演变中具有重要作用。

4.5 白细胞介素-6

人类IL-6基因位于第7号染色体上,IL-6分子量为21~30 kD。可由多种细胞合成,包括活化的T细胞和B细胞、单核-巨噬细胞、内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、骨髓基质细胞和成骨细胞等分泌,IL-6作用的靶细胞很多,包括巨噬细胞、肝细胞、静止的T细胞、活化的B细胞和浆细胞等。

IL-6生物效应也十分复杂,曾被称为B细胞刺激因子2(bsf-2)、B细胞分化因子(bCdf)、肝细胞刺激因子(hsf)等。能够刺激活化B细胞增殖,分泌抗体;刺激T细胞增殖及CTL活化;刺激肝细胞合成急性期蛋白,参与炎症反应;促进血细胞发育。

IL-6在原发性骨质疏松的发病机制中具有重要作用。通过调节破骨细胞和成骨细胞发育和功能实现对骨代谢的调节作用。①IL-6可直接作用于成骨细胞,提高RANKL的表达。IL-6属前吸收性细胞因子,刺激破骨细胞前体细胞(osteoclast precursor cell, OPC)的增殖及分化,促进破骨细胞生成,加强破骨细胞功能表达,刺激破骨细胞活性。同时促进骨基质的降解,抑制成骨细胞活性,从而加强骨吸收,促进骨量流失,诱发骨质疏松^[90]。②IL-6能刺激角质细胞生长,并能促进骨髓造血的功能。③IL-

6上调糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)结合位点的表达,IL-6还可以自分泌方式调节成骨细胞糖皮质激素受体 α (GR α)的活性,是糖皮质激素性骨质疏松发生的诱因之一。糖皮质激素也下调成骨细胞IL-6的表达,患者应用糖皮质激素后,可在一定范围内降低高浓度的血清糖皮质激素水平。④PTH上调成骨细胞IL-6的表达,血清PTH升高(如原发性甲状旁腺功能亢进患者),血清IL-6的水平也升高。⑤IL-6的作用可被雌激素拮抗,IL-6与雌激素对骨代谢的影响作用相反。

可用酶联免疫吸附试验或者四甲基偶氮唑蓝比色法检测。

IL-6与骨质疏松症的发生相关。IL-6升高可作为机体破骨细胞功能活跃的标志^[91]。血清IL-6、TNF- α 水平升高,可能与绝经后骨质疏松症的发生有关。变形性骨炎(Paget's骨病)患者的破骨细胞分泌过多的IL-6和IL-6受体,血清IL-6水平显著升高。经治疗后,IL-6受体明显下降。IL-6是变形性骨病患者破骨细胞活性升高和骨吸收增强的主要原因^[92-93]。IL-6水平升高也见于多发性骨髓瘤、银屑病。

罗干^[94]的实验研究显示,骨质疏松组外周血血清中IL-6的表达水平升高,与骨质疏松患者骨密度降低程度呈正相关。

4.6 转化生长因子 β

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)是一类能刺激细胞表型发生转化的生长因子,是细胞生长与分化的重要调节因子。包括两类多肽类生长因子:转化生长因子- α (TGF- α)和转化生长因子- β (TGF- β),对细胞的生长、发育、增殖、分化、凋亡、转型等均具有重要的生理调节作用。

在转化生长因子家族中,TGF- β 是骨组织中的重要细胞因子,参与骨与软骨的形成,对骨组织修复与骨重建具有重要的调节作用。

TGF- β 可以从骨、血小板、肾、胎盘组织、T和B淋巴细胞等组织和细胞中提取,其中血小板和骨组织中TGF- β 含量最为丰富,骨基质中TGF- β 的含量为0.1 mg/kg干重^[95]。

人类转化生长因子- β 有3个亚型:TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3,三者具有极高的同源性。

TGF- β 通过与细胞膜表面特异性受体结合发挥生物学作用。

TGF- β 广泛存在于骨组织中。在骨骼中,成骨细胞和软骨细胞可以合成TGF- β ,骨组织中TGF- β

的浓度是其他组织的100倍,骨是TGF- β 最大的组织来源和储存库,骨组织中含有最多的是TGF- β 1。TGF- β 沉积于细胞外基质中,以自分泌和旁分泌的方式调控成骨细胞增殖与分化^[96]。TGF- β 通过与靶细胞表面具有丝氨酸和/或苏氨酸激酶活性的受体I、II结合而产生生物学作用^[97]。TGF- β 是调节骨代谢的重要细胞因子,对骨组织的生长发育和骨重建具有重要的调节功能。

TGF- β 与骨形成密切相关,可作用于成骨细胞,调节成骨细胞增殖、分化,在骨形成和骨组织修复过程中起十分重要的调节作用。TGF- β 对骨形成的每个阶段均具有刺激作用^[98],具有显著的促进骨形成作用。TGF- β 对破骨细胞具有促进和抑制的双相作用。TGF- β 与骨细胞外基质代谢有关,同时,TGF- β 也能够促进软骨细胞的生成,在骨组织中,可启动新生骨与软骨生成。

可采用酶联免疫吸附试验法测定血清/组织/尿液中TGF- β 的浓度。

TGF- β 通过强大的骨形成和骨修复作用,可增加骨密度。TGF- β /TGF- β 受体的结构或功能异常可导致各种代谢性骨病。血中TGF- β 浓度下降时,促进骨形成作用减弱,骨密度降低,可诱发骨质疏松等代谢性骨病。TGF- β 直接应用于骨时,可增加破骨细胞的数量和活性,促进骨形成。小剂量TGF- β 能治疗骨质疏松,减少骨丢失,局部应用外源性TGF- β 不仅可以刺激组织细胞分泌TGF- β 量增加,同时还可直接刺激成纤维细胞、间充质细胞和成骨细胞等的增殖与分化,加速受损组织的修复,并促进软组织修复和骨折愈合。

4.7 肿瘤坏死因子

TNF有 α (TNF- α)和 β (TNF- β)两种亚型,TNF- α 主要由活化的单核巨噬细胞产生,又称恶液质素(cachectin),占TNF总活性的70%~95%,目前常说的TNF多指TNF- α ;TNF- β 由活化T淋巴细胞产生,与TNF- α 有30%左右的同源性,并与TNF- α 有共同的受体。其中TNF- α 引起骨吸收并抑制关节炎和衰老过程中的骨形成^[99],与骨质疏松关系密切。

人类TNF- α 基因定位于6p21.4,长约3.6 kbp,人TNF- α 前体由233个氨基酸组成(26 kDa),其中包含由76个氨基酸残基组成的信号肽,在TNF- α 转化酶(tumor necrosis factor α converting enzyme, TACE)的作用下,切除信号肽,形成成熟的157个氨基酸残基的TNF- α (17 kDa)^[100]。

TNF- α 是重要的破骨细胞调节因子,其在破骨细胞生成及破骨细胞介导的局部骨丢失过程中都起着重要作用。总的来说,TNF- α 是骨分解作用的动因,一方面促进骨吸收,另一方面抑制骨重建,最终导致骨量减少^[101]。

TNF- α 是十分重要的破骨细胞激活因子。TNF- α 可直接促进破骨细胞前体细胞的有丝分裂及破骨祖细胞的分化^[102],刺激前祖细胞产生新的破骨细胞;另一方面,TNF- α 还可介导基质细胞和成骨细胞分泌参与破骨细胞分化所必需的“下游”细胞因子,如M-CSF、IL-6、IL-11、RANKL等,间接促进破骨祖细胞的增殖^[103]。TNF- α 抑制成骨的作用表现在对骨髓间充质干细胞的成骨分化、成骨细胞矿化有显著的抑制功能。

目前检验方法主要用酶联免疫吸附测定或放射免疫分析。有文献报道,正常人体内血清中TNF- α 的浓度为7.65~75.35 pg/mL^[104],当机体出现炎症性疾病或者免疫性疾病时,患者血清中TNF- α 则会显著升高。在病理性骨缺失如老年性骨质疏松、慢性炎症引起的骨吸收组织中,TNF- α 浓度均有提高,说明TNF- α 是调节骨代谢的重要因子^[105]。

4.8 胰岛素样生长因子

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)是一类结构上类似于胰岛素原的单链多肽,有两种类型,包括IGF-I和IGF-II。IGF-I是骨骼中含量最丰富的生长因子,骨组织中的IGF-I主要来自成骨细胞和骨髓基质细胞,通过内分泌、自分泌和旁分泌途径作用于骨^[106]。

人IGF-I基因定位12号染色体长臂端12q23-23,是由70个氨基酸残基组成的单链多肽,与胰岛素原有60%的同源序列,分子量为7 649 kD。人体内许多组织可以合成分泌IGF-I,但体循环中的IGF-I主要由肝脏合成。血清IGF受很多血清中其他因子的影响,其中影响肝合成和释放IGF-I的主要因素是GH,但胰岛素、甲状旁腺素、糖皮质激素及营养状况也是重要的影响因素^[107]。

正常情况下,血清及细胞外液中的IGF绝大部分都与IGF结合蛋白(insulin-like growth factor binding proteins, IGFBPs)以复合物形式存在,其复合物包括IGFBP-1至IGFBP-6,不表现活性。若IGFBP发生降解,游离的IGF与其特异性受体结合则可发生一系列生物反应^[108]。其中IGFBP-3是循环中的主要结合蛋白,与IGF关系最为密切。

随着增龄,绝经年限延长,血清雌激素、生长激

素水平不断下降,IGF体系中促骨形成因素含量减少,抑制因子活性增加,成为骨骼老化、骨质疏松发生的启动因子^[109]。IGF-I是成骨细胞和破骨细胞功能的主要局部调节因子之一,在骨重建中起重要作用。

研究表明,IGF-I可促进成骨细胞分化、增殖、募集,促进成骨细胞胶原及骨钙素合成,加快骨矿化^[110]。生长激素可与肝细胞表面的GH受体结合,促进肝细胞分泌IGF-I,还可以直接作用于成骨细胞,促进成骨细胞分泌IGF-I。同时,IGF-I通过反馈调节体内腺垂体激素的水平调节GH的分泌。GH和IGF-I彼此间相互调节形成GH/IGF-I轴,在骨代谢方面调节作用显著^[111]。有研究发现,IGF-I还可以通过促进破骨细胞分化来影响破骨细胞的形成^[112]。此外,IGF-I能刺激骺板软骨细胞增生和分化,被认为是长骨生长的必需生长因子。

血清IGF-I水平主要受GH调节,IGF-I浓度在很大范围内与GH浓度一致。检测IGF-I和IGFBP-3能全面反映GH产物及其对组织的影响,而IGF-I的诊断灵敏度和特异度更佳,可作为首选检测指标。IGF-I检测主要采用酶联免疫法和放射免疫法。

有研究发现,血清IGF-I水平随增龄而明显下降,女性绝经后血清IGF-I水平明显低于绝经前,骨骼中IGF的含量亦随增龄而下降^[113]。IGF-I与骨密度呈正相关,老年骨质疏松患者血清IGF-I含量低于正常对照组^[114]。还有研究表明,血清中IGF-I水平下降与骨折的发生率密切相关,IGF-I的水平可以作为骨折风险评估的指标^[115]。

随着骨代谢生化指标检测技术的逐渐成熟,临床应用日趋广泛,但不同来源的标本、不同方法、不同设备、不同试剂、人的不同年龄段、不同种族和不同性别等,检测结果存在差异。至今,骨代谢生化指标测定国内外尚无统一检测标准。为此,将骨代谢生化指标的生物学作用及临床意义、技术应用与质量控制,分别整理、凝炼成一篇为各位同仁可读、可用、可参考的文字材料。期待通过“共识”为推动临床骨代谢生化指标检测技术的提高,规范检测流程,建立科学的参考范围,使骨代谢生化指标在骨质疏松规范诊断、规范治疗、抗骨质疏松药物治疗评价及科研工作中发挥重要作用。

【参 考 文 献】

[1] 张萌萌.中国老年学学会骨质疏松委员会-骨代谢生化指标临

床应用专家共识[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(11):1263-1272.

[2] Ben-awadh AN, Delgado-Calle J, Tu X, et al. Parathyroid hormone receptor signaling induces bone resorption in the adult skeleton by directly regulating the RANKL gene in osteocytes [J]. *Endocrinology* 2014, 155: 2797-2809.

[3] Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteopontin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures correlation with osteoclast-like cell formation [J]. *Endocrinology* 1999, 140: 3552-3561.

[4] Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD-MBD work group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) [J]. *Kidney Int* 2009, 113(Suppl 1): S1-130.

[5] Lee J, Vasikaran S. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis [J]. *Ann Lab Med* 2012, 32: 105-112.

[6] 廖二元,曹旭. 湘雅代谢性骨病学[M].北京:科学出版社,2013:171-181,184-186,189-194,216-224.

[7] Chen XQ, Jin YY, Tang G. New pharmacology [M]. 15th edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 621.

[8] Karponis A, Rizou S, Pallis D, et al. Analgesic effect of nasalsalmon calcitonin during the early post-fracture period of the distal radius fracture [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2015, 15(2): 186-189.

[9] Garcia Delgado I, Preto S, Gil Fraguas L, et al. Calcitonin, etidronate, and calcidiol treatment in bone loss after cardiac transplantation [J]. *Calcif Tissue Int* 1997, 60: 155-159.

[10] 王彦鹏,王婷,魏兵. 鲑鱼降钙素对伴骨质疏松髋部骨折骨密度的影响观察[J]. *临床医学研究与实践*, 2017(11): 50-51.

[11] 金龙,张彤,孙川江. 鲑鱼降钙素在骨质疏松患者椎体压缩性骨折椎体成形术后的临床疗效[J]. *医学综述*, 2017, 23(23): 4781-4784.

[12] 张萌萌. 生命、骨骼、维生素D3 [J]. *中国骨质疏松杂志* 2016, 22(11): 1496-1500.

[13] Sreeram VR, Andreas H, Antoni OJ, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor [J]. *Genome Res* 2010, 20(10): 1352-1360.

[14] Tian J, Liu Y, Williams LA, et al. Potential role of active vitamin D in retarding the progression of chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(2): 321-328.

[15] 陈兆聪. 维生素D再认识[J]. *医药导报*, 2011, 30(5): 555-560.

[16] Holick MF. Vitamin D: evolutionary, physiological and health perspectives [J]. *Curr Drug Targets* 2011, 12(1): 4-18.

[17] 张萌萌,毛未贤,马倩倩,等. 吉林省北纬43°地区20-80岁健康人群25(OH)D3水平及其与Ca、P的相关性[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(5): 579-585.

[18] 刘忠厚. 骨质疏松诊断[M]. 香港: 中国现代文艺出版社, 2011: 452-465, 520-523.

- [19] 柳振华. 骨代谢实验室诊断进展[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(4): 463-466.
- [20] Sahin EG, Giray B, Subas S, et al. Interpregnancy interval as a risk factor for postmenopausal osteoporosis [J]. *Maturitas*, 2015, 82(2): 236-240.
- [21] Chopin F, Biver E, Funck-Brentano T, et al. Prognostic interest of bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis [J]. *Joint Bone Spine*, 2012, 79(1): 26-31.
- [22] 张萌萌, 张艳会, 毛未贤, 等. 1084例女性 TRACP、CTX-1、BALP、BGP、钙磷代谢指标与 BMD 相关性[J]. 中国骨质疏松杂志, 2013, 19(9): 902-906.
- [23] Schmidt-Wolf IH, Glasmacher A, Hahn-Ast C, et al. Chromosomal aberrations in 130 patients with multiple myeloma studied by interphase FISH: diagnostic and prognostic relevance [J]. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2006, 167(10): 20-25.
- [24] Wang YH, Liu YL, Kathy B, et al. Comparison of the action of transient and continuous PTH on primary osteoblast cultures expressing differentiation stage-specific GFP [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(1): 5-14.
- [25] Zhou LZ, Xiang Q, Liu ZH. Guidelines for the use of biochemical of bone turnover in osteoporosis [J]. *Chin J Osteoporosis*, 2004, 10(3): 397-404.
- [26] Niimi R, Kono T, Nishiara A, et al. Determinants associated with bone mineral density increase in response to daily teriparatide treatment in patients with osteoporosis [J]. *Bone*, 2014, 66: 26-30.
- [27] 朱汉民. 骨代谢实验室诊断进展[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(5): 277-278.
- [28] 刘忠厚. 骨内科学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 273-280, 351-352.
- [29] Chen P, Satterwhite JH, Licata EM, et al. Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(6): 962-970.
- [30] Krege JH, Lane NE, Harris JM, et al. PINP as a biological response marker during teriparatide treatment for osteoporosis [J]. *Osteoporos Int*, 2014, 25(9): 2159-2171.
- [31] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017年)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐杂志, 2017, 10(5): 413-443.
- [32] Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Tumor necrosis receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 96(7): 3540-3545.
- [33] Lacey DL, Tan HL, Lu J, et al. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and vivo [J]. *Am J Pathol*, 2006, 157(20): 435-448.
- [34] 肖海龙. 破骨细胞形成抑制因子(OPG)的表达纯化及功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [35] Boron D, Kotrych D, Bartkowiak-Wieczorek J, et al. Polymorphisms of OPG and their relation to the mineral density of bones in pre- and postmenopausal women [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 477-486.
- [36] Furuya Y, Inagaki A, Khan M, et al. Stimulation of bone formation in cortical bone of mice treated with a receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-binding peptide that possesses osteoclastogenesis inhibitory activity [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(8): 5562-5571.
- [37] 程少丹, 王拥军, 唐德志, 等. OPG 基因敲除小鼠骨质疏松情况的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(1): 16-19.
- [38] Gallagher JC, Sai AJ. Molecular biology of bone remodeling: implications for new therapeutic targets for osteoporosis [J]. *Maturitas*, 2010, 65(4): 301-307.
- [39] 董洁琼. 运动对去卵巢骨质疏松大鼠 OPG, RANKL 表达的影响[D]. 上海: 上海体育学院, 2011.
- [40] Sanchez C, Gabay O, Salvat C, et al. Mechanical loading highly increase IL-6 production and decrease OPG expression by osteoblasts [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 473-481.
- [41] 李晓双. 抗酒石酸酸性磷酸酶 5b 的临床应用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2010, 16(11): 872-876.
- [42] Halleen JM. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(2A): 1027.
- [43] Zhao J, Xia W, Nie M, et al. The levels of bone turnover markers in Chinese postmenopausal woman: peking vertebral Fracture study [J]. *Menopause*, 2011, 18(11): 1237-1243.
- [44] Jung K, Lein M, Stephan C, et al. Comparison of 10 serum bone turnover markers in prostate carcinoma patients with metastatic spread: diagnostic and prognostic implications [J]. *Int J Cancer*, 2004, 111: 783-791.
- [45] 徐欣, 黄仁华, 周狄, 等. 血清 β -CTX 和 OST 在骨转移放疗中的临床研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(1): 24-29.
- [46] Shiga T, Tsuji Y, Fujioka M, et al. Risk factors for hip fracture in Japanese elderly women with osteoporosis: applicability of biochemical markers in bone turnover [J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2009, 9(1): 69-74.
- [47] Bauer DC, Garnero P, Harrison SL, et al. Biochemical markers of bone turnover, hip bone loss, and fracture in older men: the MrOS study [J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(12): 2032-2038.
- [48] Donescu OS, Battie MC, Videman T, et al. Anthropometrics and Biochemical markers in men [J]. *J Clin Densitom*, 2005, 8: 222-227.
- [49] 贾海梅, 蔡艳丽. 骨代谢指标 NBAP、BGP、CTX 与 2 型糖尿病合并骨质疏松的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(2): 225-229.
- [50] 高志棣, 王潍博, 程绍云. uNTX 水平检测的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(2): 141-143.
- [51] 张智海, 刘忠厚, 石少辉, 等. 中国大陆地区以 -2.5SD 为诊断的骨质疏松症发病率文献回顾性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(1): 1-7, 24.
- [52] Chubb SA, Mandel C, Vasikaran S. Comparison of clinical cut-point and treatment targets for urine NTX and plasma β CTX-1 in osteoporosis [J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(7-8): 529-533.
- [53] Jung K, Lein M, Stephan C, et al. Comparison of 10 serum bone

- turnover markers in prostate carcinoma patients with metastatic spread: diagnostic and prognostic implications [J]. *Int J Cancer*, 2004, 111: 783-791.
- [54] Abildgaard N, Brixen K, Kristensen JE, et al. Comparison of five biochemical markers of bone resorption in multiple myeloma: elevated pre-treatment levels of S-ICTP and U-NTX are predictive for early progression of the bone disease during standard chemotherapy [J]. *Br J Haematol*, 2003, 120: 235-242.
- [55] Bilgin E, Yasasever V, Soyuncu HO, et al. Markers of bone metastases in breast and lung cancers [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(9): 4331-4334.
- [56] Nguyen LT, Sharma AR, Chakraborty C, et al. Review of prospects of biomarkers in osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): E601.
- [57] 李鑫 邵倩 张艳红 等. 生长激素缺乏症与 COL11A2 基因单核苷酸多态性的相关性 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2017, 25(4): 350-353.
- [58] 于萍 侯佳彤 陈适 等. 重组人生长激素的替代治疗对颅内肿瘤复发的研究进展 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)* 2015, 9(1): 113-116.
- [59] 李莉. 血清 IGF-1、IGFBP-3 与生长激素治疗 SGA 矮小患儿的疗效 [J]. *热带医学杂志* 2016, 16(4): 493-495.
- [60] Alba M, Salvatori R. A mouse with targeted ablation of the growth hormone-releasing hormone gene: A new model of isolated growth hormone deficiency [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(9): 4134-4143.
- [61] Greenhalgh CJ, Rico-Bautista E, Lorentzon M, et al. SOCS2 negatively regulates growth hormone action in vitro and in vivo [J]. *Clin Invest* 2005, 115(2): 397-406.
- [62] Kasukawa Y, Baylink DJ, Guo R, et al. Evidence that sensitivity to growth hormone (GH) is growth period and tissue type dependent: studies in GH-deficient lit/lit mice [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(9): 3950-3957.
- [63] Sonntag WE, Bennett C, Ingram R, et al. Growth hormone and IGF-modulate local cerebral glucose utilization and ATP levels in a model of adult-onset growth hormone deficiency [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006, 291(3): 604-610.
- [64] Yan H, Mitschelen M, Bixler CV, et al. Circulating IGF1 regulates hippocampal IGF1 levels and brain gene expression during adolescence [J]. *Endocrinol* 2011, 211(1): 27-37.
- [65] Carter CS, Ramsey MM, Sonntag WE. The growth hormone IGF-1 axis and mammalian aging [A]//Masoro EJ, Austad SN. *Handbook of the Biology of Aging*. Amsterdam: Elsevier, 2005.
- [66] Waters MJ, Kaye PL. The role of growth hormone in fetal development [J]. *Growth Hormone IGF Res*, 2002, 12(3): 137-146.
- [67] Evans B, Warner JT, Elford C, et al. Morphological determinants of femoral strength in growth hormone-deficient transgenic growth-retarded (Tgr) rats [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(7): 1308-1316.
- [68] Luque RM, Amargo G, Ishii S, et al. Reporter expression induced by a growth hormone promoter-driven Cre recombinase (rGHP-Cre) transgene questions the developmental relationship between somatotropes and lactotropes in the adult mouse pituitary gland [J]. *Endocrinology* 2007, 148(5): 1946-1953.
- [69] Buch T, Heppner FL, Tertilt G, et al. A Cre-inducible diphtheria toxin receptor mediates cell lineage ablation after toxin administration [J]. *Nat Methods* 2005, 2(6): 419-426.
- [70] Luque RM, Lin Q, Cordoba-Chacon J, et al. Metabolic impact of adult-onset isolated growth hormone deficiency (AOIGHD) due to destruction of pituitary somatotropes [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15767.
- [71] Bouchoucha YX, Charnay P, Gilardi-Hebenstreit P. Ablation of Egr2-positive cells in male mouse anterior pituitary leads to atypical isolated GH deficiency [J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1): 270-282.
- [72] Yakar S, Adamo ML. Insulin-like growth factor 1 physiology: lessons from mouse models [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2012, 41(2): 231-247.
- [73] Akanji AO, Smith RJ. The insulin-like growth factor system, metabolic syndrome, and cardiovascular disease risk [J]. *Metab Syndr Relat Disord* 2012, 10(1): 3-13.
- [74] Ohlsson C, Mohan S, Sjogren K, et al. The role of liver-derived insulin-like growth factor-1 [J]. *Endocr Rev* 2009, 30: 494-535.
- [75] Perrini S, Laviola L, Carreira MC, et al. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis [J]. *J Endocrinol* 2010, 205(3): 2012-210.
- [76] Walenkamp MJ, Karperien M, Pereira AM, et al. Homozygous and heterozygous expression of a novel insulinlike growth factor mutation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(5): 2855-2864.
- [77] Tsiroidis E, Gamie Z, Conaghan PG, et al. Biological options to enhance periprosthetic bone mass [J]. *Injured* 2007, 38(6): 704-713.
- [78] Jorgensen AP, Fougensen KJ, Ueland T, et al. Favorable long term effects of growth hormone replacement therapy on quality of life, bone metabolism, body composition and lipid levels in patients with adult-onset growth hormone deficiency [J]. *Growth Hormone and IGF Res* 2011, 21: 6975.
- [79] Han XG, Wang DW, Bi ZG, et al. Regulatory effect of estrogen receptor- α -mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway on osteoblast proliferation [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2016, 30(2): 381-387.
- [80] 孙晓琪. 雌二醇通过 G 蛋白偶联雌激素受体 30 (GPR30) / ERK1/2 信号通路调节 MC3T3-E1 细胞线粒体自噬的分子机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [81] 沈国蔚, 成心银, 颜世昌, 等. CFTR 在雌激素诱导破骨细胞凋亡中的作用机制研究 [J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2018, 33(11): 1150-1152.
- [82] 李伟娟, 谢保平, 石丽颖, 等. 从 ER α /RANK 通路探讨淫羊藿苷抑制破骨细胞分化作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(7): 121-126.
- [83] Trouvin AP, Goeb V. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to

- prevent bone loss [J]. *Clin Interv Aging*, 2010, 5: 345-354.
- [84] 张萌萌. 雌激素与雌激素受体的骨代谢调节作用 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(5): 704-708.
- [85] Kalkan R, Tulay P. The interactions between bone remodelling, estrogen hormone and EPH family genes [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2018, 28(2): 135-138.
- [86] 肖建德. 实用骨质疏松学 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 408-409.
- [87] 马涛, 李世昌, 孙朋, 等. 运动、免疫应答与骨代谢研究进展 [J]. *中国运动医学杂志*, 2011, 30(2): 199-205, 183.
- [88] Hobfauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α , but not IL-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells [J]. *Boll*, 1999, 25: 255-259.
- [89] 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(临床决策论坛版)*, 2006, 27(6): 60-61.
- [90] 陈德才. 白细胞介素6与骨质疏松症 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 1998, 4(1): 73-76.
- [91] Kim SK, Park KY, Yoon WC, et al. Melittin enhances apoptosis through suppression of IL-6/sIL-6R complex-induced NF- κ B and STAT3 activation and Bel-2 expression for human fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2011, 78(5): 471-477.
- [92] Karmakar S, Kay J, Gravalles EM. Bone damage in rheumatoid arthritis: Mechanistic insights and approaches to prevention [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2010, 36(2): 385-404.
- [93] Xu J, Wu HF, Ang ES, et al. NF- κ B modulators in osteolytic bone diseases [J]. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009, 20(1): 7-17.
- [94] 罗干. Th17 细胞及其相关细胞因子在骨质疏松症发病机制中的作用 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [95] Erlebacher A, Dernek R. Increased expression of TGF- β in osteoblast results an osteoporosis-like phenotype [J]. *J Cell Biol*, 1996, 132: 19-21.
- [96] 魏义勇, 石印玉. 转移生长因子 β 调控成骨细胞的分子机制 [J]. *中国中医骨伤科杂志* 2003, 11(5): 60-63.
- [97] Fox SW, Lovibond AC. Current insights into the role of transforming growth factor- β in bone resorption [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 243(1/2): 19-26.
- [98] Zhang H, Ahmad M, Gronowicz G. Effects of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) on in vitro mineralization of human osteoblasts on implant materials [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(12): 2013-2020.
- [99] Gilbert LC, Chen H, Lu X, et al. Chronic low dose tumor necrosis factor- α (TNF) suppresses early bone accrual in young mice by inhibiting osteoblasts without affecting osteoclasts [J]. *Bone* 2013, 56(1): 174.
- [100] 郑芳. TNF- α 结构与功能的关系 [J]. *国外医学: 免疫学分册* 2003, 26(2): 60.
- [101] 薛立伟, 张君, 王旭霞, 等. 肿瘤坏死因子- α 对大鼠成骨细胞生长影响的实验研究 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2009, 27(4): 378-380.
- [102] Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoblast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction [J]. *Exp Med* 2000, 191(2): 275-286.
- [103] Kitaure H, Kimura K, Ishida M, et al. Immunological reaction in TNF- α -mediated osteoclast formation and bone resorption in vitro and in vivo [J]. *Clin Dev Immunol* 2013(2): 1849.
- [104] 陈英, 张文玲, 黄涛, 等. 炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-17 与类风湿关节炎并发动脉粥样硬化的关系 [J]. *免疫学杂志*, 2017(3): 268-272.
- [105] Roggia C, Gao Y, Cenci S, et al. Up-regulation of TNF-producing T cells in the bone marrow: A key mechanism by which estrogen deficiency induces bone loss in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 13960-13965.
- [106] 张莉莉, 李玉坤. 生长因子对骨代谢影响的研究进展 [J]. *国际药学研究杂志* 2012, 39(2): 121-126.
- [107] Kaytor EN, Zhu JL, Pao CI, et al. Insulin-responsive nuclear proteins facilitate sp1 interactions with the insulin-like growth factor-I gene [J]. *Biol Chem*, 2001, 276(40): 36896-36901.
- [108] 黄洪新, 徐道华. 细胞因子与骨质疏松症 [J]. *国际骨科学杂志* 2011, 32(5): 307-309.
- [109] 舒强. 骨质疏松与胰岛素样生长因子 [J]. *国外医学: 内分泌学分册* 2000, 20(1): 21-23.
- [110] Zhang W, Shen X, Wan C, et al. Effects of insulin and insulin-like growth factor 1 on osteoblast proliferation and differentiation: differential signalling via Akt and ERK [J]. *Cell Biochem Funct*, 2012, 30(4): 297-302.
- [111] Locatelli V, Bianchi VE. Effect of GH/IGF-1 on bone metabolism and osteoporosis [J]. *Int J Endocrinol* 2014, 2014: 235060.
- [112] Wang Y, Nishida S, Elalieh HZ, et al. Role of IGF-1 signaling in regulating osteoclastogenesis [J]. *J Bone Miner Res* 2006, 21(9): 1350-1358.
- [113] 曾生柏, 巨现钦, 许汉进. 原发性骨质疏松发病机制与胰岛素样生长因子关系的研究进展 [J]. *国际医药卫生导报* 2012, 18(16): 2491-2494.
- [114] 梁晓萍, 肖学吕, 徐宜英, 等. 生长因子与老年性骨质疏松症相关性的临床研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2001, 7(2): 128-130.
- [115] Ohlsson C, Mellstrom D, Carlzon D, et al. Older men with low serum IGF-1 have an increased risk of incident fractures: the MrOS Sweden study [J]. *J Bone Mineral Res* 2010, 5: 855-836.

(收稿日期: 2019-08-20; 修回日期: 2019-08-27)