

• 临床检验研究论著 •

骨质疏松患者体液免疫相关指标的变化

陈江华, 顾向明

(广州中医药大学附属中山市中医院检验科, 广东中山 528400)

摘要:目的 观察骨质疏松老年女性患者的体液免疫状态和血液白细胞主要类型,探讨老年女性骨质疏松症的免疫学发病机制。方法 住院患者测定骨密度值并收集血液常规检测,相关指标与该院体检正常的老年女性比较。结果 骨质疏松组的淋巴细胞、淋巴细胞百分比均显著低于健康对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而中性粒细胞、中性粒细胞百分比、白细胞数、单核细胞数、单核细胞百分比均高于健康对照组,但单核细胞数、单核细胞百分比与健康对照组相比较差异没有统计学意义($P > 0.05$)。骨质疏松组的 C3、C4 均低于健康对照组,但差异均不显著($P > 0.05$),而 IgG、IgM 均显著低于健康对照组($P < 0.01$),CRP 和 IgA 则显著高于健康对照组($P < 0.01$)。结论 老年女性骨质疏松患者特异性免疫功能受到抑制,炎性反应受到激活。

关键词:骨质疏松; 绝经后; 白细胞; 补体; 免疫球蛋白; C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)17-2077-02

Changes of humoral immunity associated indexes in patients with osteoporosis

Chen Jianghua, Gu Xiangming

(Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Zhongshan, Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

Abstract: Objective To investigate the humoral immune status and white blood cell types in elderly female patients with osteoporosis, and to discuss the immunological pathogenesis of osteoporosis in elderly women. **Methods** Bone mineral density values of hospitalized patients were determined and routine blood tests were performed. Related indexes were compared with elderly women who were performed normal physical examination in the hospital. **Results** The amount and the percentage of lymphocytes in osteoporosis group were significantly lower than those in the normal control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The amounts of neutrophils, white blood cell and mononuclear cells and the percentages of neutrophils and mononuclear cells in osteoporosis group were higher than those in normal controls, but it was not significantly different of the amount and the percentage of mononuclear cells between two groups ($P > 0.05$). The levels of both C3 and C4 in osteoporosis group were lower than those in normal control group, but the difference was not significant ($P > 0.05$), while the differences of the levels of IgG and IgM were significant between two groups ($P < 0.01$). The levels of CRP and IgA in osteoporosis group were significantly higher than those in normal control group ($P < 0.01$). **Conclusion** The specific immune function of elderly female osteoporosis patients is suppressed, while the inflammatory response is activated.

Key words: osteoporosis, postmenopausal; leukocytes; complement; immunoglobulin; C-reactive protein

骨质疏松与免疫系统的关系日渐受到人们的关注,但人们往往关注得较多的是骨质疏松患者的细胞免疫状态^[1-3],而对其体液免疫状态研究较少。本文从体液免疫的角度,研究了 46 例 60 岁以上女性骨质疏松症患者的骨密度、白细胞主要类型及体液免疫的相关指标,探讨绝经后老年骨质疏松患者的免疫学发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 骨质疏松组为 2006 年 1 月至 2011 年 12 月在本院住院的 46 例骨质疏松初入院女性患者,年龄 60~87 岁。所有入选者肝肾功能均正常,无糖尿病、甲状腺功能亢进、甲状旁腺功能亢进、类风湿关节炎、骨肿瘤或 Paget's 病,无胃肠切除史或慢性胃肠炎,6 个月内未使用激素、维生素 D,未曾摘除过卵巢,无嗜烟、酗酒史。健康对照组为本院体检健康女性,共 90 例,年龄 60~83 岁,6 个月内未使用过免疫增强或抑制剂。

1.2 仪器与试剂 美国 GE PRICIDIGY 公司的双能 X 线骨密度仪;Sysmex 公司的 XT-1800i 血细胞分析仪;日立 7600-120-ISEID 全自动生化分析仪;血细胞检测试剂由 Sysmex 公司提供;C 反应蛋白(CRP)试剂由日本东纺绩株式会社(上海云大生物工程有限公司代理)提供;免疫球蛋白及补体试剂由四川省新成生物科技有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 诊断方法 依据 1994 年 WHO 骨质疏松诊断标准^[4],用同性别的骨量峰值减去所测得的骨量值来衡量,骨密度测定采用美国 GE PRICIDIGY 公司的双能 X 线骨密度仪,测量部位为 1~4 腰椎(L1~4)正位。

1.3.2 实验室检查 常规检测白细胞总数(WBC)、淋巴细胞数(LYM#)、淋巴细胞百分比(LYM%)、单核细胞数(MO#)、单核细胞百分比(MO%)、中性粒细胞数(NEU#)、中性粒细胞百分比(MEU%)、补体 C3、C4、免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM^[5]。血细胞检测为流式细胞计数法;CRP、补体及免疫球蛋白检测采用免疫比浊法。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组计量资料均数的比较采用自由分组 t 检验。

2 结果

2.1 骨质疏松组与健康对照组的骨密度比较 骨质疏松组的骨密度值为 $(0.858 \pm 0.019 0) \text{g/cm}^2$,显著低于健康对照组的骨密度值 $(1.001 \pm 0.019 2) \text{g/cm}^2$,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 骨质疏松组与健康对照组的白细胞分类比较 骨质疏松组的 LYM# 和 LYM% 显著低于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);MO# 和 MO% 均高于健康对照

组,但两组比较差异无统计学意义($P>0.05$);NEU#、NEU%和 WBC 均显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 1。

2.3 骨质疏松组与健康对照组的体液免疫相关指标比较

骨质疏松组的 C3、C4 均低于健康对照组,但差异均无统计学意义($P>0.05$);骨质疏松组的 IgG、IgM 均显著低于健康对照组,CRP 和 IgA 则显著高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

表 1 骨质疏松组与健康对照组的白细胞分类比较

组别	LYM#(×10 ⁹ /L)	LYM%(%)	MO#(×10 ⁹ /L)	MO%(%)	NEU#(×10 ⁹ /L)	NEU%(%)	WBC(×10 ⁹ /L)
健康对照组	2.330±0.660	34.592±8.422	0.509±0.185	7.460±2.111	3.784±1.299	54.380±8.836	6.868±1.647
骨质疏松组	2.058±0.795 [△]	28.845±10.202 [*]	0.575±0.252	7.716±2.539	4.746±2.326 [*]	60.476±11.661 [*]	7.586±2.517 [△]

△: $P<0.05$; *: $P<0.01$,与健康对照组比较。

表 2 骨质疏松组与健康对照组的体液免疫相关指标比较 (g/L)

组别	C3	C4	CRP	IgA	IgG	IgM
健康对照组	1.116±0.292	0.267±0.128	0.643±1.438	2.423±0.883	13.598±3.201	1.395±0.568
骨质疏松组	1.026±0.296	0.254±0.135	3.068±1.894 [*]	2.963±1.075 [*]	11.946±2.969 [*]	1.058±0.562 [*]

*: $P<0.01$,与健康对照组比较。

3 讨 论

骨质疏松症是绝经后妇女及老年人群的一种多发病,以骨量减少、骨的显微结构退化为特征,致使骨的脆性增加,易于发生骨折的一种全身性骨骼疾病,临床表现为腰背四肢痛、龟背、乏力,甚至骨折。其发生率呈逐年上升之势,已起全世界尤其是发达国家的重视。随着我国老年社会的到来,对本病的研究也日渐广泛与深入^[6-7]。

传统的观念认为,骨质疏松的病因主要包括内分泌紊乱、代谢紊乱以及机械性因素。然而,最近研究提出了“骨免疫学”的观点^[8-10],认为在骨质疏松发生发展过程中,免疫系统和免疫因素起了重要的调节作用。一方面,骨髓中免疫系统的发育依赖于骨细胞营造的微环境,且骨组织在获得性免疫中也发挥调节作用;另一方面,免疫系统可通过 T、B 淋巴细胞、树突细胞、细胞因子等调控骨代谢;而两者相互作用又进一步受到循环激素的调控,调控骨代谢的大多数激素、细胞因子及信号转导途径也可调控免疫系统。

目前,研究者过多地把目光集中于 T、B 淋巴细胞、树突细胞、细胞因子等细胞免疫的范畴^[11],对骨组织所处的血液环境和体液免疫环境较少研究。而骨组织无时无刻不处于血液循环所创造的内环境之中并与之进行物质和信息的交换,所以血液成分和体液免疫因素就有可能对骨组织代谢产生影响,进而影响骨质疏松的病理过程。

从本研究的结果来看,在细胞层次,骨质疏松组的淋巴细胞、淋巴细胞百分比均显著低于健康对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而中性粒细胞、中性粒细胞百分比、白细胞计数、单核细胞数、单核细胞百分比均高于健康对照组,但单核细胞数、单核细胞百分比与健康对照组比较差异没有统计学意义($P>0.05$);在分子层次,骨质疏松组的 C3、C4 均低于健康对照组,但差异均不显著($P>0.05$),而 IgG、IgM 均显著低于健康对照组($P<0.01$),CRP 和 IgA 则显著高于健康对照组($P<0.01$)。淋巴细胞和 IgG、IgM 的显著降低,说明机体的特异性免疫功能受到抑制;而中性粒细胞、白细胞计数和 CRP 升高说明机体的炎症反应受到激活。据文献资料^[12],RANKL 的表达增多会使得骨质疏松,但是体机制尚有待进一步研究。而机体的炎症反应受到激活,与机体的特异性免疫功能受到抑制之间,是否存在一定的关系,也有待进一步实验证实。

本实验的对照组为同龄的绝经后老年女性。骨质疏松老年女性的炎症反应受到激活,特异性免疫功能受到抑制。这种现象的发生应该与绝经后雌激素水平的下降无关。在临床实践中,骨质疏松的发生常伴有全身或局灶性的炎症反应;而在各种炎症疾病,如免疫功能障碍、HIV 感染、高 IgE 综合征、炎症性肠病、类风湿关节炎等情况下,骨质疏松发生的危险性显著增加^[13]。炎症在骨质疏松的发生发展中起着非常核心的作用,无论何种原因引起的骨质疏松,必然都会先引起全身或局灶性的炎症反应,而炎症反应促进了骨质疏松的发生、发展。因此,对骨质疏松的治疗除了激素和钙的补充之外,也许可以把炎症作为治疗控制目标。至于如何综合地应用炎症指标对骨质疏松症进行监控,值得深入研究。

参考文献

[1] Won HY, Lee JA, Park ZS, et al. Prominent bone loss mediated by RANKL and IL-17 produced by CD4⁺ T cells in TallyHo/JngJ mice[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e18168.

[2] Pacifici R. T cells: critical bone regulators in health and disease[J]. Bone, 2010, 47(3): 461-471.

[3] Nomura K, Kuroda S, Yoshikawa H, et al. Inflammatory osteoclast genesis can be induced by GM-CSF and activated under TNF immunity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 367(4): 881-887.

[4] Johansson H, Kanis JA, Oden A, et al. A comparison of case-finding strategies in the UK for the management of hip fractures[J]. Osteoporos Int, 2012, 23(3): 907-915.

[5] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 590-605.

[6] 孙江波, 李智雄, 刘绪银, 等. 骨质疏松症中医证候与骨密度水平的相关研究[J]. 中医临床研究, 2011, 3(5): 12-14.

[7] 刘刚, 卢光琇. β -crosslaps 和 PINP 在绝经后妇女骨质疏松诊断中的效能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 801-802.

[8] Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone[J]. Nat Rev Rheumatol, 2009, 5(12): 667-676.

[9] Takayanagi H. New immune connections in osteoclast formation[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1192: 117-123.

[10] Walsh Mc, Kim N, Kadono Y, et al. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism[J]. Annu Rev Immunol, 2006, 24: 33-63.

(下转第 2080 页)

经统计分析表明,男、女研究对象血清 ApoM 和血脂检测结果相关性未见明显差异,因此对研究对象总体进行分析,见表 2。

表 1 研究对象的血脂及 ApoM 含量比较

指标	男(<i>n</i> =101)	女(<i>n</i> =99)	合计(<i>n</i> =200)
ApoM(mg/L)	23.50±1.35	23.89±1.52	23.69±1.43
TC(mmol/L)	4.31±1.00	4.19±1.03	4.24±1.01
TG(mmol/L)	1.32±0.95	1.38±1.09	1.35±1.02
HDL-C(mmol/L)	1.50±0.46	1.56±0.59	1.53±0.53
LDL-C(mmol/L)	2.22±0.76	2.03±0.65	2.12±0.71
HDL-C/TC	0.35±0.09	0.37±0.08	0.36±0.09

表 2 血浆 ApoM 和血脂各项指标的相关性分析

指标	相关系数(<i>r</i>)	<i>P</i>
TC	0.418	<0.01
TG	-0.407	<0.01
HDL-C	0.786	<0.01
LDL-C	0.007	>0.05
HDL-C/TC	0.671	<0.01

3 讨 论

血脂异常是心血管疾病独立的危险因素,其实质是脂蛋白和载脂蛋白结构及功能异常,导致脂代谢异常。研究表明脂蛋白代谢异常导致动脉粥样硬化的作用更强于 TC。载脂蛋白作为脂蛋白中的蛋白质部分,参与了人体脂类代谢的全过程^[4]。

研究表明 ApoM 主要存在于 HDL 中,其次在富含 TRL 和 LDL 中也有表达。本研究发现,Apom 与 TC 呈正相关(*r*=0.418),未见 ApoM 与 LDL-C 有明显的相关性。这与 Axler 等^[5]的研究结果一致。但另有学者在研究肥胖人群 ApoM 与瘦素、TC 相关性时发现 ApoM 与 TC 呈负相关,与本研究结论相反,目前人血清 ApoM 水平与 TC 水平的关系还没有明确的定论,期待大规模的研究结果。

TG 是一项重要的临床血脂常规测定指标,其作为冠心病的独立危险因素日益受到重视。本研究发现人血清中 ApoM 与 TG 水平呈负相关(*r*=-0.407)。推测 ApoM 具有保护动脉粥样硬化形成的作用,而本研究中 ApoM 与 TC 含量呈正相关,与本结论似乎矛盾,分析其原因可能是:TC 代谢中,一部分前 β-HDL 生成的 HDL 的功能存在不足,有研究表明,高脂血症及动脉粥样硬化等病变人群中仍有一部分具血清高 HDL-C 水平,其原因可能是具 HDL 功能的缺陷^[6],导致在 TC 逆转运过程中影响 TG 在肝脏中的清除。以往的研究曾发现高脂饮食后 ApoM 明显增高,由此推测 ApoM 可能是作为调节血清 TG 水平的重要因子,参与脂质的代谢与调节。

HDL 具有一定的抗动脉粥样硬化功能,可抵抗 LDL 的致动脉粥样硬化作用。Christoffersen 等^[7]的研究表明 ApoM 参

与了肝中 HDL 的合成。本研究发现人血清中 ApoM 与 HDL-C 含量呈正相关(*r*=0.786),且与 HDL-C/TC 亦呈正相关(*r*=0.671)。HDL 的形成是一系列相互关联的复杂反应的结果。ApoM 对前 β-HDL 的形成起重要作用,从而影响脂质代谢。Huang 等^[8]在人类血清 ApoM 的分离中发现,含有 ApoM 的 HDL 亚群与缺乏 ApoM 的 HDL 相比,能有效减低动脉粥样硬化发生率。焦国庆等^[9]应用 Dot Blotting 技术检测并比较了冠心病患者和健康人群血浆 ApoM 水平,发现冠心病患者血浆 ApoM 与 Apo A1、LDL-C 及 ApoB 呈负相关,提示 ApoM 可能是冠心病的一种保护因素。

ApoM 可能通过多种机制影响脂质代谢,与脂质代谢全过程密切相关,具有心脏保护和抗动脉粥样硬化的作用^[10]。本研究表明血浆中 ApoM 与 TC、HDL 含量呈正相关,与 TG 含量呈负相关。但 ApoM 对血脂代谢途径的影响是一个多方位的复杂的过程,其在动脉粥样硬化形成与发展中的作用还有待进一步的研究。

参考文献

[1] Zhang XY,Dong X,Zheng L,et al. Specific tissue expression and cellular localization of human apolipoprotein M as determined by in situ hybridization[J]. Acta Histochem,2003,105(1):67-72.

[2] Faber K,Hvidberg V,Moestrup SK,et al. Megalin is a receptor for apolipoprotein M, and kidney-specific megalin-deficiency confers urinary excretion of apolipoprotein M[J]. Mol Endocrinol, 2006,20(1):212-218.

[3] 郑璐,徐宁,罗光华,等. 应用免疫组织化学方法检测载脂蛋白 M 在人类肝肾中的特异表达[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(7): 439.

[4] 杨轶文,陈焕芹,邱蕾,等. 载脂蛋白 A5 在贝特类药物调脂治疗中的作用机制研究[J]. 中国老年学杂志,2008,28(5):420-425.

[5] Axler O,Ahnström J,Dahlböck B. An ELISA for apolipoprotein M reveals a strong correlation to total cholesterol in human plasma[J]. J Lipid Res,2007,48(8):1772-1780.

[6] Wolfrum C,Poy MN,Stoffel M. Apolipoprotein M is required for preβ-HDL formation and cholesterol efflux to HDL and protects against atherosclerosis[J]. Nat Med,2005,11(4):418-442.

[7] Christoffersen C,Nielsen LB,Axler O,et al. Isolation and characterization of human apolipoprotein M-containing lipoproteins[J]. J Lipid Res,2006,47(8):1833-1843.

[8] Huang XS,Zhao SP,Hu M,et al. Apolipoprotein M likely extends its anti-atherogenesis via anti-inflammation[J]. Med Hypotheses, 2007,69(1):136-140.

[9] 焦国庆,张晓霄,董选,等. 冠心病患者血浆载脂蛋白 M 水平及其相关性研究[J]. 现代医学,2004,32(1):22-25.

[10] 胡志高,屈小兵. 载脂蛋白 M 与动脉粥样硬化[J]. 国外医学, 2007;28(5):196-199.

(收稿日期:2012-03-09)

(上接第 2078 页)

[11] 易伟莲,吕俊廷,欧超伟. 老年男性骨质疏松症与性激素和细胞因子的检测及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7): 643-647.

[12] Eghbali-Fatourehchi G,Khosla S,Sanyal A,et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmeno-

pausan women[J]. J Clin Invest,2003,111(8):1221-1230.

[13] McLean RR. Proinflammatory cytokines and osteoporosis[J]. Curr Osteoporos Rep,2009,7(4):134-139.

(收稿日期:2012-01-16)