论著·临床研究

# 肾病综合征患儿血清骨保护素改变及糖皮质激素对其的影响

李玉柳　王华

（郑州大学第一附属医院儿科，河南 郑州　450052）

［摘　要］ **目的**　观察肾病综合征（nephrotic syndrome，NS）患儿骨保护素改变及糖皮质激素治疗对骨保护素的影响，探讨骨保护素在 NS 骨代谢改变中的应用价值。**方法**　随机选取 NS 患儿 44 例，其中 NS 初发患儿 24 例，糖皮质激素治疗减量过程中复发患儿 20 例，其糖皮质激素累积剂量为 28327 ± 5879 mg/m$^2$；23 例年龄性别匹配的正常儿童设为对照组。采用酶联免疫吸附法测定血清骨保护素浓度，采用电化学发光免疫法测定血清骨钙素 N 端中分子片段（骨钙素 N-MID）含量。**结果**　初发 NS 组血清骨保护素、骨钙素 N-MID 含量分别为 211 ± 55 ng/L、46 ± 14 ng/mL，均明显低于对照组（分别为 470 ± 57 ng/L、73 ± 9 ng/mL）（$P$ < 0.05）。NS 复发组血清骨保护素、骨钙素 N-MID 含量均较 NS 初发组及对照组低，分别为 176 ± 42 ng/L、29 ± 10 ng/mL（$P$ < 0.05）。**结论**　NS 患儿本身即存在骨代谢异常，大剂量应用糖皮质激素后可进一步加重骨代谢改变，提示 NS 患儿骨保护素改变受疾病本身及糖皮质激素治疗的双重影响，骨保护素有望成为预测 NS 患儿骨代谢改变的新型生化指标。　［中国当代儿科杂志，2012，14（9）：653 – 656］

［关　键　词］ 肾病综合征；糖皮质激素；骨保护素；儿童

［中图分类号］ R692　　［文献标识码］ A　　［文章编号］ 1008 – 8830（2012）09 – 0653 – 04

## Serum osteoprotegerin level in children with nephrotic syndrome and the effect of glucocorticoid on it

*LI Yu-Liu, WANG Hua. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou* 450052, *China* (*Wang H, Email: wanghua790230@sina.com*)

**Abstract: Objective**　To observe serum osteoprotegerin (OPG) level in children with nephrotic syndrome (NS) and changes in serum OPG level after glucocorticoid therapy, with the aim of studying the role of OPG in the bone metabolism of children with NS. **Methods**　Forty-four children with idiopathic NS were randomly selected as the study group, including 24 newly diagnosed, untreated patients and 20 who had relapsed during the process of glucocorticoid reduction (cumulative dose of glucocorticoid 28327 ± 5879 mg/m$^2$). Twenty-three age- and sex-matched healthy children served as the control group. Serum osteoprotegerin (OPG) level was measured using ELISA. Serum N-terminal midfragment of osteocalcin (N-MID osteocalcin) was determined using electrochemical luminescence immunoassays (ECLIA). **Results**　Serum levels of OPG (211 ± 55 ng/L) and N-MID osteocalcin (46 ± 14 ng/mL) in the untreated NS group were reduced compared with 470 ± 57 ng/L (OPG) and 73 ± 9 ng/ml (N-MID osteocalcin) in the control group ($P$ < 0.05). Serum levels of OPG (176 ± 42 ng/L) and N-MID osteocalcin (29 ± 10 ng/mL) in the NS relapsed group were lower than in the untreated NS and control groups ($P$ < 0.05). **Conclusions**　Bone metabolism disorders are found in children with NS. High-doses of glucocorticoid therapy can aggravate these disorders. Serum OPG levels in children with NS may be affected by both the renal disease itself and steroid therapy, suggesting that OPG is expected to become a new biochemical indicator for predicting changes to the bone metabolism of children with NS.　[**Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(9): 653 – 656**]

**Key words:**　Nephritic syndrome; Glucocorticoid; Osteoprotegerin; Child

肾病综合征（nephrotic syndrome，NS）是儿科常见肾脏病之一，糖皮质激素是其首选的治疗药物，而糖皮质激素诱导的骨质疏松症（glucocorticoid induced osteoporosis）已成为继发性骨质疏松的主要原因之一，但其确切机制尚不完全明确。骨密度是评价骨质疏松的金标准，但其灵敏度欠佳，变化相对滞后。骨保护素（osteoprotegerin）是一种新的肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）受体家族成员，

［收稿日期］2012 – 04 – 24；［修回日期］2012 – 05 – 05
［作者简介］李玉柳，女，硕士研究生。
［通信作者］王华，女，副主任医师，副教授。

具有降低破骨细胞分化和增加骨密度的功能,但在糖皮质激素相关性骨质疏松中的作用尚不明确。本研究旨在探讨骨保护素在 NS 患儿中的表达情况及糖皮质激素对其的影响,以及骨保护素在骨质疏松症早期检测及临床应用中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

随机选取 2011 年 5 月至 2012 年 3 月郑州大学第一附属医院小儿内科临床资料完整且确诊为原发性 NS 患儿 44 例,其中 NS 初发患儿 24 例;糖皮质激素治疗减量过程中复发患儿 20 例,病程 3 ~ 12 个月,糖皮质激素累积剂量为 28327 ± 5879 mg/m$^2$。年龄为 1 ~ 13 岁。NS 的诊断标准参考《诸福棠实用儿科学》[1]。23 例健康儿童作为对照组,性别和年龄与病例组差异无统计学意义。排除患以下疾病或处于以下状态的患儿:甲状旁腺功能亢进症、肝肾功能不全、先天性骨病、佝偻病、甲状腺疾病、继发性肾病、大量应用抗癫痫药物、细胞毒药物或影响钙磷代谢的药物。

本研究经郑州大学第一附属医院伦理委员会批准,入选患者家属均签署知情同意书。

### 1.2 研究方法

于清晨取空腹外周静脉血 3 mL,置洁净干燥管,3000 r/min 离心 10 min,分离血清,保存于 -70℃ 冰箱中。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清骨保护素浓度,试剂盒购自厦门慧嘉公司;采用电化学发光免疫法(ECLIA)测定血清骨钙素 N 端中分子片段(骨钙素 N-MID),试剂购自美国罗氏公司;用全自动生化分析仪常规检测血钙、血清白蛋白、甘油三酯、肌酐、24 h 尿蛋白定量。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组样本均数的比较采用 $t$ 检验;多组均数的比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小有意义差异法(LSD-$t$ 法),相关分析采用 Pearson 积差相关,均为双侧检验,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NS 初发组和复发组生化指标的比较

两组患儿血清白蛋白、24 h 尿蛋白定量、血钙、血清甘油三酯及肌酐水平差异无统计学意义,见表 1。

**表 1 NS 初发组和复发组患儿生化指标的比较** ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 血清白蛋白(g/L) | 24 h 尿蛋白(g/L) | 血钙(mmol/L) | 甘油三酯(mmol/L) | 肌酐(μmol/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| NS 初发组 | 24 | 20 ± 6 | 5 ± 4 | 2.03 ± 0.17 | 2.5 ± 0.9 | 36 ± 18 |
| NS 复发组 | 20 | 23 ± 6 | 4 ± 3 | 2.06 ± 0.21 | 2.1 ± 1.3 | 44 ± 18 |
| $t$ 值 | | 1.838 | 0.849 | 0.573 | 1.266 | 1.482 |
| $P$ 值 | | 0.073 | 0.401 | 0.569 | 0.212 | 0.146 |

### 2.2 各组血清骨保护素和骨钙素 N-MID 的比较

NS 初发组血清骨保护素、骨钙素 N-MID 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);NS 复发组血清骨保护素、骨钙素 N-MID 水平均明显低于初发组及对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

**表 2 各组患儿血清骨代谢指标比较** ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 骨保护素(ng/L) | 骨钙素 N-MID(ng/mL) |
|---|---|---|---|
| 对照组 | 23 | 470 ± 57 | 73 ± 9 |
| NS 初发组 | 24 | 211 ± 55[a] | 46 ± 14[a] |
| NS 复发组 | 20 | 176 ± 42[a,b] | 29 ± 10[a,b] |
| $F$ 值 | | 210.18 | 83.78 |
| $P$ 值 | | < 0.001 | < 0.001 |

a:与对照组比较,$P < 0.05$;b:与初发组比较,$P < 0.05$

### 2.3 相关分析

血清骨保护素与血清白蛋白、血钙和骨钙素 N-MID 呈正相关,相关系数分别为 0.806、0.677 及 0.766,均 $P < 0.05$;与 24 h 尿蛋白定量、甘油三酯和糖皮质激素累积剂量呈负相关,相关系数分别为 -0.516、-0.536 及 -0.853,均 $P < 0.05$。

## 3 讨论

生长发育障碍是 NS 患儿的常见问题,长期应用一线药物糖皮质激素会不可避免地加重骨量丢失。儿童期获得的骨量决定成年后骨质疏松性骨折的风险,在儿童和青少年时期未达到合理骨量的个体,即使成年后无加速骨量流失现象发生,但仍有可

能患骨质疏松症[2],因而探讨 NS 患儿骨代谢情况,预防和减少糖皮质激素所致的骨质疏松是迫切需要解决的问题。

骨保护素是 1997 年新发现的一种可溶性分泌型糖蛋白[3],属于肿瘤坏死因子超家族中的新成员,成熟的骨保护素含有 380 个氨基酸残基,骨保护素有生物活性无明显差别的单体和二聚体 2 种形式,在心血管、肝、肺、肾脏、骨骼等多种组织中都有较高浓度的表达,在骨组织中主要由成骨细胞和基质细胞合成和分泌。骨保护素具有降低破骨细胞分化和增加骨密度的功能,国内外研究认为,骨保护素基因敲除小鼠出现严重的骨质疏松症,皮质骨和骨小梁均减少,而过度表达骨保护素的转基因小鼠则出现严重的骨硬化症[4-5]。骨保护素属于饵受体,其主要作用是竞争性与破骨细胞骨谱系细胞表面的细胞核因子-KB 受体活化因子(RANK)的配体 RANKL 结合,从而阻断 RANKL 与 RANK 结合,RANKL 一旦与 RANK 结合,就会促进破骨细胞成熟、分化及信号转导的活化,从而促进骨吸收,骨保护素/RANKL/RANK 系统构成了对破骨细胞骨的三角调节关系,骨保护素与 RANKL 的结合能力较 RANK 更强,从而抑制破骨细胞骨吸收。近年来国外学者研究表明,NS 患者在应用糖皮质激素 2 周后骨保护素即可有明显下降[6],此外国内研究证实外周血骨保护素水平与骨密度有良好的相关关系[7],提示骨保护素可能是反映骨代谢更为敏感的指标。

骨钙素是由成骨细胞合成和分泌的非胶原蛋白,骨钙素对钙离子具有高度亲和力,血清骨钙素水平与骨钙含量及骨密度呈正相关,可作为骨形成的血清学指标[8-9],骨钙素 N-MID 较全段骨钙素有更好的稳定性和灵敏性,对骨代谢疾病的诊断、监测有更高的价值。

本研究结果显示,初发 NS 组患儿骨保护素、骨钙素 N-MID 较对照组明显降低,且骨保护素与疾病的活动性指标 24 h 尿蛋白定量、血清甘油三酯定量呈负相关,与血清白蛋白浓度呈正相关,提示在活动期肾病自身即可导致骨吸收增加、骨形成减少。初发组骨钙素 N-MID 下降可能与生长激素、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)从尿中丢失增加有关,生长激素可直接作用于成骨细胞刺激骨形成,而 IGF-1 是骨形成的刺激因子,可促进成骨细胞成活和分化,刺激胶原蛋白合成。Sierra 等[10]用氨基核苷嘌呤霉素建成 NS 大鼠模型,发现在大量蛋白尿、低蛋白血症时骨吸收的指标尿羟脯氨酸含量增加,骨代谢改变以骨吸收为主,骨矿物含量和骨矿物密度下降,而当蛋白尿存在但血清总蛋白恢复基线水平时,骨矿物含量和骨矿物密度恢复正常,提示 NS 本身骨代谢改变是可逆的,它与尿蛋白含量及血清总蛋白浓度有关。

本研究结果显示,NS 初发组与复发组血清白蛋白、24 h 尿蛋白定量、血钙、甘油三酯、肌酐等生化指标比较差异无统计学意义,表明两组处于疾病的同一活动水平,而与 NS 初发组相比,应用糖皮质激素治疗后的 NS 复发患儿骨保护素和骨钙素 N-MID 水平进一步下降,提示糖皮质激素治疗可显著促进骨吸收,抑制骨形成。近年来的多项体内和体外研究表明,糖皮质激素可刺激 RANKL 浓度增加,同时糖皮质激素在 mRNA 水平抑制成骨细胞和骨髓基质细胞骨保护素表达,从而促进破骨细胞骨吸收增强[11-13]。糖皮质激素通过特异性糖皮质激素受体介导直接抑制成骨细胞的功能,促进成骨细胞凋亡,同时在转录水平使骨 I 型前胶原基因和骨钙素基因表达减少、使骨基质成分胶原蛋白和非胶原蛋白合成减少,从而抑制骨形成,此外,糖皮质激素可以削弱成骨细胞生长因子的活性,例如,糖皮质激素可降低 IGF-1 的活性,从而抑制其对成骨细胞骨形成的刺激作用[14-15]。

综上所述,NS 患儿疾病本身即存在骨吸收增强和骨形成减少,应用糖皮质激素后可使骨代谢异常进一步加重,从而有可能导致骨质疏松,影响儿童生长发育;NS 患儿骨保护素改变受疾病本身及糖皮质激素应用的双重影响,提示骨保护素有望成为预测 NS 骨代谢改变的新型生化指标,并为新型生物制剂治疗骨质疏松提供了新的思路。

## [参 考 文 献]

[1] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第 7 版. 北京:人民卫生出版社,2002:1641-1644.

[2] 廖祥鹏,颜崇淮,刘忠厚,张伟利. 骨质疏松症的预防应该重视孕妇和儿童的骨骼健康[J]. 中国骨质疏松杂志,2009,15(4):299-303.

[3] Simonet WS, Lacey DL, Cunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotege: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. Cell, 1997, 89(2): 309-319.

[4] Yasuda H. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites. Receptor activator of NF-kappaB ligand(RANKL)[J]. Clin Calcium, 2006 16(6): 964-970.

[5] 梁青春,徐康,刘江华,盛志峰,廖二元. OPG 基因敲除小鼠骨量及微结构的改变[J]. 中国现代医学杂志,2011,21(17):1989-1994.

[6] Sasaki N, Kusano E, Ando Y, Nemoto J, Iimura O, Ito C, et al. Changes in osteoprotegerin and markers of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis [J]. Bone, 2002, 30(6): 853-858.

[7] 唐述森,王文君,范林艳,代瑞珍,刘焕彩,糖皮质激素对 ITP 患者骨代谢的影响及机制[J]. 山东医药,2010,50(39):89-90.
[8] 江莎,侯加法. 骨钙素临床应用研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2010, 16(5):360-364.
[9] Delmas PD, Christiansen C, Mann KG, Price PA, Bone gla protein (osteocalcin) assay standradization report[J]. J Bone Miner Res, 1990, 5(1): 5-11.
[10] Sierra RI, Specker BL, Jiménez F, Cruz C, Pedraza-Chaverrí J. Biochemical bone markers, bone mineral content, and bone mineral density in rats with experimental nephrotic syndrome[J]. Ren Fail, 1997, 19(3): 409-424.
[11] Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, et al. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. Endocrinology, 1999, 140(10): 4382-4389.
[12] Vidal NO, Brändstrom H, Jonsson KB, Ohlsson C. Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down-regulation by glucocorticoids[J]. J Endocrinol, 1998, 159(1): 191-195.
[13] 王建忠,王坤正,时志斌,张明宇. 激素性股骨头坏死患者股骨头骨组织骨保护素 NF-κB 受体活化因子配基 mRNA 表达[J]. 中国修复重建外科杂志,2008, 22(10):1161-1164
[14] 杨海英,董俊华,孔春研,王进. 糖皮质激素对肾病综合征患儿成骨细胞功能的影响[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(2):141-146.
[15] 骆培良, 江芸. 糖皮质激素对肾病综合征患儿生长激素-胰岛素样生长因子轴的影响[J]. 实用医学杂志,2009,25(24):4170-4171.

(本文编辑:邓芳明)

· 消息 ·

# “国际儿科肾脏病学会(中国)培训中心”招募学员通知

2010 年 4 月北京大学第一医院儿(肾)科联合香港玛嘉烈医院青少年部被国际儿科肾脏病学会(International Pediatric Nephrology Association,IPNA)正式批准为中国首家国际儿科肾脏病学会培训中心(IPNA Training Center);该中心主任为丁洁教授,副主任为赵孟准教授(香港)、肖慧捷主任医师、姚勇主任医师,主要专家还有钟旭辉、赖伟明(香港)、谢纪超(香港)等医师,中心秘书为钟旭辉副主任医师。我国拥有国际性儿科肾脏病培训中心可以避免在其他国家受训时的语言障碍,非常有利于我国儿肾医师队伍的培养和壮大。按照 IPNA 规定,学员在培训中心经过系统培训期满后, 经中心评估、IPNA 审查后可以获得“IPNA Fellow”的称号,并享有 IPNA 给予的如下待遇:

(1)获得 IPNA 颁发的“IPNA Fellow”证书;(2)获得 IPNA 赠送的一部 Pediatric Nephrology 专著;(3)由 IPNA 资助(免会议注册费,提供交通费和食宿费)参加一次亚洲或国内学术会议、或继续医学教育(CME)课程。

IPNA(中国)中心将于 2013 年继续招收培训学员,预计招收 2 - 4 名学员,培训时间约 9 个月(其中 2 个月在香港玛嘉烈医院青少年部接受培训);IPNA 将资助学员在培训期间的食宿费用、学员所在地至北京及北京至香港的往返机票。

申请者条件:医学本科以上学历、有儿内科执业医师证书并有三年以上儿科临床工作经验、有一定英语基础的儿科医生。

**申请程序:**(1)申请者将个人简历(包括学历、职称、英语水平以及肾脏领域的医、教、研经历等)、所在单位(科室)负责人和一位正高职称医师的书面推荐信寄往北京大学第一医院儿(肾)科,可在上述文件中表明申请目的,如本人或本单位的(儿肾)专业发展规划,希望通过参加培训达到的目标;(2)IPNA(中国)培训中心将对申请者材料进行审核;(3)获准学员的资料将被报送 IPNA 备案;(4)由 IPNA(中国)培训中心通知被批准学员具体事宜。

申请材料邮寄地址:北京市西城区西安门大街 1 号,北京大学第一医院儿科(信封外面标注“IPNA 培训中心”字样);邮编 100034;收件人钟旭辉医师。

**申请截止日期为 2013 年 1 月 15 日。**

**联系人:**钟旭辉医师;

**联系电话:**010 - 83572168;

**Email:** xuhui7876@ yahoo. com. cn。

北京大学第一医院儿(肾)科
2012 年 8 月 15 日