

氟接触人群血清中硬骨素的表达及其与氟性骨损伤的关系

崔彩岩¹, 李华兵², 刘克俭¹, 何晓宏³, 李长城¹, 杨继先³, 刘晓利¹, 俞斌³, 张裕曾¹

摘要: [目的] 观察氟接触人群血清中人硬骨素(sclerostin, SOST)的水平, 分析其与碱性磷酸酶(alanine phosphatase, ALP)及氟性骨损伤的相关性, 探讨SOST在氟性骨损伤发生中的作用及其机制。[方法] 采用问卷调查氟接触人群的一般情况、既往史及现患疾病情况, 采集静脉血检测SOST、ALP、血氟等指标, 并对其进行前臂正位X线检查, 采用SPSS 18.0统计软件对数据进行统计学分析。[结果] 高氟组SOST为(4.806 ± 0.525) $\mu\text{g}/\text{L}$, 与中氟组和低氟组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); 高氟组的SOST阳性率为25.0%, 与低氟组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 损伤组、未损伤组和对照组的SOST分别为(4.870 ± 0.504) $\mu\text{g}/\text{L}$ 、(5.100 ± 0.627) $\mu\text{g}/\text{L}$ 和(5.234 ± 0.603) $\mu\text{g}/\text{L}$, 损伤组与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 高氟区对象血清SOST与ALP之间的线性相关系数为 -0.319 ($P=0.001$); 血清SOST与氟性骨损伤密切相关, SOST阳性者患氟性骨损伤的风险是SOST阴性者的2.417倍($P < 0.05$)。[结论] 氟接触人群SOST明显降低, SOST与ALP活性及氟性骨损伤的发生发展有关, 降低的SOST可能参与骨代谢及骨损伤过程, 其确切机制有待进一步深入研究。

关键词: 血氟; 硬骨素; 碱性磷酸酶; 氟性骨损伤

A Probable Correlation between Serum SOST Expression and Fluoride Bone Injury among Fluoride Exposed Population CUI Cai-yan¹, LI Hua-bing², LIU Ke-jian¹, HE Xiao-hong³, LI Chang-cheng¹, YANG Ji-xian³, LIU Xiao-li¹, YU Bin³, ZHANG Yu-zeng¹ (1.Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China; 2.Hubei Jianshi Center for Disease Control and Prevention, Jianshi, Hubei 445300, China; 3.Hubei Enshi Center for Disease Control and Prevention, Enshi, Hubei 445000, China). Address correspondence to LIU Ke-jian, E-mail: lkj484@sohu.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To observe the expression of human serum sclerostin (SOST) in fluoride (F) exposed population, to study its correlation with alkaline phosphatase (ALP) and F bone injury, and try to explore the role of SOST in the process of F bone injury. [Methods] General physical status, past and present health state of people exposed to fluoride were questionnaire. Their blood samples were collected from the cubital vein to measure the concentrations of SOST, ALP and blood fluoride (BF). Their orthophoric forearm radiographies were taken. Statistical analysis was performed with SPSS 18.0. [Results] The concentration of SOST in high BF group was (4.806 ± 0.525) $\mu\text{g}/\text{L}$, which was significantly different from that in middle group and low group ($P < 0.01$). The SOST positive rate of high BF group was 25.0%, which was significantly different from that of low BF group ($P < 0.05$). The SOST concentration in injury group, non-injury group and control group were (4.870 ± 0.504) $\mu\text{g}/\text{L}$, (5.100 ± 0.627) $\mu\text{g}/\text{L}$ and (5.234 ± 0.603) $\mu\text{g}/\text{L}$ respectively, and there was significant difference between injury group and non-injury group ($P < 0.05$). The linear correlation coefficient of SOST and ALP in high fluoride area was $r=-0.319$ ($P=0.001$). Individuals with SOST positive rendered, significantly higher risk to develop F bone injury ($OR=2.417$) compared with those with SOST negative ($P < 0.05$). [Conclusion] The serum SOST is significantly decreased in fluoride exposed population. SOST is related to ALP rising and fluorosis like bone injury. The reduced SOST may be involved in the development of fluorosis bone injury, however, its mechanism is still unrevealed.

Key Words: 血氟; 硬骨素(SOST); 碱性磷酸酶(ALP); 氟性骨损伤

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 81072255)

[作者简介] 崔彩岩(1983—), 女, 硕士生; 研究方向: 劳动卫生与环境卫生; E-mail: 1275177505@qq.com

[通信作者] 刘克俭教授, E-mail: lkj484@sohu.com

[作者单位] 1. 华中科技大学同济医学院, 湖北 武汉 430030; 2. 湖北建始县疾病预防控制中心, 湖北 建始 445300; 3. 湖北省恩施自治州疾病预防控制中心, 湖北 恩施 445000

氟化物可引起机体骨代谢增强, 尤以成骨活动增强为主, 长期过量摄入即可导致氟性骨损伤的发生, 是氟接触人群致残、致瘫、劳动能力降低的主要原因。人硬骨素(sclerostin, SOST)是骨代谢过程中起重要作用的调控因子, 其通过抑制Wnt信号传导通路对骨代谢进行调节^[1], 在成骨细胞发生和骨形成过程中发挥着重要的作用。本研究拟通过检测与分析接氟人群血清中SOST的表达水平并分析其与骨形成标志物碱性磷酸酶(alanine phosphatase, ALP)及氟性骨损伤的关系, 探讨

SOST在氟性骨损伤发生过程中的作用及其机制。

1 对象和方法

1.1 对象

根据某市疾病预防控制中心历年氟危害监测数据,按照GB 17018—1997地方性氟中毒病区划分标准^[2],选择该地区地氟病高发区为高氟区,同时选择自然环境、经济水平及饮食习惯基本一致的非氟病区为对照区。对调查点居住20年以上的居民进行问卷调查,在知情同意的原则下采集空腹静脉血5mL,并对其进行前臂正位X线检查。

1.2 方法

对调查人员进行严格培训,取得研究对象知情同意书后,采用自制的氟与健康调查量表,对在调查地区居住20年以上的居民进行一对一的问卷调查。内容包括年龄、性别、居住地点、居住年限、既往史、现患疾病及服用药物情况等。采用氟离子选择电极法测定血氟;应用动态速率法测定ALP活性,仪器为迈瑞200全自动生化分析仪,试剂由深圳迈瑞公司提供;按照酶联免疫(ELASA)试剂盒说明书的要求检测血清中SOST蛋白的含量,试剂盒由上海朗顿公司提供。

1.3 血清中SOST临界值确定

以SOST的浓度4.428 μg/L为临界值,小于该临界值记为SOST阳性,大于该值为SOST阴性。

1.4 统计学处理

利用Epi Data 3.02建立数据库,采用SPSS 18.0统计软件对数据进行分析。分组资料采用四格表资料的卡方检验或精确概率法,连续性资料多组间比较用单因素方差分析,结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,变量间的相关性采用Pearson相关分析,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况

共入选调查对象143例,其中男性54人,占37.8%,女性89人,占62.2%;年龄24~76岁,平均年龄为(50.6 ± 11.6)岁。血氟为(0.01~0.62)mg/L,平均为(0.25 ± 0.08)mg/L。

2.2 不同氟暴露人群ALP和SOST水平及SOST的阳性率

将所有研究对象按血氟的四分位数分为3组,大于第一四分位数的为高氟组,小于第三四分位数的为低氟组,其余为中氟组。ALP在高氟组、中氟组和低氟组中依次降低,但差异无统计学意义($P>0.05$);高氟组SOST为(4.806 ± 0.525)μg/L,与中氟组和低氟组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);高氟组SOST阳性率为25.0%,与低氟组比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.3 不同氟性骨损伤组ALP和SOST水平

以骨和关节X线诊断结果为依据,参照地方性氟骨症诊断标准(WS 192—2008)^[3]将高氟区对象分为损伤组和未损伤组。对照区对象为对照组。损伤组ALP为(73.511 ± 22.057)U/L,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$);损伤组SOST为(4.870 ± 0.504)μg/L,与未损伤组和对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表1 不同氟暴露人群ALP和SOST水平及SOST阳性率($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Concentration of ALP and SOST and SOST positive rate in different fluoride groups

组别(Group)	n	ALP(U/L)	SOST(μg/L)	SOST阳性率(%) Positive rate of SOST
高氟组(High BF)	36	72.331 ± 21.216	$4.806 \pm 0.525^{**}$	25.0*
中氟组(Middle BF)	70	68.306 ± 21.176	$5.100 \pm 0.626^*$	17.1
低氟组(Low BF)	37	64.695 ± 19.539	5.184 ± 0.527	5.4

[注]单因素方差分析和LSD检验(One-way ANOVA and LSD test);*:与低氟组比较(Compared with the low BF group), $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。

表2 不同氟性骨损伤组ALP和SOST水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Concentration of ALP and SOST in different F bone injury groups

组别(Group)	n	ALP(U/L)	SOST(μg/L)
损伤组(Injury)	54	$73.511 \pm 22.057^*$	4.870 ± 0.504
未损伤组(Non-injury)	52	67.035 ± 18.232	$5.100 \pm 0.627^\Delta$
对照组(Control)	37	62.800 ± 21.146	$5.234 \pm 0.603^{\Delta\Delta}$

[注]单因素方差分析和LSD检验(One-way ANOVA and LSD test);*:与对照组比较(Compared with the control group), $P<0.05$; ^:与损伤组比较(Compared with the injury group), $P<0.05$; △: $P<0.01$ 。

2.4 血清SOST与ALP的相关分析

对高氟区人群血清中SOST和ALP进行双变量线性相关分析,结果显示血清SOST与ALP的相关系数为 $r=-0.319$,二者呈负相关($P=0.001$),见图1。

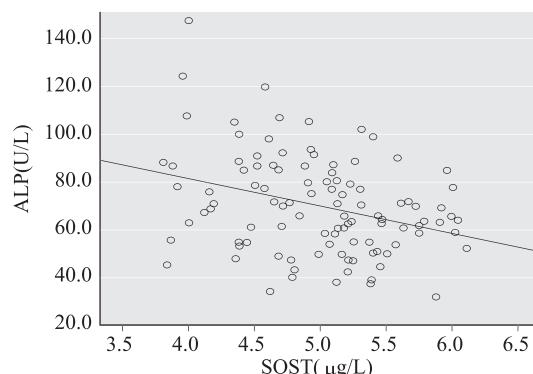


图1 SOST与ALP的相关性

Figure 1 Correlation between SOST and ALP

2.5 血清SOST与氟性骨损伤的关系

以SOST的浓度4.428 μg/L为临界值,小于该临界值记为SOST阳性组,大于该值为SOST阴性组。结果显示,SOST阳性者发生氟性骨损伤的危险是SOST阴性者的2.417倍(95%CI=0.972~6.010),见表3。

表3 血清SOST与氟性骨损伤的关系[例(%)]

Table 3 Correlation between SOST and F bone injury

组别 Group	损伤 Injury	未损伤 Non-injury	χ^2	P	OR	95%CI
SOST阳性组 SOST positive	11(47.8)	12(52.2)				
SOST阴性组 SOST negative	33(27.5)	87(72.5)	3.717	0.048	2.417	0.972~6.010

3 讨论

机体的骨转换过程终生都在进行, 生理情况下转换较慢, 但外伤、毒物等各种原因可使骨代谢异常, 造成骨转换过程加速或减慢, 进而发生一系列骨骼疾病。氟性骨损伤就是机体长期摄入过量氟化物引起的骨代谢异常。近年来, 通过大量的动物实验和体外细胞培养观察, 已有充分数据证明骨转换加速, 尤其是成骨活动增强是氟性骨损伤的特征性病变^[4]。

在骨形成过程中, 成骨细胞活性增强, 大量分泌 ALP。因此 ALP 是反映全身骨组织形成活动的最佳指标之一^[5], 并早已被作为评价骨形成和骨转换的重要指标。有研究表明, 氟化物能使成骨细胞系的 ALP 增高^[6], 人群研究也发现氟骨症组与对照组相比 ALP 显著增高^[7], 并且 ALP 随病情加重而升高^[8]。本研究结果显示, 损伤组的 ALP 高于对照组, 这与大部分研究结果一致^[8]。在排除其他代谢性骨病及某些疾病的条件下, ALP 可作为判断氟性骨损伤的敏感指标, 并可作为骨骼出现形态学变化前早期骨代谢异常的重要参数。但过量氟主要作用于什么环节进而引起成骨活动增强, 至今尚有争议。

SOST 是一种新发现的骨形成调控因子, 为胱氨酸结构超家族成员, 是 SOST 基因的表达产物。SOST 特异地表达于成体骨骼的骨细胞中^[9,10], WINKLER 等^[11]通过原位杂交、逆转录-聚合酶链反应和免疫组化方法也发现, SOST 是由骨原性细胞包括骨细胞分泌的, 而破骨细胞不能分泌 SOST, 而且在人和小鼠体内均可得到证实^[14]。SOST 基因功能缺失突变会造成骨密度增高, 进而造成骨质硬化症, 其上游大片段序列缺失导致其在出生后骨骼中表达丧失, 也会导致相似的骨量过度增生的疾病 Van buchem disease^[12]。人群研究还发现 SOST 基因多态性和妇女绝经后骨质疏松及老年人的骨密度关系密切^[13], 这些都表明了 SOST 对骨形成的重要作用。但 SOST 在接氟人群的表达水平及其在氟所致机体高骨形成状态中的作用如何至今尚无报道。

本研究表明, SOST 在调查的氟接触人群血清中变动范围较小, 在 3.819~6.103 μg/L 之间, 但在低氟组、中氟组和高氟组依次降低, 高氟组的 SOST 阳性率也高于低氟组。相关分析发现血清 SOST 的高低与氟性骨损伤有关联, SOST 阳性者发生氟性骨损伤的危险是 SOST 阴性者的 2.417 倍。对血清 SOST 与 ALP 活力进行线性相关分析, 结果表明二者呈负相关。推测可能是血中氟负荷较高时, SOST 的表达受到抑制, 降低的 SOST 对骨形成的抑制作用减弱, 造成了机体的高骨形成状态, 长期作用之后将可能导致氟性骨损伤的发生。但氟是通过何种途径影响 SOST 的表达, 以此影响骨的形成尚需进一步深入研究。

(志谢: 感谢湖北省建始县龙坪乡卫生院田忠清、吴其林、杨权义、谢永东、向清, 茅田乡卫生院向勇、孙德仲、唐词军、

严若煊在现场调查及样品采集等方面的帮助!)

· 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。 ·

参考文献:

- [1] LÖWIK C W, VAN BEZOOIJEN R L. Wnt signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation [J]. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2006, 6(4): 357.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB 17018—1997 地方性氟中毒病区划分标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS 192—2008 地方性氟骨症诊断标准 [S]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [4] 李广生, 井玲, 徐辉. 地方性氟中毒发病机制的研究进展 [J]. 中华病理学杂志, 2005, 34(10): 632-634.
- [5] VAN STRAALEN J P, SANDERS E, PRUMMEL M F, et al. Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation [J]. Clin Chim Acta, 1991, 201(1-2): 27-33.
- [6] BELLOWS C G, HEERSCHE J N, AUBIN J E. The effects of fluoride on osteoblast progenitors in vitro [J]. J Bone Miner Res, 1990, (Suppl 1): S101-S105.
- [7] 梁君慧, 陈风琴, 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): 346-348.
- [8] 万桂敏, 莫志亚, 刘忠杰, 等. 地方性氟中毒患者多项检验指标的测定及分析 [J]. 中国地方病学杂志, 2001, 20(2): 137-139.
- [9] VAN BEZOOIJEN R L, ROELEN B A, VISSER A, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist [J]. J Exp Med, 2004, 199(6): 805-814.
- [10] POOLE K E, VAN BEZOOIJEN R L, LOVERIDGE N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation [J]. FASEB J, 2005, 19(13): 1842-1844.
- [11] WINKLER D G, SUTHERLAND M K, GEOGHEGAN J C, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist [J]. EMBO J, 2003, 22(23): 6267-6276.
- [12] BALEMANS W, PATEL N, EBELING M, et al. Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease [J]. J Med Genet, 2002, 39(2): 91-97.
- [13] UITTERLINDEN A G, ARP P P, PAEPER B W, et al. Polymorphisms in the sclerosteosis/van Buchem disease gene (SOST) region are associated with bone-mineral density in elderly whites [J]. Am J Hum Genet, 2004, 75(6): 1032-1045.

(收稿日期: 2011-07-25)

(英文编审: 薛寿征; 编辑: 王晓宇; 校对: 徐新春)