

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.16.020

氟骨症患者血清骨钙素与糖代谢关系的研究*

张美林¹ 李 甜¹ 白生宾¹ 冯树梅¹ 李东阳² 张亚楼¹ 陈 龙¹ 钟近洁^{1Δ}

(1 新疆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室 新疆 乌鲁木齐 830011;

2 新疆阿克苏市卫生局地方病防治研究所 新疆 阿克苏 843000)

摘要 目的:探讨氟骨症患者血清中骨钙素(Osteocalcin,OCN)与糖代谢之间的关系。**方法:**在新疆阿克苏地区饮水型氟中毒病区沙雅县等,通过WS192-2008《地方性氟骨症诊断标准》确诊的患者60例作为氟骨症组;选取该地区经相同诊断方法诊断为无氟中毒骨病变的,且经X线拍片排除佝偻病等相关骨骼疾病的健康60例作为对照组。采集血清酶联免疫吸附实验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法与化学法等检测总骨钙素(Total osteocalcin tOCN)、未羧化骨钙素(Uncarboxylated osteocalcin, ucOCN)、空腹胰岛素(Fasting insulin, FINS)、空腹血糖(Fasting blood glucose, GLU)及糖化血清蛋白(Glycated serum protein, GSP)水平,计算胰岛素抵抗指数(Insulin resistance index, HOMA-IR)。SPSS16.0软件进行数据统计, Pearson 法分析氟骨症 OCN 与糖代谢指标之间的相关性。**结果:**与对照组比较,氟骨症组 ucOCN、FINS、GSP 水平显著升高($P<0.05$)。氟骨症组 OCN、HOMA-IR 较对照升高但无统计学差异($P>0.05$)。氟骨症组 GLU 水平与对照组相比降低但无统计学差异($P>0.05$)。相关回归分析显示氟骨症组 ucOCN 与 FINS 呈正相关($r=0.543, P<0.05$),与 GLU、HOMA-IR 呈负相关性($r=-0.902, r=-0.530, P<0.05$),与 OCN、GSP 无相关性($P>0.05$)。**结论:**氟骨症患者血清未羧化骨钙素显著升高,影响胰岛素分泌与抵抗,与糖代谢紊乱有一定相关性。

关键词:氟骨症;骨钙素;糖代谢**中图分类号:**R599 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)16-3079-04

Study on Skeletal Fluorosis of Serum Osteocalcin and Glucose Metabolism Relationship*

ZHANG Mei-lin¹, LI Tian¹, BAI Sheng-bin¹, FENG Shu-mei¹, LI Dong-yang², ZHANG Ya-lou¹, CHEN Long¹, ZHONG Jin-jie^{1Δ}

(1 Dept. of Histology and Embryology, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China;

2 Institute of endemic disease prevention and control, Akesu Municipal Health Bureau, Akesu, Xinjiang, 843000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between serum osteocalcin (OCN) and glucose metabolism in patients with skeletal fluorosis. **Methods:** Sixty patients were diagnosed as skeletal fluorosis by WS192-2008 "Diagnostic criteria of endemic skeletal fluorosis" in shaya county, Aksu area in xinjiang, where is drinking water type fluorosis ward. Sixty healthy people were regarded as control groups using the same method, which excluded rickets by x ray. The serum levels of Total osteocalcin (tOCN), Uncarboxylated osteocalcin (ucOCN) and Fasting insulin (FINS) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the serum levels of Fasting blood glucose (GLU) and Glycated serum protein (GSP) were analyzed by chemical method, then calculated the insulin resistance index (HOMA-IR). SPSS16.0 software was used to data statistics, and the correlation between OCN and glucose metabolism was analyzed by Pearson method. **Results:** Compared with the control group, the levels of ucOCN, FINS and GSP in the skeletal fluorosis group were significantly increased ($P<0.05$), OCN and HOMA-IR in the skeletal fluorosis group increased, but no statistical difference ($P>0.05$). GLU level in the skeletal fluorosis group decreased but was no significant difference between the skeletal fluorosis group and the control group ($P>0.05$). Correlative regression analysis showed that ucOCN was positively correlated with FINS in skeletal fluorosis group ($r=0.543, P<0.05$), ucOCN was negatively correlated with GLU and HOMA-IR in skeletal fluorosis group, ($r=-0.902, r=-0.530, P<0.05$), ucOCN was no correlation between with OCN and GSP in skeletal fluorosis group ($P>0.05$). **Conclusion(s):** The serum level of ucOCN was significantly elevated in patients with skeletal fluorosis, possibly affecting insulin secretion and resistance, and having a certain relevance with glucose metabolism disorders.

Key words: Skeletal fluorosis; Osteocalcin; Glucose metabolism**Chinese Library Classification (CLC):** R599 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2017)16-3079-04

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160331)

作者简介:张美林(1991-),硕士研究生,主要研究方向:未羧化骨钙素对氟致糖代谢紊乱的调节作用,

电话:15292866195, E-mail: m15292866195-2@163.com

Δ 通讯作者:钟近洁(1973-),博士,教授,主要研究方向:骨组织工程,电话:09914362395, E-mail: zhongjinjie@sina.com

(收稿日期:2016-12-03 接受日期:2016-12-25)

前言

骨钙素(osteocalcin,OCN)是成熟成骨细胞合成和分泌的一种特异的非胶原骨基质蛋白。测定血中骨钙素,一方面能反映成骨细胞的活性,但在更大程度上反映的是骨转换^[1]。有学者认为地方性氟中毒的特征性病变过程主要表现为骨软化、骨硬化、骨质疏松和异位骨化,即为骨组织的骨转换加速^[2]。因而,骨钙素水平能够反映氟骨症患者体内骨转换的程度。早在2002年梁君慧^[3]检测了氟骨症患者血清中骨钙素水平,结果显示氟骨症组血清骨钙素明显高于对照组。

但骨钙素有羧化和未羧化两种形式,完全羧化的骨钙素并无生物活性,与钙离子亲和力增加,有利于与羟基磷灰石结合,更多存在于骨基质中,促进骨骼形成。未羧化的骨钙素具有较低的骨亲和力,多在血液循环中发现,具有很强的生物活性,是调节能量代谢的主要形式^[4]。在小鼠体内未羧化骨钙素可以改善糖耐量和胰岛素敏感性,参与葡萄糖代谢的调节,通过增加β细胞内胰岛素和脂联素在脂肪细胞中的表达和分泌^[5]。高剂量的氟可以引起胰岛细胞损害,糖化血红蛋白升高,血糖升高,胰岛素分泌发生变化^[6]。因此本研究拟检测氟骨症患者体内两种形式骨钙素与糖代谢相关指标的水平,并分析探讨相互之间的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象的选择

2014年新疆阿克苏地区地方性饮水型氟中毒病区氟骨症情况调查时,通过WS192-2008《地方性氟骨症诊断标准》确诊的氟骨症患者60例;选取该地区经相同诊断方法诊断为无氟中毒骨病变的,且经X线拍片排除佝偻病等相关骨骼疾病的前往医院就诊的其他病人60例作为对照组。同时调查记录受试者一般情况、饮食与家庭经济等基础资料。取样均征得受试者本人同意并签署了知情同意书。

1.2 实验方法

(1)标本的采集:清晨采集调查对象空腹(禁食、禁水12-14h)静脉血5mL于无抗凝剂玻璃管,静置30min,3000r/min离心15min,取上清放入-80℃冰箱备用。

(2)标本的检测:

a 酶联免疫吸附法检测ucOCN、FINS、OCN水平:试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。ucOCN酶标板每孔中加待测血清50μL,每个样设2个复孔。37℃孵育,洗涤后加入酶标试剂50μL,再次孵育与洗涤。加入显色剂,避光显色后加终止液终止反应。450nm波长处读取吸光度(OD)值。FINS与OCN检测方法同上。cvxpt32软件中绘制标准品线性回归曲线,按曲线方程计算各样本浓度。

b 化学发光法检测GLU、GSP水平:试剂盒购自浙江夸克生物科技有限公司。将血清500μL放入UniCel Dx C800全自动生化仪进样口进行检测,30min后读取并记录GLU、GSP检测结果。

c 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR):按照公式HOMA-IR=GLU×FINS/22.5计算。

1.3 资料整理与分析

资料录入采用Excel软件,资料整理和分析采用SPSS 16.0统计软件包。服从正态分布的数值变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间各指标经过方差齐性检验比较后采用独立样本t检验,ucOCN与其他指标的相关性采用Pearson相关分析。

2 结果

2.1 一般情况

氟骨症组男性36例,女性24例,平均年龄为60.52±12.82岁,平均体重63.96±13.22kg,平均身高1.62±0.09m。对照组男性36例,女性24例,平均年龄为62.52±11.17岁,平均体重65.56±8.96kg,平均身高1.61±0.06m。氟骨症组与对照组之间,在年龄、性别、体重和身高等特征上比较差异均无统计学意义(P均>0.05)。见表1。

表1 氟骨症组与对照组一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the general situation of skeletal fluorosis group and control group

Groups	Age	Height(m)	Weight(kg)	BMI(kg/m ²)
Skeletal fluorosis group	60.52±12.82	1.62±0.09	63.96±13.22	28.09±4.70
Control group	62.52±11.17	1.61±0.06	65.56±8.96	30.20±4.16
t	-0.588	0.054	-0.501	-1.681
P	0.559	0.957	0.619	0.099

2.2 氟骨症患者血清骨钙素含量的检测

氟骨症组总骨钙素为7.73±1.61ng/mL,与对照组比较无统计学差异(P>0.05),其中未羧化骨钙素为6.24±2.04ng/mL,明显高于对照组(P<0.05);见表2。

2.3 氟骨症患者糖代谢相关指标的检测

氟骨症组空腹胰岛素(FINS)与糖化血红蛋白(GSP)水平明显高于对照组(P<0.05);而空腹血糖(GLU)与胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)虽有差异,但与对照组比较,无统计学差异(P>0.

05)。见表3。

2.4 氟骨症组ucOCN与tOCN、FINS、GLU、GSP和HOMA-IR相关分析

ucOCN与FINS呈正相关(P<0.05);与GLU、HOMA-IR呈负相关(P<0.05);与tOCN、GSP无相关性(P>0.05)。见表4。

3 讨论

骨钙素(OCN)可直接反映骨组织的形成及骨转换情况,氟

表 2 氟骨症组与对照组血清 tOCN 与 ucOCN 含量比较

Table 2 Comparison of serum tOCN and ucOCN levels in skeletal fluorosis group and control group

Groups	tOCN (ng/mL)	ucOCN (ng/mL)
Skeletal fluorosis group	7.73± 1.61	6.24± 2.04*
Control group	6.98± 1.32	4.74± 1.44
t	1.797	3.011
P	0.079	0.004

Note: compared with the Control group *P<0.05.

表 3 氟骨症组与对照组血清 FINS、GLU、GSP、HOMA-IR 水平比较

Table 3 Comparison of serum levels of FINS, GLU, GSP and HOMA-IR in skeletal fluorosis and control group

Groups	FINS (ng/mL)	GLU (mmol/L)	GSP (mmol/L)	HOMA-IR
Skeletal fluorosis group	8.36± 1.42*	4.88± 1.06	2.33± 0.64*	1.78± 0.34
Control group	7.12± 2.25	5.14± 0.77	2.04± 0.30	1.59± 0.47
t	2.329	-0.971	2.036	1.643
P	0.024	0.336	0.047	0.107

Note: compared with the Control group *P<0.05

表 4 氟骨症组 ucOCN 与 tOCN、FINS、GLU、GSP 和 HOMA-IR 相关分析

Table 4 Correlation analysis of ucOCN and tOCN, FINS, GLU, GSP, HOMA-IR and in skeletal fluorosis group

Statistical indexes	tOCN	FINS	GLU	GSP	HOMA-IR
r	0.086	0.543*	-0.902*	0.103	-0.530*
P	0.683	0.005	0.001	0.626	0.006

Note: *P<0.05.

骨症是长期摄入过量氟导致的骨损害,其血清骨钙素水平有可能发生变化。已有多篇文献报道,氟骨症时机体内骨钙素,即总骨钙素水平升高,是骨转换加速的标志之一。李明峰等^[7-9]研究表明人群在高氟暴露下可显著提高血清骨钙素水平。动物实验结果也显示加氟组大鼠成骨细胞活动比较旺盛,骨活动增强,骨钙素随着染氟剂量的增加而升高^[10]。但本研究结果发现,氟骨症组总骨钙素(tOCN)水平与对照组相比,无统计学差异,与其他研究结果不一致,考虑可能是由于本研究选择的研究对象平均年龄大于 60 岁,骨转换速率相对降低,血清中骨钙素水平相对稳定所致。

骨钙素具有很强的结合羟磷灰石的能力,大部分沉积在骨基质中,而其中的未羧化骨钙素(ucOCN)与羟磷灰石结合能力低,大多分泌后直接进入血液循环^[4]。研究发现,在酸性环境中骨钙素分子中的谷氨酸(Gla)可以脱羧为 ucOCN^[11]。当机体骨组织长期处于较高浓度氟环境时,氟主要是通过作用于成骨细胞和破骨细胞,改变其成骨与破骨活动,促进骨吸收及分泌酸性物质又可使 OCN 脱羧形成 ucOCN 入血^[12]。本研究中氟骨症组 ucOCN 明显高于对照组,与 tOCN 无相关性,可能是由于患者体内骨质的高氟环境促使骨钙素不断脱羧形成 ucOCN,进入血液循环,在血清中维持一个较高水平,并作用于其效应器官。

近年来研究发现 ucOCN 可以诱导脂肪细胞中脂联素和胰岛中胰岛素的表达,提高胰岛素的分泌量,促进组织对胰岛素的

的敏感性^[13],这一作用与 tOCN 无关。Jianwen Wei^[14]证明 ucOCN 可以通过刺激胰岛细胞的增殖和调节胰岛细胞的基因表达来增加胰岛素的分泌量。本研究发现氟骨症组 ucOCN 显著升高,且与空腹胰岛素水平呈正相关,提示正是氟在一定程度上刺激 ucOCN 的不断形成进而促进胰岛素的合成,后一途径与众多研究^[15-17]结果一致,但在氟骨症患者体内,氟是促进这一途径产生的重要原因。

本研究发现,氟骨症患者体内随着 ucOCN 与空腹胰岛素水平的升高,血糖、胰岛素抵抗指数与其呈负相关关系。而实验证明高剂量氟可短期内加剧糖尿病引起的大鼠体质量下降和血糖升高,明显降低大鼠胰岛素敏感性^[5,18,19]。氟在 4 mg/L 或低于 4 mg/L 时可导致葡萄糖耐量异常^[20]。氟还能严重干扰糖酵解过程中的 COA、ATP 及 Mg²⁺ 的水平,从而抑制 6-磷酸甘油酸激酶、己糖激酶、丙酮酸激酶、磷酸己糖激酶、丙酮酸激酶的活性,影响糖代谢^[21]。因而,虽然过量氟对胰岛的功能有直接损害作用,但氟同时也促进机体产生 ucOCN 与胰岛素,改善胰岛素的敏感性,降低血糖,参与糖代谢的调节,两种作用叠加,可能在一定程度上掩盖了氟致糖代谢紊乱的进程。

综上所述,氟骨症患者体内未羧化骨钙素升高,从而促进胰岛素的分泌、增加胰岛素的敏感性、改善糖耐量。因此未羧化骨钙素是葡萄糖代谢调节的重要参与因子。但高剂量的氟又可加剧糖尿病的发展。故未羧化骨钙素可能在氟致糖代谢紊乱,加快、加重糖尿病发展进程中对糖代谢起积极保护性作用,但

具体保护机制尚不清楚需进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] 陈家伦. 临床内分泌学[M]. 上海科学技术出版社, 2011: 1359-1360
Chen Jia-lun. Clinical Endocrinology [M]. Shanghai Science publishing house, 2011: 1359-1360
- [2] 陈锡山, 于燕妮. Wnt 经典信号通路与氟骨症 [J]. 中华地方病学杂志, 2014, 33(1): 113-115
Chen Xi-shan, Yu Yan-ni. Wnt classical signaling pathway and skeletal fluorosis [J]. China Journal of endemic diseases, 2014, 33(1): 113-115
- [3] 梁君慧, 陈凤琴, 成小梅. 氟骨症患者骨密度与血清骨钙素和生化指标的相关分析[J]. 中国地方病学杂志, 2002, 21(4): 304-305
Liang Jun-hui, Chen Feng-qin, Cheng Xiao-mei. The study of biochemical markers interactive analysis related to skeletal fluorosis's patients' BMD and BGP [J]. Chinese Journal of endemic diseases, 2002, 21(4): 304-305
- [4] Bartell SM, Rayalam S, Ambati S, et al. Central (ICV) leptin injection increases bone formation, bone mineral density, muscle mass, serum IGF-I, and the expression of osteogenic genes in leptin-deficient ob/obmice[J]. J Bone Miner Res, 2011, 26: 1710-1720
- [5] 李甜, 白生宾, 钟近洁, 等. 过量氟对小鼠糖代谢的影响 [J]. 中华地方病学杂志, 2015, 34(3): 178-180
Li Tian, Bai Sheng-bin, Zhong Jin-jie, et al. The effects of excessive fluoride on glucose metabolism in mice[J]. China Journal of endemic diseases, 2015, 34(3): 178-180
- [6] Villafañ n-Bernal JR, Sá nchez-Enrí quez S, Muñoz-Valle JF. Molecular modulation of osteocalcin and its relevance in diabetes [J]. Int J Mol Med, 2011, 28(3): 283-293
- [7] 李明峰, 马俊香, 宋玉娥, 等. 不同氟负荷人群骨钙素及降钙素水平的检测与分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2009, 27(12): 761-762
Li Ming-feng, Ma Jun-xiang, Song Yu-e, et al. Detection and analysis of serum osteocalcin and serum calcitonin level among different fluoride burden groups [J]. Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, 2009, 27(12): 761-762
- [8] 向全永, 臧红飏, 刘湘琳. 血清氟与骨密度和血清骨钙素的剂量-效应关系及其基准剂量的研究 [J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30: 199-202
Xiang Quan-yong, Zang Hong-biao, Liu Xiang-lin. Study of serum fluorine and bone density and serum osteocalcin dose effect relationship and benchmark dose [J]. Chinese Journal of endemic diseases, 2011, 30: 199-202
- [9] 臧红飏, 刘湘琳, 向全永. 血清氟与骨密度和骨钙素关系及其基准剂量[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(1): 111-112
Zang Hong-biao, Liu Xiang-lin, Xiang Quan-yong. Serum fluoride and its relationship with bone mineral density and osteocalcin benchmark dose [J]. Chinese Journal of Public Health, 2012, 28(1): 111-112
- [10] 高彦辉, 耿利彬, 赵丽军等. 氟对大鼠骨代谢的影响 [J]. 中国地方病学杂志, 2010, 29(6): 613-615
Gao Yan-jun, Geng Li-bing, Zhao Li-jun, et al. Effect of fluoride on bone metabolism in rats [J]. Chinese Journal of endemic diseases, 2010, 29(6): 613-615
- [11] Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism [J]. Cell, 2010, 142(2): 296-308
- [12] 董雪, 侯佳琪, 梁旭月, 等. 骨钙素的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(1): 67-69
Dong Xue, Hou Jia-qi, Liang Xu-yue, et al. The research progress of osteocalcin[J]. Journal of Jilin Medical University, 2016, 37(1): 67-69
- [13] M Pi, Y Wu, LD. Quarles, GPRC6A mediates responses to osteocalcin in beta-cells in vitro and pancreas in vivo [J]. Bone and Mineral Research, 2011, 26(7): 1680-1683
- [14] Jianwen Wei, Timothy Hanna, Nina Suda, et al. Osteocalcin Promotes b-Cell Proliferation During Development and Adulthood Through Gprc6a[J]. Diabetes, 2014, 63(3): 1021-1031
- [15] Saucedo R, Rico G, Vega G, et al. Osteocalcin, under-carboxylated osteocalcin and osteopontin are not associated with gestational diabetes mellitus but are inversely associated with leptin in non-diabetic women[J]. J Endocrinol Invest, 2015, 38(5): 519-526
- [16] Terence E Donovan, DDSa, RiccardoMarzola, DDSb, et al. Annual review of selected scientific literature: Report of the Committee on Scientific Investigation of the American Academy of Restorative Dentistry [J]. The Journal of Prosthetic Dentistry, 2014, 112 (5): 1038-1087
- [17] Saleem U, Mosley TJ, Kullo IJ. Serum osteocalcin is associated with measures of insulin resistance, adipokine levels, and the Presence of metabolic syndrome [J]. Arterioscler Thromb Vasc BioZ, 2010, 3(3 (7): 1474-1478
- [18] 李凤, 刘佰纯, 吕鹏, 等. 氟对链脲佐菌素诱导的 I 型糖尿病大鼠的毒性作用及其对糖尿病进程的影响[J]. 吉林大学学报, 2014, 40 (1): 55-59
Li Feng, Liu Bai-chun, Lu Peng, et al. Toxicity effect of fluoride on rats with type 1 diabetes mellitus induced by streptozotocin and its influence in process of diabetes mellitus [J]. Journal of Jilin University, 2014, 40(1): 55-59
- [19] Lima Leite, Aline, Gualium Vaz Madureira Lobo, et al. Proteomic Analysis of Gastrocnemius Muscle in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes and Chronically Exposed to Fluoride [J]. PLoS ONE, 2014, 9(9): 1-10
- [20] Terence E. Donovan, DDSa, RiccardoMarzola, DDSb, et al. Annual review of selected scientific literature: Report of the Committee on Scientific Investigation of the American Academy of Restorative Dentistry[J]. The Journal of Prosthetic Dentistry, 2014, 112(5): 1038-1087
- [21] 朱绯, 周良生, 李术. 氟中毒致贫血的研究进展 [J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(1): 133-137
Zhu Fei, Zhou Liang-sheng, Li Shu. Research progress on anemia caused by fluorosis [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 40(1): 133-137