

2 型糖尿病患者骨密度改变与血浆 klotho 水平及其相关因素的关系

兰丹凤¹⁾, 王玲²⁾, 王玉明³⁾, 宋滇平³⁾, 杨秋萍³⁾

(1) 昆明医科大学附属儿童医院心内科, 云南昆明 650034; 2) 楚雄州医院内分泌科, 云南楚雄 675000; 3) 昆明医科大学第一附属医院糖尿病科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 研究 2 型糖尿病 (T2DM) 患者骨密度改变与血浆 klotho (KL) 水平及其相关因素的关系。**方法** 采用双能 X 线骨密度仪对 159 例 T2DM 患者进行骨密度测定, 分为骨量正常、骨量减少和骨质疏松 3 组, 用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定空腹血浆 KL 水平, 并检测相关临床资料和生化指标, 比较分析各组间的差异及其相关因素。**结果** (1) 3 组人群 KL 水平无明显差异 [(4.95 ± 0.48 vs 4.96 ± 0.47 vs 4.91 ± 0.49, $P > 0.05$); (2) 年龄、DM 病程、HDL-C 和 BMI 是影响 T2DM 患者骨密度改变的独立相关因素 (B 分别为 0.037、0.005、-1.011、-0.175, OR 分别为 1.038、1.005、0.364、0.84)。**结论** T2DM 患者骨密度下降及骨质疏松可能与血浆 KL 水平无相关性, 而年龄和 DM 病程是其危险因素, HDL-C 和 BMI 是其保护因素。

[关键词] 骨密度; Klotho 蛋白; 2 型糖尿病

[中图分类号] R547.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 08 - 0028 - 04

The Correlation of Bone Mineral Density with Plasma Klotho Levels and Its Related Factors in Type 2 Diabetic Patients

LAN Dan - feng¹⁾, WANG Ling²⁾, WANG Yu - ming³⁾, SONG Dian - ping³⁾, YANG Qiu - ping³⁾

(1) Dept. of Cardiology, The Affiliated Children Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032; 2) Dept. of Endocrinology, The Peoples Hospital of Chuxiong, Chuxiong Yunnan 675000; 3) Dept. of Diabetes, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation of bone mineral density (BMD) with plasma Klotho levels and its related factors in type 2 diabetic patients (T2DM). **Methods** BMD was measured by Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) in 159 T2DM patients. The patients were divided into three groups: normal bone mass, reduced bone mass and osteoporosis. The fasting plasma levels of Klotho were detected in these patients using enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA), clinical and biochemical parameters also were tested, the difference and related factors were compared and analyzed in each group. **Results** Plasma Klotho levels were not significantly different among the three groups (4.95 ± 0.48 vs 4.96 ± 0.47 vs 4.91 ± 0.49, $P > 0.05$). BMD at the first, second, third, fourth and total lumbar spine, femoral neck, trochanter and total body were not associated with plasma Klotho levels in these patients ($P > 0.05$). Age, diabetic duration, HDL-C and BMI were independent determinants for BMD in T2DM patients. **Conclusions** BMD might be not associated with plasma Klotho level in T2DM patients. But age, diabetic duration, HDL-C and BMI are associated with reduced BMD and osteoporosis in T2DM patients.

[Key words] Bone mineral density; Klotho protein; Diabetes mellitus Type 2

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2009CD166)

[作者简介] 兰丹凤 (1986~), 女, 云南昆明市人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事内分泌遗传代谢病研究工作。

[通讯作者] 杨秋萍. E-mail: yqp22@yahoo.com.cn

糖尿病患者易发生骨矿含量减少、骨密度降低及出现各种骨质疏松症的临床症状^[1]。近几年糖尿病相关性骨质疏松症开始被医学界所关注。Klotho (KL) 是一种与寿命和衰老表型相关的基因, 主要在肾脏和脑组织表达。目前研究发现 KL 和骨密度密切相关, 但对于其是否在糖尿病并骨质疏松症的发病中起作用, 尚未见报道。本研究旨在探讨 2 型糖尿病患者骨密度改变与血浆 KL 水平及其相关因素的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

选取 2008 年 7 月至 2009 年 5 月期间住院并已确诊的 T2DM 患者 159 例, 男 93 例, 女 66 例, 年龄 (57 ± 9) 岁, 均符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准。对 T2DM 患者进行骨密度 (bone mineral density, BMD) 测定, 根据 WHO1994 年推荐的骨质疏松标准分为 3 个组: 骨量正常 (BMD0) 组 77 例, 骨量减少 (BMD1) 组 59 例, 骨质疏松 (osteoporosis, OP) 组 23 例。所有研究对象均未服用性激素、糖皮质激素或任何影响钙磷代谢的药物。排除患有甲状腺疾病、Cushing 综合征、严重全身慢性疾病及合并糖尿病急性并发症患者。

1.2 方法

测量收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP), 身高、体重并计算体重指数 (BMI)。使用 Olympus AU5400 全自动生化分析仪测定总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、尿酸 (UA)、尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Scr); 用乳胶凝集反应法测定糖化血红蛋白 (HbA1c)。采用 ELISA 法检测血浆 KL 水平, 试剂盒购于美国 R&D 公司。使用美国 GE 公司的双能 X 线骨密度仪对 T2DM 患者进行骨密度测定, 检测部位为第 1、2、3、4 腰椎 (L₁ ~ L₄), 股骨颈和股骨大粗隆。参照 WHO1994 年推荐的骨质疏松标准: 如有 1 个或 1 个以上部位 T 值 (所测骨密度与正常同性别、同部位峰值骨量的

差) ≤ -2.5 个标准差 (SD) 诊断为骨质疏松症, -1SD ≥ T > -2.5SD 诊断为骨量减少, T > -1SD 诊断为骨量正常。所有骨密度测定结果由美国 GE 公司配置的软件进行分析。

1.3 统计学处理

计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 非正态分布资料经对数处理, 3 组数据之间比较采用单因素方差分析, LSD-t 或 SNK-q 检验, 协方差分析校正组间因素差异的影响。指标间关系采用直线相关性分析。相关因素做 Logistic 多因素回归分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。采用 SPSS 软件完成。

2 结果

2.1 各组临床资料比较

BMD0、BMD1 和 OP 组间比较除 SBP、DBP、UA 和 KL 水平外, 各项指标存在统计学差异 (P < 0.05) (BMD 为骨密度全身均值)。为排除混杂因素的干预, 以年龄、性别、TC、TG、HDL-C、LDL-C、BMI、BUN、Scr、HbA1c 为协变量进行协方差分析, 校正这些组间因素的影响后, 各组间 KL 水平差异无统计学意义 (P > 0.05), 见表 1。

2.2 骨密度与 KL 水平的相关性分析

采用直线相关分析发现, 第 1 腰椎、第 2 腰椎、第 3 腰椎、第 4 腰椎、腰椎均值、股骨颈、股骨大粗隆和全身均值骨密度与 KL 水平均无相关性 (r 分别为 0.022、0.02、0.013、-0.02、-0.001、0.001、0.000、0.02, P > 0.05)。

2.3 T2DM 患者骨密度改变的相关因素分析

以有无骨密度改变 (骨量减少和骨质疏松) 为因变量, 年龄、TC、TG、HDL-C、LDL-C、BUN、Scr、BMI、UA、KL 水平、有无高血压和 DM 病程为自变量, 采用 Logistic 回归分析, 年龄、DM 病程、HDL-C 和 BMI 最终被留在模型中, 年龄和 DM 病程是影响 T2DM 患者骨密度下降和骨质疏松的危险因素, 而 HDL-C 和 BMI 是其保护因素 (表 2)。

表 1 各组临床和生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (1)

Tab. 1 Comparison of clinical and biochemical parameters among three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	UA(μmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)
BMD0	77	54 ± 9	137 ± 32	87 ± 22	332.26 ± 94.20	6.02 ± 2.21	3.13 ± 1.92	1.43 ± 0.72
BMD1	59	58 ± 9 [△]	141 ± 25	87 ± 14	305.27 ± 84.31	6.54 ± 2.03 ^{*△}	4.21 ± 2.64 ^{*△}	1.18 ± 0.46
OP	23	64 ± 6 [*]	150 ± 34	90 ± 17	295.74 ± 76.62	8.32 ± 2.71 [*]	4.70 ± 1.72 [*]	1.01 ± 0.33 [*]

与 BMD0 组比较, *P < 0.05; 与 OP 组比较, [△]P < 0.05。

表 1 各组临床和生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$) (2)Tab. 1 Comparison of clinical and biochemical parameters among three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	LDL-C(mmol/L)	BUN(mmol/L)	Scr(umol/L)	HbA1c(%)	BMI(Kg/m ²)	BMD(g/m ²)	Klotho(ng/mL)
BMD0	3.82 ± 1.40	4.32 ± 1.56	90.53 ± 26.25	7.43 ± 2.11	25.04 ± 3.12	1.03 ± 0.12	4.95 ± 0.48
BMD1	4.12 ± 1.43 [△]	4.93 ± 1.71*	93.92 ± 24.76 [△]	8.20 ± 2.13* [△]	23.36 ± 3.14	0.85 ± 0.24* [△]	4.96 ± 0.47
OP	5.31 ± 1.35*	5.02 ± 1.54*	117.34 ± 54.72*	9.32 ± 1.95*	22.13 ± 4.15*	0.65 ± 0.32*	4.91 ± 0.49

与 BMD0 组比较, * $P < 0.05$; 与 OP 组比较, $\Delta P < 0.05$.

表 2 T2DM 患者骨密度改变相关因素的 Logistic 回归分析

Tab. 2 The Logistic regression analysis of correlated factors of BMD in T2DM patients

相关因素	B	OR	95%CI (OR)
年龄 Age	0.037	1.038	0.995 ~ 1.082
DM 病程 Diabetic Duration	0.005	1.005	0.999 ~ 1.011
HDL-C	-1.011	0.364	0.159 ~ 0.834
BMI	-0.175	0.840	0.750 ~ 0.940

3 讨论

T2DM 常合并骨量减少和骨质疏松^[2], 已成为致骨折、致残的重要原因. KL 是 Kuro 等^[3]发现的与衰老有关的基因. 由于其对衰老和老龄化疾病的特殊的作用, 使其成为医学研究的热点. 目前关于 KL 与骨密度改变的相关性研究较多, 但所得结论不尽一致. Yamada 等^[4]在对日本女性 KL 基因 G-395A 多态性的研究发现, 绝经后的女性中携带 GG 基因型者其整个身体或腰椎的骨密度较携带 GA 或 AA 基因型者低, 在绝经前的女性中无此相关性. Riancho 等^[5]、Zarrabeitia 等^[6]应用 TaqMan 荧光探针法在西班牙人群中研究 KL 基因 F352V 多态性与骨密度的关系, 发现绝经后的女性中携带 FF 基因型者其髌骨密度较携带 FV 或 VV 型者低, 在绝经前的女性中无此相关性, 亦未发现此多态性与骨质疏松性骨折相关; 在西班牙较年轻的男性人群(年龄 19 ~ 53 岁)中, 携带 FF 基因型者其腰椎、髌骨密度较携带 FV 或 VV 型者低, 在较老的男性(年龄 53 ~ 83 岁)中无此相关性. 田小春等^[7]应用等位基因特异性引物 PCR 技术对重庆老年汉族人群的研究发现, KL 基因 G-395A 多态性与原发性骨质疏松症有相关性, 而 F352V、C370S 多态性与其不相关, 携带 A 等位基因者对原发性骨质疏松症的易感性增加, 进行性别分层研究后仅男性人群中存在此相关性. 顾怡然等^[8]应用实时荧光定量 PCR 技术研究卵巢摘除致雌性大鼠骨质疏松过程中 KL 表达的变化, 发现骨质疏松大鼠肾脏组织中 KL 的表达显著下降. 本研究以 T2DM 患者为研究对象, 应用 ELISA 方法检测 KL 的表达, 未发现血

浆 KL 水平与骨密度减少及骨质疏松有相关性. 研究结果的不一致可能与所选取的样本和采用的研究方法不同有关. 同时以人群为基础的病例对照分析存在人群分层现象, KL 可能对不同年龄段、不同性别和不同生理状态的女性所起的作用不相同. 此外, 由于本研究人群中骨量减少和骨质疏松患者人数较少, 因此血浆 KL 与 T2DM 患者骨密度改变的具体相关性尚有待于扩大样本量进一步研究.

T2DM 患者骨密度的改变是多因素综合作用的结果. 本研究中 Logistic 回归分析发现, 年龄、DM 病程、HDL-C 和 BMI 是影响 T2DM 患者骨密度下降及骨质疏松的独立因素. 随着年龄的增长, 骨重建功能衰退, 性激素缺乏导致骨吸收加速, 蛋白质摄入不足等, 导致骨量减少^[9]. T2DM 患者随病程的延长出现骨量减少和骨折的风险增加, 糖尿病引发的骨质疏松症起病隐匿, 早期无症状而容易被人们忽视, 因此 T2DM 患者应该早期预防骨质疏松的发生. HDL-C 作为一种血浆脂蛋白, 在体内将外周组织包括动脉壁在内的胆固醇转运到肝脏进行代谢, 发挥抗动脉粥样硬化 (AS) 作用. 已有研究表明 AS 与低骨密度有共同的危险因素及发病机制. 故 HDL-C 可能通过抗 AS 而发挥对骨密度的保护作用. 另外, 体重也是影响骨密度的一个重要指标, 本研究显示 T2DM 患者体重下降易导致骨量丢失及骨质疏松症的发生. 但 T2DM 患者的骨密度除了与宏观体重改变有关, 还与体质成分的改变有关. 临床研究显示高肌肉含量 / 低脂肪含量的患者骨密度水平增高^[10]. 故 T2DM 患者在保持体重的同时, 还应注意自己的体质成分.

(下转第 50 页)