

分类号:  
学 号: 20182014419

密 级: 公开  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 绝经后 T2DM 女性 PTH 蛋白表达及基因 多态性与骨代谢关系的研究

学 位 申 请 人	赵会荣
指 导 教 师	李 军 教 授
申请学位门类级别	医学硕士
学 科、专 业 名 称	内 科 学
研 究 方 向	内 分 泌 与 代 谢 性 疾 病
所 在 学 院	医 学 院

中国·新疆·石河子

2021 年 5 月

分类号：  
学 号：20182014419

密 级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 绝经后 T2DM 女性 PTH 蛋白表达及基因 多态性与骨代谢关系的研究

学 位 申 请 人	赵会荣
指 导 教 师	李 军 教 授
申请学位门类级别	医学硕士
学 科、专 业 名 称	内 科 学
研 究 方 向	内 分 泌 与 代 谢 性 疾 病
所 在 学 院	医 学 院

中国·新疆·石河子  
2021年5月

**A study on the relationship between PTH Protein expression and  
the gene polymorphism with bone metabolism  
in postmenopausal women  
with type 2 diabetes**

**A Dissertation Submitted to  
Shihezi University  
In Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of  
Master of Medicine**

**By  
Zhao HuiRong  
(Internal Medicine)**

**Dissertation Supervisor: Li Jun**

**May,2021**

# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：赵会荣

时间：2021年5月23日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：赵会荣

时间：2021年5月23日

导师签名：李

时间：2021年5月23日

## 摘要

### (Abstract)

**目的:** 1.检测新疆石河子绝经后女性不同糖、骨代谢状态下,甲状旁腺激素(Parathyroid hormone, PTH)蛋白表达水平、不同基因位点多态性及突变情况。2.探讨 PTH 蛋白表达、rs10500783、rs10500784 位点基因多态性、突变与骨密度(Bone mineral density, BMD)及骨代谢指标间的关系,为绝经后 2 型糖尿病(Type 2 diabetic mellium, T2DM)女性合并骨质疏松(Osteoprosis, OP)防治提供依据。

**方法:** 1.纳入 2018 年 10 月-2019 年 10 月绝经后女性为研究对象,依据 OGTT 及双能 X 线检测 BMD 结果,分为糖耐量正常伴骨量正常组(A 组, 52 例);糖耐量正常伴骨量异常组(B 组, 43 例);T2DM 伴骨量正常组(C 组, 47 例);T2DM 伴骨量异常组(D 组, 58 例)。2.记录年龄、绝经年限和身高一般资料。采用罗氏全自动生化分析仪测定空腹血糖(Fasting plasma glucose, FPG)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、血钙(Serum Calcium, Ca)、血磷(Serum Phosphoru, P)等生化指标;高压液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)测定糖化血红蛋白(Hemoglobin A1c, HbA1c%);双能 X 线吸收法(Dual-energy X-ray absorptiometry, DEXA)测定腰椎(L1-4)及股骨颈骨密度(Bone mineral density, BMD)。Sequenom 飞行时间质谱法检测 PTH 基因 rs10500783、rs10500784 位点基因多态性。4.采用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测 PTH 蛋白表达水平。5.操作软件 SPSS 20.0 对数据进行统计处理,通过 $\chi^2$ 检验判断 PTH 基因型是否满足哈温(Hardy-Weinberg)遗传平衡定律。组间比较采用  $t$  检验或方差分析及秩和检验,相关性分析采用 Spearman 分析,PTH 蛋白的诊断价值通过绘制受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic curve, ROC 曲线),BMD 影响因素分析采用多元线性回归。

**结果:** 1.组间基线资料比较,与对照组 A 组相比, C 组和 D 组的 FPG ( $9.10\pm 2.44$ 、 $9.10\pm 2.44$  vs  $5.00\pm 0.59$ )、HbA1c% ( $8.42\pm 1.95$ 、 $8.19\pm 1.87$  vs  $6.01\pm 0.83$ ) 水平高于 A 组 ( $P<0.01$ ), C 组 HDL ( $1.93\pm 1.06$  vs  $1.43\pm 0.49$ ) 水平高于 A 组 ( $P<0.01$ )。组间骨代谢指标和 BMD 比较,与对照组 A 组相比, B 组和 D 组的 BMD(L1-4) ( $0.93\pm 0.20$ 、 $0.95\pm 0.10$  vs  $1.16\pm 0.20$ ) 和 BMD(股骨颈) ( $0.78\pm 0.13$ 、 $0.77\pm 0.10$  vs  $1.02\pm 0.25$ ) 低于 A 组 ( $P<0.01$ )。2.与对照组 A 组相比, B 组 { $44.89$  ( $40.11$ ,  $49.17$ ) vs  $48.86$  ( $43.98$ ,  $57.92$ ),  $P<0.05$ } 和 D 组 { $44.28$  ( $41.00$ ,  $46.68$ ) vs  $48.86$  ( $43.98$ ,  $57.92$ ),  $P<0.01$ } PTH 蛋白表达浓度降低。相关性分析, PTH 蛋白表达水平与 BMD(L1-4) ( $r=0.223$ ,  $P<0.05$ ) 和 BMD(股骨颈) ( $r=0.220$ ,  $P<0.05$ ) 呈正相关 ( $P<0.05$ )。PTH 蛋白表达在诊断 OP 中的价值, 诊断 OP 的最佳临界点为 0.271, 其对应的 PTH 浓度为 50.85 pg/ml, 敏感度为 34.1%, 特异性为 93%, AUC 为 0.640 ( $P=0.027$ , 95%可信区间: 0.521~0.759)。3. PTH 基因两个位点基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。PTH 基因 rs10500783 位点有三种基因型, CC、TT 及 CT 基因型分布频率分别为 72.1% (137 例)、12.6% (24 例) 和 15.3% (29

例); 等位基因 C 和 T 的分布频率分别为 79.7%和 20.3%。与 A 组相比, B 组和 C 组基因型频率分布差异有统计学意义 ( $P<0.001$ )。PTH 基因 rs10500784 位点有三种基因型, AA、CC 及 AC 基因型分布频率分别为 80.2% (158 例)、0.5% (1 例) 和 19.3% (38 例); 等位基因 A 和 C 的分布频率分别为 89.8%和 10.2%。PTH 基因 rs10500783 位点, D 组, CT/TT 基因型年龄 {65.00 (50.00, 74.00) vs 73.00 (68.00, 77.00),  $P<0.05$ } 和绝经年限 {13.00 (5.00, 24.00) vs 24.00 (20.00, 29.50),  $P<0.05$ } 低于 CC 基因型; 且 CT/TT 基因型 TG 水平低于 CC 基因型 {1.04 (0.83, 1.75) vs 1.69 (1.20, 2.08),  $P<0.05$ }。PTH 基因 rs10500784 位点, A 组, 与 AA 基因型相比, AC/CC 基因型血 Ca 水平低于 AA 基因型 {2.22 (2.18, 2.28) vs 2.30 (2.24, 2.34),  $P<0.05$ }。4.多元线性回归分析, 绝经年限增高、ALP 水平增高及 PTH 蛋白表达浓度和 LDL-C 水平降低是 BMD (L1-4) 降低的危险因素; PTH 基因 rs10500783 位点多态性、绝经年限增高及血 P 水平降低是 BMD (股骨颈) 降低的危险影响因素。

**结论:** 1.在石河子绝经后 T2DM 女性中, PTH 基因多态性通过下调 PTH 蛋白表达引起骨代谢异常, 从而参与该人群 OP 的发生和发展; 2.当血清 PTH 蛋白浓度小于 50.85pg/ml 时, 在该人群 OP 中具有较好的诊断价值; 3. PTH 基因多态性与糖代谢有关, 且基因突变参与该人群脂代谢紊乱的发生。

**关键词:** PTH 基因多态性; PTH 蛋白; 骨密度; 绝经后女性; 2 型糖尿病

## Abstract

**Objective:** 1. To observe the expression of PTH protein and the gene polymorphisms and mutations at rs10500783 and rs10500784 in postmenopausal women in Shihezi of Xinjiang under different glucose and bone metabolic states. 2. To explore the relationship between the expression of PTH protein and gene polymorphism and the biochemical indicators. To provide the basis for the prevention and treatment of OP in women with postmenopausal T2DM.

**Methods:** 1. We collected 200 cases of natural postmenopausal women from the First Affiliated Hospital of Medicine School in Xinjiang, China, from October 2018 to October 2019. According to the results detected by an oral glucose tolerance test (OGTT) and dual-energy X-ray (DEXA) for BMD, the subjects were divided into four groups: Normal glucose tolerance and bone mass group (group A), which included 52 patients; Normal glucose tolerance and abnormal bone mass group (group B), including 43 patients; T2DM group with normal bone mass (group C), including 47 cases; and T2DM group with bone mass abnormality (group D), including 58 cases. 2. To calculate the body mass index (BMI) and waist-to-hip ratio (WHR), each subject's height, weight, waist circumference, and hip circumference were determined. The subjects were tested for fasting plasma glucose (FPG), the 2-hour blood glucose after oral glucose tolerance test (2-h OGTT PG), haemoglobin A1c (HbA1c), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglycerides (TG), calcium (Ca) phosphorus (P) and alkaline phosphatase (ALP). Ca, P, ALP, FPG, 2-h OGTT PG, HDL-C, LDL-C and TG were measured by a Roche automatic biochemical analyser (Modular DPP-H7600), and HbA1c was tested by high performance liquid chromatography (HPLC). The dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) method was used to determine the bone mineral density of the lumbar spine and the femur. The rs10500783 and rs10500784 polymorphism sites in the PTH genotype were detected by time-of-flight mass spectrometry (TOF-MS). 4. The expression level of PTH protein was measured by Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). 5. The data were statistically processed by SPSS 20.0, and the genotype of PTH was determined to satisfy the law of Hardy Weinberg genetic balance by  $\chi^2$  test. T test or ANOVA and rank sum test were used for comparison between groups. Spearman analysis was used for correlation analysis. The diagnostic value of PTH protein was calculated by plotting Receiver operating characteristic curve (ROC curve). The influencing factors of BMD were analyzed by multiple linear regression.

**Results:** 1. Compared with control group A, FPG ( $9.10 \pm 2.44$ ,  $9.10 \pm 2.44$  vs  $5.00 \pm 0.59$ ) and HbA1c% ( $8.42 \pm 1.95$ ,  $8.19 \pm 1.87$  vs  $6.01 \pm 0.83$ ) levels in group C and D were higher than those in group A ( $P < 0.01$ ), and HDL ( $1.93 \pm 1.06$  vs  $1.43 \pm 0.49$ ) levels in group C were higher

than those in group A ( $P<0.01$ ). Compared with control group A, BMD ( $0.93\pm 0.20$ ,  $0.95\pm 0.10$  vs  $1.16\pm 0.20$ ) and BMD ( $0.78\pm 0.13$ ,  $0.77\pm 0.10$  vs  $1.02\pm 0.25$ ) in group B and D were lower than those in group A ( $P<0.01$ ).<sup>2</sup> Compared with control group A, PTH protein expression concentration in group B {44.89 (40.11, 49.17) vs 48.86 (43.98, 57.92),  $P<0.05$ } and group D {44.28 (41.00, 46.68) vs 48.86 (43.98, 57.92),  $P<0.01$ } decreased. Correlation analysis showed that PTH protein expression level was positively correlated with BMD (L1-4) ( $r=0.223$ ,  $P<0.05$ ) and BMD (femoral neck) ( $r=0.220$ ,  $P<0.05$ ) ( $P<0.05$ ). The value of PTH protein expression in the diagnosis of OP, the best critical point for the diagnosis of OP is 0.271, the corresponding PTH concentration is 50.85 pg/ml, sensitivity is 34.1%, specificity is 93%, and AUC is 0.640 ( $P=0.027$ , 95% confidence interval: 0.521-0.759).<sup>3</sup> The genotype frequency distribution of rs10500783 and rs10500784 of PTH gene conforms to Hardy-Weinberg law of genetic balance ( $P>0.05$ ). The genotype and allele frequency distribution of PTH gene rs10500783 were CC, TT and CT. CC genotype distribution frequency was 72.1% (137 cases), TT genotype distribution frequency was 12.6% (24 cases) and CT genotype distribution frequency was 15.3% (29 cases). The distribution frequencies of alleles C and T were 79.7% and 20.3%, respectively. The genotype and allele frequency distribution of PTH gene rs10500783 were compared between groups, and the difference of genotype frequency distribution between group B and Group C was statistically significant ( $P<0.001$ ) compared with group A. The frequency distribution of genotypes and alleles of PTH gene rs10500784 was AA, CC and AC, and the distribution frequency of AA genotypes was 80.2% (158 cases), 0.5% (1 case) of CC genotypes and 19.3% (38 cases) of AC genotypes. The distribution frequency of allele A and C at this locus was 89.8% and 10.2%, respectively. PTH gene rs10500783, group D, CT/TT genotype age {65.00 (50.00, 74.00) vs 73.00 (68.00, 77.00),  $P<0.05$ } and menopausal age {13.00 (5.00, 24.00) vs 24.00 (20.00, 29.50),  $P<0.05$ } lower than CC genotype; The TG level of CT/TT genotype was lower than that of CC genotype {1.04 (0.83, 1.75) vs 1.69 (1.20, 2.08),  $P<0.05$ }. PTH gene rs10500784, group A, compared with AA genotype, AC/CC genotype blood Ca level was lower than AA genotype {2.22 (2.18, 2.28) vs 2.30 (2.24, 2.34),  $P<0.05$ }.<sup>4</sup> Multiple linear regression analysis showed that increased menopausal age, increased ALP level, decreased PTH protein expression concentration and LDL-C level were the risk factors for decreased BMD (L<sub>1-4</sub>). The polymorphism of rs10500783 of PTH gene, the increase of menopausal years and the decrease of blood P level are the risk factors of BMD (femoral neck) reduction.

**Conclusions:**1. The polymorphism of rs10500783 of PTH gene and the decrease of PTH protein expression level can cause abnormal bone metabolism, thus participating the development of postmenopausal T2DM complicated with OP in Shihezi area of Xinjiang.2. When the cut point of serum PTH protein was 50.85pg/ml, it showed a good value in the

diagnosis of OP in postmenopausal T2DM women in Shihezi area of Xinjiang.3. PTH gene mutation is associated with lipid metabolism disorders in postmenopausal T2DM women in Shihezi area of Xinjiang.

**Key word:** PTH gene polymorphism; PTH protein; Bone Density; Postmenopausal women; Diabetes Mellitus, Type 2

# 目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
英文缩略词.....	VIII
前言.....	1
材料和方法.....	3
1.研究对象.....	3
1.1 实验对象与实验分组.....	3
1.2 纳入标准.....	3
1.3 排除标准.....	3
1.4 诊断标准.....	3
2.临床资料收集.....	4
2.1 一般资料的收集.....	4
2.2 血液标本的采集.....	4
2.3 生化指标及 BMD 的检测.....	4
3.实验所需试剂及仪器.....	4
3.1 实验所需试剂.....	4
3.2 实验所需仪器和设备（见表 5）.....	5
4.基因分型.....	6
4.1 PTH SNP 位点的确定.....	6
4.2 分离血清.....	6
4.3 DNA 的提取.....	6
4.4 SNP 分型的检测.....	8
4.5 基因分型步骤.....	8
5.蛋白水平的表达.....	10
5.1 实验原理.....	11
.....	11
5.2 准备工作.....	11
5.3 操作步骤.....	11
5.4 计算.....	11
6.质量控制.....	12
6.1 一般资料及各项生化指标检测的质量控制.....	12
6.2 实验条件的质量控制.....	12
7.统计学方法.....	12
8.技术路线.....	13
结果.....	14
1.一般资料比较.....	14
2.经协方差分析后组间各生化指标的比较.....	14
2.1 组间糖、脂代谢指标比较.....	14

2.2 组间骨代谢指标和 BMD 比较.....	14
3.PTH 蛋白表达.....	15
3.1 组间 PTH 蛋白表达浓度比较.....	15
3.2 PTH 蛋白表达水平与各指标间的 Spearman 相关性分析.....	15
3.3 PTH 蛋白表达在绝经后 T2DM 女性中 OP 的诊断价值.....	16
4.PTH 基因多态性分析.....	17
4.1 PTH 基因哈温 (Hardy-Weinberg) 平衡检测.....	17
4.2 PTH 基因型及等位基因频率分布.....	17
5.PTH 基因不同位点野生型与突变型基因型间各指标的比较.....	19
5.1 PTH 基因 rs10500783 位点突变型与野生型间生化指标及 BMD 比较.....	19
5.2 PTH 基因 rs10500784 位点突变基因与野生基因型间生化指标及 BMD 比较.....	21
6.多元线性回归分析.....	23
讨 论.....	25
结 论.....	30
参考文献.....	31
文献综述.....	37
致 谢.....	45
作 者 简 介.....	46
导师评阅表.....	47

## 英文缩略词

英文缩写	英文全名	中文全名
T2DM	Type 2 Diabetes mellitus	2 型糖尿病
BMD	Bone mineral density	骨密度
BMI	Body mass index	体质指数
PTH	Parathyroid hormone	甲状旁腺激素
FPG	Fasting Plasma Glucose	空腹血糖
Elisa	Enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附法
TG	Triglyceride	甘油三酯
HDL-C	High Density Lipoprotein-C	高密度脂蛋白
HbA1c	Hemoglobin A1c	糖化血红蛋白
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test	口服葡萄糖耐量试验
NGT	Normal Glucose Tolerance	糖耐量正常
ALP	Alkaline phosphatase	碱性磷酸酶
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链反应
LDL-C	Low Density Lipoprotein-C	低密度脂蛋白
ROC	Receiver operating characteristic curve	受试者工作特征曲线
DEXA	Dual energy X-ray absorptionmetry	双能 X 线吸收法

## 前言

### (Introduction)

糖尿病 (Diabetes mellitus, DM) 是一种常见病、高发病, 以慢性血糖增高为主要特征, 遗传易感性在该疾病的发展中扮演着重要的角色, 主要由于胰岛素绝对或相对分泌不足和 (或) 胰岛素利用障碍<sup>[1]</sup>。目前, 全球 DM 患者人数呈不断增长的趋势, 中国 DM 患者人数居世界第一, 其中 2 型糖尿病 (Type 2 diabetic mellium, T2DM) 约占 95%。据 IDF 最新报告<sup>[2]</sup>, 全球约有 4.63 亿成人患 DM, 20~79 岁人群中约 1.16 亿 DM 患者, 中国 DM 人数占世界 DM 患者的 24%。随着老龄化不断加剧, 我国糖尿病患病率仍有进一步升高的趋势, 成为一个重大的社会公共卫生问题<sup>[3]</sup>。

糖尿病患者应严格预防因血糖控制不良造成的心、眼、肾及血管等的慢性并发症<sup>[4-5]</sup>, 其中骨质疏松 (Osteoporosis, OP) 是糖尿病主要慢性并发症之一, T2DM 合并 OP 的患病率达 50%-60%<sup>[6]</sup>。OP 是一种以骨量低下和骨脆性增加为特征的全身性骨病, 女性绝经后骨质疏松症是最常见的 OP, 与雌激素缺乏有关<sup>[7]</sup>。雌激素可以促进钙调节激素-降钙素的分泌、增强羟化酶活性, 促进肠道钙的吸收; 刺激成骨细胞增生, 使骨基质增加。绝经后雌激素缺乏, 破骨细胞活性增加, 骨吸收增强, 骨密度降低, 最终导致绝经后骨质疏松 (PMO)<sup>[8]</sup>。OP 患者骨折后, 20% 患者会死于各种并发症、50% 患者致残, 骨折的高发病率、高致残率, 造成生活质量严重下降, 经济负担加重<sup>[9-11]</sup>。

人甲状旁腺激素 ((Parathyroid hormone, PTH) 的重组形式特利帕特成为首个获得监管机构批准的合成代谢制剂<sup>[12]</sup>。间歇性服用特利帕特被证明对 PMO 有效, 同时, 改善骨密度 (Bone mineral density, BMD) 呈剂量依赖性增加<sup>[13]</sup>。在 TOP 试验中, 与安慰剂相比, 间歇性服用 PTH1-84 在 18 个月内使脊柱骨折的发生率降低 60% 以上, 并且与安慰剂相比, 脊柱 BMD 增加了 6.8%<sup>[14]</sup>。PTH1-84 等用于治疗 OP 的合成代谢药物可能是通过不同但相互关联的信号通路增加皮质骨和骨小梁表面的新骨形成, 从而增加 BMD 并降低骨折风险<sup>[15]</sup>。但是, 该具体机制还有待进一步研究。

Wnt 信号通路是调控生物生长发育的关键通路<sup>[16]</sup>。Wnt 信号通路主要分为三种途径, 依赖  $\beta$ -catenin 的经典信号通路 (Wnt/ $\beta$ -catenin)、Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  通路和 Wnt/PCP 通路。目前研究证实, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可以通过调节成骨细胞和破骨细胞的增殖和分化, 参与骨量的改变<sup>[17-18]</sup>。当 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路被激活时, 可通过与特异性受体 (卷曲蛋白) 以及脂蛋白相关受体 (LRP5/LRP6) 结合抑制  $\beta$ -catenin 磷酸化和降解, 使其在胞质内聚集并转移至核内, 通过与转录因子结合, 调控下游靶基因的表达, 对维持骨稳态起关键调控作用<sup>[19-22]</sup>。研究表明<sup>[23-24]</sup>, 该信号通路可促进间充质干细胞向成骨细胞分化, 并通过 cAMP/PKA 途径抑制破骨细胞分化, 从而促进骨形成, 而抑制骨吸收。Wnt 信号通路也可通过促进胰岛  $\beta$  细胞增殖和胰岛素分泌, 调节糖代谢<sup>[25]</sup>。因此, Wnt 信号通路作为一种重要的生物信号传导通路, 在调节骨代谢和糖代谢中发挥重要的作用。PTH 作为一种钙调激素, 在调节钙磷代谢、维持机体钙稳态方面起关键作用。PTH 是由 84

个氨基酸组成，编码 PTH 的人类基因位于 11 号染色体<sup>[26]</sup>。PTH 可通过激活经典的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路，抑制 $\beta$ -catenin 磷酸化和降解，使其在胞质内聚集并转移至核内，与转录因子结合后，调控 Wnt 靶基因表达，促进骨形成<sup>[27]</sup>。骨硬化素 (sclerostin, SOST) 是 Wnt 信号通路重要的调控因子，由骨细胞特异性表达，且为骨形成的负性调节因子<sup>[28]</sup>。Keller 等人研究<sup>[29]</sup>发现，间断使用 PTH 可以通过调控 mRNA 转录的水平抑制 SOST 基因表达，从而促进骨形成。PTH 基因通过上调 Wnt10b 的表达，促进成骨细胞数量增加<sup>[30]</sup>。<sup>[31]</sup>等人研究发现，PTH 通过其受体结合后激活 cAMP 介导的 PKA 信号通路，发挥抗凋亡作用，抑制骨细胞凋亡。PTH 基因可通过促进 CREB 和 Runx2 的表达，抑制凋亡蛋白 Bad 表达、促进凋亡基因 Bcl-2 的转录，抑制骨细胞凋亡<sup>[32]</sup>。

PTH 在调节糖、脂代谢中扮演重要角色，研究发现<sup>[33]</sup>，甲状旁腺功能亢进的患者存在血糖异常，且 PTH 蛋白浓度增高是 DM 和肥胖的负向影响因素。未羧化的骨钙蛋白 (undercarboxylated osteocalcin, ucOC) 浓度增加可促进脂肪分解、胰岛 $\beta$ 细胞数量增加；Schafer 等<sup>[34]</sup>人研究显示，间歇应用 PTH1-84 治疗，血清中 ucOC 水平明显升高。此外，研究表明，伴有血糖异常的甲旁亢患者行甲状旁腺切除术后，患者血糖水平明显改善。因此，PTH 可能通过上调 ucOC 的表达水平，改善糖脂代谢紊乱，并降低胰岛素抵抗<sup>[35]</sup>。

PTH 基因参与骨重塑和调节钙稳态，是 OP 的重要候选基因之一。Zhou 等<sup>[36]</sup>在对 PTH 基因与 BMD 关系的研究中发现，PTH 基因与脊柱或髌关节 BMD 改变无显著关联。王其飞等<sup>[37]</sup>人对 PTH 基因 rs1459015 位点多态性与 OP 性骨折关系的研究发现，该位点基因多态性与骨量改变无关。但有研究表明<sup>[38]</sup>，DM 患者 PTH 基因多态性 (BST BI 位点) 是预测骨量减少和 OP 的易感基因。国外研究发现<sup>[39]</sup>，沙特人 PTH 基因 rs10500783 位点的等位基因 T 与维生素 D 水平显著相关。本研究的侧重点是 PTH 蛋白表达及基因多态性与骨量减少关系的研究。

综上所述，关于 PTH 蛋白表达及基因多态性分别与 2 型糖尿病和骨代谢的关系的研究，国内外虽有相关的报道，但研究结果不一致。因此，基于本课题组前期对 Wnt 经典信号通路中 LRP5/6、SOST 基因多态性的研究，为进一步探讨新疆石河子绝经后女性不同糖、骨代谢状态下，PTH 蛋白表达水平及 PTH 基因位点多态性及突变与新疆绝经后 T2DM 女性骨代谢的关系，为新疆石河子地区绝经后女性 T2DM 合并 OP 的发生机制的揭示寻找新的证据。

## 材料和方法

### (Materials and Methods)

#### 1. 研究对象

##### 1.1 实验对象与实验分组

纳入 2018 年 10 月-2019 年 10 月期间, 在石大一附属医院门诊就诊及社区的 200 例绝经后女性为研究对象。研究过程中, T2DM 按照 1999 年 WHO 推荐的诊断标准, BMD 按照 1994 年 WHO 推荐的诊断标准。依据 T2DM 病病史或 OGTT 分为糖耐量正常组和 T2DM 组, 再根据双能 X 线检测结果将研究对象分为 NGT 组[糖耐量正常伴骨量正常组(A 组=52 例)]、骨量异常组(B 组=43 例)、T2DM 组(C 组=47 例)及 T2DM 伴骨量异常组(D 组=58 例)。

##### 1.2 纳入标准

- (1) 清醒状态, 能够正常表述的正常绝经后女性;
- (2) 排除其他因素引起的非自然性绝经。

##### 1.3 排除标准

- (1) 患有对骨代谢产生影响的疾病, 如甲亢、甲旁亢等;
- (2) 患有各种恶性肿瘤, 严重的心、肝、肾脏(尿毒症、肾衰竭)系统疾病;
- (3) 影响 Ca、P 和维生素 D 代谢及吸收的消化道疾病;
- (4) 既往服用可对钙调激素即雌激素、降钙素、维生素 K 造成影响的药物;
- (5) 1 型糖尿病和妊娠糖尿病。

##### 1.4 诊断标准

OP 按照 1994 年 WHO 推荐的诊断标准, T2DM 按照 1999 年 WHO 推荐的诊断标准。(见表 1、表 2)

表 1.1994 年 WHO 骨质疏松诊断标准

骨质疏松严重程度	BMD 低于同性别骨峰值 (T 值)
骨量正常	$\pm 1.0SD$
骨量减少	$> -2.5SD$
骨质疏松症	$\leq -2.5SD$
严重骨质疏松症	$\leq -2.5SD \pm$ 骨折

注: T 值作为诊断值, 适用于绝经后女性、65 岁以上男性及 50-64 岁伴危险因素男性

表 2.1999 年 WHO 2 型糖尿病诊断标准

诊断标准	静脉血浆葡萄糖水平 (mmol/L)
有糖尿病典型症状伴随机血糖	$\geq 11.1$
或	
空腹血糖	$\geq 7.0$
或	
OGTT	$\geq 11.1$

无糖尿病典型症状,需改日重复检测,若仍空腹血糖 $\geq 7.0$ 或餐后 2 小时血糖 $\geq 11.1$  达此标准,可确诊 DM

## 2. 临床资料收集

### 2.1 一般资料的收集

记录研究对象的一般资料:年龄、身高、体重、腰围、臀围和绝经年限。并计算 BMI=体重/身高<sup>2</sup>(kg/m<sup>2</sup>)、腰臀比(WHR)=腰围/臀围。

(1) 身高的测量:光着脚、立正的姿势、脚跟、骶骨部及两肩胛间紧靠身高计的立柱上。测量者站在被测量人的左侧,将其头部调整到耳屏上缘与眼眶下缘的最低点齐平,再移动身高测量仪的水平板至被测量人的头顶,使其松紧度适当,即可测量出身高,以 cm 为单位。

(2) 体重的测量:脱鞋,单衣站立于体重测量仪底座上,站立位置正确,身体站直,读数,以 kg 为单位。

(3) 腰围的测量:垂直站立姿势、双足自然分开、平稳呼吸;用一个软尺,在腋中线髂嵴和第 12 肋下缘连线的中点,围绕腹部一周,即为腰围,以 cm 为单位。

(4) 臀围的测量:两腿并拢直立、两臂自然下垂,皮尺水平放在前面的耻骨联合和背后臀大肌最凸处,以 cm 为单位。

### 2.2 血液标本的采集

核对研究对象的信息,空腹状态下,用 5ml 的紫头 EDTA 抗凝管采集 2 管肘静脉血,分别用于检测生化指标、分离血浆及血清。血浆分离是在采集血标本 2h 内以 1800rpm 的速度离心 10min 分离出血浆及血清,分别用于 PTH 蛋白表达水平的检查和 DNA 的提取。

### 2.3 生化指标及 BMD 的检测

生化指标钙(Ca)、空腹血糖(FPG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、磷(P)、甘油三酯(TG)、碱性磷酸酶(ALP)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的测定采用罗氏全自动生化分析仪(型号 Modular DPP-H7600)。高压液相色谱法(HPLC)测定糖化血红蛋白(HbA1c%);双能 X 线(DEXA)[型号为 Prodigy]法测定腰椎(L1-4)和股骨颈(左侧)的 BMD。收集、整理数据,建立 Eptidata 信息库,再导出至 SPSS20.0 软件进行统计学分析。

## 3. 实验所需试剂及仪器

### 3.1 实验所需试剂

#### 3.1.1 DNA 提取及飞行时间质谱仪所需主要试剂及软件(见表 3)

表 3. DNA 提取及飞行时间质谱仪所需主要试剂及软件

试剂或软件名称	试剂及软件来源
DNA 提取试剂盒	BioTeKe Corporation
DNA 染料	BioTeKe Corporation

琼脂糖	BIOWEST, REGMLAR (AGAROSE,G-10)
50×TAE Buffer	Biomed Corpration
6×Loading Buffer	TAKARA BIO INC
ddH <sub>2</sub> O	ABI
扩增引物和延伸引物混合物	Thermo
10×PCR 缓冲液	Agena, Inc
15×mM 和 25mM MgCl <sub>2</sub>	Agena, Inc
25×mM dNTP 混合物	Agena, Inc
HotStar Taq (5U/μl)	Agena, Inc
SAP Buffer	Agena, Inc
SAP Enzyme	Agena, Inc
iPLEX Termination mix	Agena, Inc
iPLEX Buffer Plus	Agena, Inc
iPLEX Enzyme	Agena, Inc
MassARRAY TYPER4.0	Agena, Inc

### 3.1.2 PTH 蛋白测定 Elisa 试剂盒 (江莱生物有限公司) (见表 4)

表 4. PTH 蛋白测定所需试剂

试剂名称	96 孔配置
显色剂 A 液	6ml×1 瓶
样品稀释液	6ml×1 瓶
20×浓缩洗涤液	25ml×1 瓶
终止液	6ml×1 瓶
酶标试剂	10ml×1 瓶
显色剂 B 液	6ml×1 瓶
标准品	0.3ml×6 管

### 3.2 实验所需仪器和设备 (见表 5)

表 5. 实验所需仪器和设备

名称	来源
-20℃冰柜	星星家电公司
振荡器	其林贝尔公司
电泳槽	北京六一仪器厂
低速离心机	湘仪集团
QB-206 摇床	其林贝尔公司
电子天平	佳衡公司
-80℃冰柜	美菱公司
0.1-2.5μl、0.5-50μl、50-200μl、200-1000μl	Eppendorf, German

移液器	
0.5-10 $\mu$ l、20-200 $\mu$ l、100-1000 $\mu$ l Tip	Axygen 产品
0.5ml、1.5ml 离心管	Axygen 产品
96 孔板、84 孔板	Axygen 产品
96 孔、384 孔 RCR 板胶垫	ABI
ABI veriti-384 PCR 仪	ABI
Smart view pro 1100 凝胶电泳成像仪	Major science
核酸自动提取仪	BioTeKe Corpration
MP-300V 电泳仪	Major science
ABI veriti-384 PCR 仪	ABI
384-well SpectroCHIP bioarray 芯片	Agena, Inc
MassARRAY Analyzer 4.0 质谱仪	-
MassARRAY Nanodispenser 点样机	-
酶标仪 (450nm)	美谷分子
37 $^{\circ}$ C 恒温箱	苏州威尔有限公司
SPSS20.0	-

## 4. 基因分型

### 4.1 PTH SNP 位点的确定

查阅国内外相关文献，选出 PTH 基因相关 SNP (Single nucleotide polymorphism) 位点，并通过 NCBI 网站筛选出最佳 PTH 基因功能区域的位点。本研究选择了 PTH 基因的 2 个 SNPs: rs10500783 和 rs10500784。(见表 6)

表 6. 四个位点的一般情况

SNP	rs10500783	rs10500784
功能位置	upstream variant	upstream variant.
染色体位置	17:13530190	17:13530401
等位基因	C/T	C/A

### 4.2 分离血清

取血后，静置 60 分钟，置于离心机内以 18000 转/秒的速度离心 10 分钟，用移液枪吸出上层分离出的血清，置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存，测定时移至室温下 30 分钟解冻。

### 4.3 DNA 的提取

#### 4.3.1 DNA 提取前准备工作

- (1) 实验所需器材高温蒸汽灭菌，并将血标准移至室-20 $^{\circ}$ C 冰箱保存。
- (2) 准备好一次性手套、口罩及隔离衣。

#### 4.3.2 DNA 提取

- (1) 将血标本移至室温下 30 分钟解冻，吸取 200 $\mu$ l 至 1.5ml EPP 管；

(2) 若血样本体积等于 200 $\mu$ l, 不做特殊处理; 若血样本体积小于 200 $\mu$ l, 则加入 GS 缓冲液至 200 $\mu$ l; 若血样本体积大于 200 $\mu$ l, 则加入细胞裂解液 CL、混匀, 并以 10000rpm 的速度离心 30s, 弃去上清保留底部细胞核沉淀;

(3) 向 EP 管中加入 4 $\mu$ l RNaseA (100mg/ml) 溶液, 震荡 30sec, 室温下放置 5min;

(4) 向 EP 管中加入 20 $\mu$ l Proteinase K、混匀, 再加入 200 $\mu$ l GB;

(5) 将 EP 管放置在水浴箱 56 $^{\circ}$ C 10min, 混匀至溶液变清亮;

(6) 加入无水乙醇 200 $\mu$ l, 混匀至出现絮状沉淀;

(7) 将絮状沉淀倒入吸附柱 CB3 中, 以 12000rpm 的速度离心 30s, 倒掉废液, 再次放入吸附柱 CB3, 同时加入 500 $\mu$ l GD; 重复上述步骤, 再次以 12000rpm 的速度离心 30s, 倒掉废液, 放入吸附柱 CB3, 加入 600 $\mu$ l 漂洗液 PW; 再次重复上述步骤, 以 12000rpm 的速度离心 30s, 倒掉废液;

(8) 加入 600 $\mu$ l 漂洗液, 以 12000rpm 的速度离心 2min, 倒掉废液, 室温下放置数分钟, 直至晾干吸附柱中的漂洗液。

(9) 将吸附柱 CB3 放入 1.5ml 的离心管中, 悬空滴加 50-200 $\mu$ l TB, 室温下放置 4min;

(10) 将吸附柱 CB3 放入干净的离心管中, 以 12000rpm 的速度离心 2min, 收集底部有溶液的离心管;

(11) 用紫外分光光度计检测中血样本中 DNA 的浓度 (>30ng/ $\mu$ l);

(12) 将 DNA 放置在 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

#### 4.3.2 测定 DNA 浓度和 OD 值

利用紫外分光光度计检测中血样本中 DNA 的浓度, 检测前先用双蒸水清洗, 再吸取 1 $\mu$ l 的 DNA 样本进行测定, 记录 DNA 浓度及 OD 值 (OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>)。为排除 DNA 样本中蛋白质及细胞中其它有机化合物对实验结果造成的误差, 需保证每一个 DNA 样本的 OD 值均在 1.7-2.0 之间。以下为部分 DNA 样本的浓度和 OD 值。(见表 7)

表 7. 部分 DNA 样本的浓度和 OD 值

样例	DNA 浓度 (ng/ $\mu$ l)	OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>
1	62.2	1.71
2	61.0	1.7
3	82.0	1.86
4	56.9	1.90
5	65.1	1.87
6	67.5	1.82
7	54.2	1.90
8	59.1	1.84
9	78.0	1.78
10	67.3	1.91

#### 4.4 SNP 分型的检测

##### 4.4.1 引物合成

(1) 通过 NCBI 网站获取基因序列, 结合文献并采用 AssayDesigner3.1 软件对 PTH 基因 rs10500783 和 rs10500784 两个位点进行引物设计。F 代表: 上游引物; R 代表: 下游引物; E 代表: 单碱基延伸引物。(见表 8)

表 8.PTH 基因 SNP 位点引物

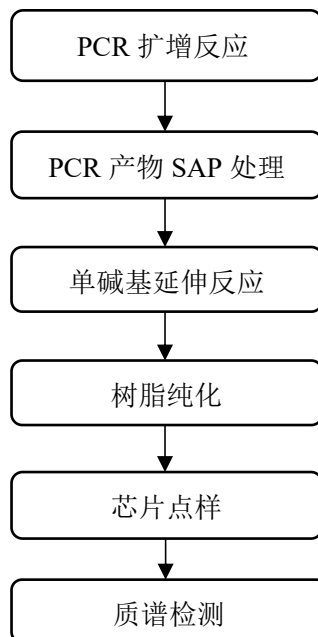
SNP 位点		5'-3'
rs10500783	F	ACGTTGGATGTGTGCTTGACCGCATTCTTG
	R	ACGTTGGATGGGTGGTGCTAGTTTAGGATG
	E	tttCGCATTCTTGCTTTCA
rs10500784	F	ACGTTGGATGCTGGGTCAGATAAAATGAGC
	R	ACGTTGGATGTGCAGAAATACAATAGGAGG
	E	gcaagGTTGAGAGCAATTGTCAGA

##### 4.4.2 引物稀释

(1) PCR master mix 引物配置: 稀释单管 PCR master 至表 100 $\mu$ M, 加入去离子水混合所有单管 PCR master 使最终反应 PCR master mix 浓度 0.5 $\mu$ M。

(2) EXIEND Mix 引物配置: 稀释单管延引物至 500 $\mu$ M, 加入引物混合后使得各引浓度为 8 $\mu$ M、10 $\mu$ M、15 $\mu$ M。按 DNA 合成产品说明计算该条引物分子量、质量数和摩尔数, 进而根据所需的浓度计算需加入去离子水的量, 将在混合好的单管延使引物根据分子量大小, 分别取 (小于 6300 Da) 1 倍, (6300 Da 至 7200 Da) 1.2 倍, (大于 7200 Da) 1.5 倍体积量进行混合待用。

#### 4.5 基因分型步骤



## (1) PCR 扩增反应

1) 在 1.5ml 的 EP 管中配制 PCR master mix, 震荡低速离心。(见表 9)

表 9. PCR 扩增反应试剂配制组分

PCR master mix of Reagent	Conc.in 5 $\mu$ l	Volume (1rxn)
Water, HPLC grade	NA	1.85 $\mu$ l
PCR Buffer with 15mM MgCl <sub>2</sub>	1.25x	0.625 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1.625mM	0.325 $\mu$ l
dNTP Mix (25mM each)	500 $\mu$ M	0.100 $\mu$ l
Primer Mix (500mM each)	100 $\mu$ M	1.000 $\mu$ l
HotStar Taq (5U/ $\mu$ l)	0.5U/rxn	0.100 $\mu$ l
Total		4.000 $\mu$ l

2) 向 384 孔板的每孔中加入 4 $\mu$ l PCR master mix, 最后加入 1 $\mu$ l 模版 DNA (20ng/ $\mu$ l) 混匀, 用 384 孔封板膜封闭、压牢, 1000rpm 离心 1 分钟。

3) 设置以下 PCR 扩增反应程序, 并把反应板放在 PCR 仪器上, 启动操作。

94°C	5min	
94°C	20sec	45cycles
56°C	30sec	
72°C	1min	
72°C	3min	
4°C	$\infty$	

## (2) 碱性磷酸酶处理

1) 结束 PCR 扩增反应后, 为去除游离的 dNTPs, 用 SAP (shrimp alkaline phosphatase, 虾碱性磷酸酶) 处理 PCR 产物。

2) 取 EP 管, 配制 SAP 处理反应液。(见表 10)

表 10. SAP 处理反应液组分

SAP mix of Reagent	Concentration	Volume
Water (HPLC grade)	NA	1.53 $\mu$ l
SAP Buffer	10x	0.17 $\mu$ l
SAP Enzyme	1U/ $\mu$ l	0.3 $\mu$ l
Total volume	-	2 $\mu$ l

3) 将 SAP mix 加入 384 孔 PCR 反应板, 并用碱性磷酸酶处理反应孔, 反应体积为 7 $\mu$ l, 其中 PCR 产物 5 $\mu$ l, SAP mix 2 $\mu$ l。

4) 移液后, 小心盖上 384 孔封板膜、压牢。

5) 设置程序: 37°C 20min、85°C 5min 和 4°C  $\infty$ , 反应板置于 PCR 仪器上, 启动程序。

## (3) 单碱基延伸反应

- 1) 用碱基磷酸酶处理, 进行单碱基延伸反应 (9 $\mu$ l)。
- 2) 取 1.5 毫升的 EP 管, 配制单碱基延伸反应液。(见表 11)

表 11.单碱基延伸反应组分

EXTEND Mix of Reagent	Conc.in 9 $\mu$ l	Volume (1rxm)
Water, HPLC grade	NA	0.619 $\mu$ l
iPLEX Buffer Plus	0.222x	0.200 $\mu$ l
iPLEX Termination mix	1x	0.200 $\mu$ l
Primer Mix (7 $\mu$ M:14 $\mu$ M)	0.625 $\mu$ M:1.25 $\mu$ M	0.940 $\mu$ l
iPLEX Enzyme	1x	0.041 $\mu$ l
Volume	-	2 $\mu$ l

- 3) 向孔中加入 2 $\mu$ l EXTEND Mix。
- 4) 封膜、压牢, 并进行如下反应。
- 5) 设置延伸反应程序:

94°C	30sec		
94°C	5sec		40cycles
52°C	5sec	5cycles	
80°C	5sec		
72°C	3min		
4°C	$\infty$		

#### (4) 树脂纯化

- 1) 取 384/6 MG Dimple 板, 用树脂填充, 并晒干静置 10min。
- 2) 每孔加入 16 $\mu$ l 的去离子水。
- 3) 将 384 孔样本板轻轻翻转扣在 Dimple 板上, 然后轻敲树脂落入样板的每个孔中。
- 4) 将样本板放置翻转离心机中室温旋转混匀 30 分钟。

#### (5) 芯片点样

启动 MassARRAY Nanodispenser RS1000 点样仪, 将延伸产物移至 384-well SpectroCHIP bioarray 上。

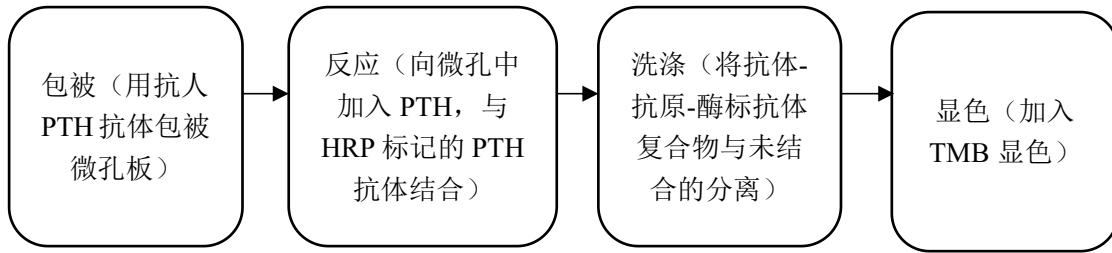
#### (6) 质谱检测及数据输出

SpectroCHIP 芯片的分析采用 MALDI-TOF 质谱仪, PTH 基因 rs10500783 和 rs10500784 两个位点基因型的获取采用的是 TYPER4.0 软件。

## 5. 蛋白水平的表达

采用酶联免疫吸附法 (Elisa 法) 测定 PTH 蛋白表达水平, 试剂盒购买自江莱生物有限公司。

## 5.1 实验原理



## 5.2 准备工作

(1) 试剂盒内的所有试剂取出，在室温下放置 30min，直至达到室温 20-25°C，使用后立即放置 4°C 冰箱保存。

(2) 刚从冰箱取出的浓缩洗涤液可能出现结晶，属于正常现象；轻轻晃动，混匀，室温下放置至结晶完全溶解后再配制洗涤液；用蒸馏水将 20ml 浓缩洗涤液稀释配制成 400ml 的洗涤液。

(3) 20×洗涤缓冲液的稀释：蒸馏水按 1：20 稀释。

## 5.3 操作步骤

(1) 取出 96 孔的酶标包被板，设置 6 个标准品孔，向标准孔中依次加入浓度分别为 0 pg/ml、5 pg/ml、10 pg/ml、20 pg/ml、40 pg/ml 和 80 pg/ml 的标准品 50μl。

(2) 设置 1 个空白孔（不加样品及酶标试剂），首先向待测样品孔中加入 40μl 稀释液，再加入待测样品 10μl（样品稀释度为 5 倍），轻轻晃动混匀。

(3) 除空白孔外，向酶标包被板上的待测样本孔和标准品孔中，加入酶标试剂 100μl。

(4) 采用封板膜将酶标包被板密封后，放置在 37°C 恒温箱中温育 1h。

(5) 用蒸馏水将 20 倍浓缩的洗涤液稀释 20 倍备用。

(6) 温育 1 小时后，揭掉封板膜，弃去液体，并用力甩干，向每个孔中加满洗涤液，静置 30s 后弃去、拍干，如此步骤重复 5 次。

(7) 向每个孔中先加入显色试剂 A 50μl，再加入显色试剂 B 50μl，混匀，37°C 恒温箱中避光显色 15min。

(8) 向每个孔中分别加入 50μl 的终止液，以终止反应（蓝色变成黄色）。

(9) 空白孔调零，使用酶标仪（450nm）测量酶标包被板上各孔的吸光度（OD 值）。

注意：为减少污染，在进行样品加样时应加入到孔的底部，不要触及孔壁，避免交叉污染；拍板时避免将酶标仪板孔甩出；显色时应注意避光；为保证测量吸光度的准确性，要在加入终止液后的 15 分钟内进行。

## 5.4 计算

把标准品浓度 0 pg/ml、5 pg/ml、10 pg/ml、20 pg/ml、40 pg/ml 和 80 pg/ml 设置为

横坐标，OD 值设置为纵坐标，利用 ELISA calculate 绘图并计算出标准曲线的直线回归方程式，然后分别将样本的 OD 值代入方程式，计算出 PTH 蛋白浓度，再乘以稀释浓度 5 倍，即为 PTH 蛋白的实际浓度。

## 6. 质量控制

### 6.1 一般资料及各项生化指标检测的质量控制

为确保所收数据的准确性，一般资料及各项生化指标的检测，均应由受过专门培训的专业人员进行操作。

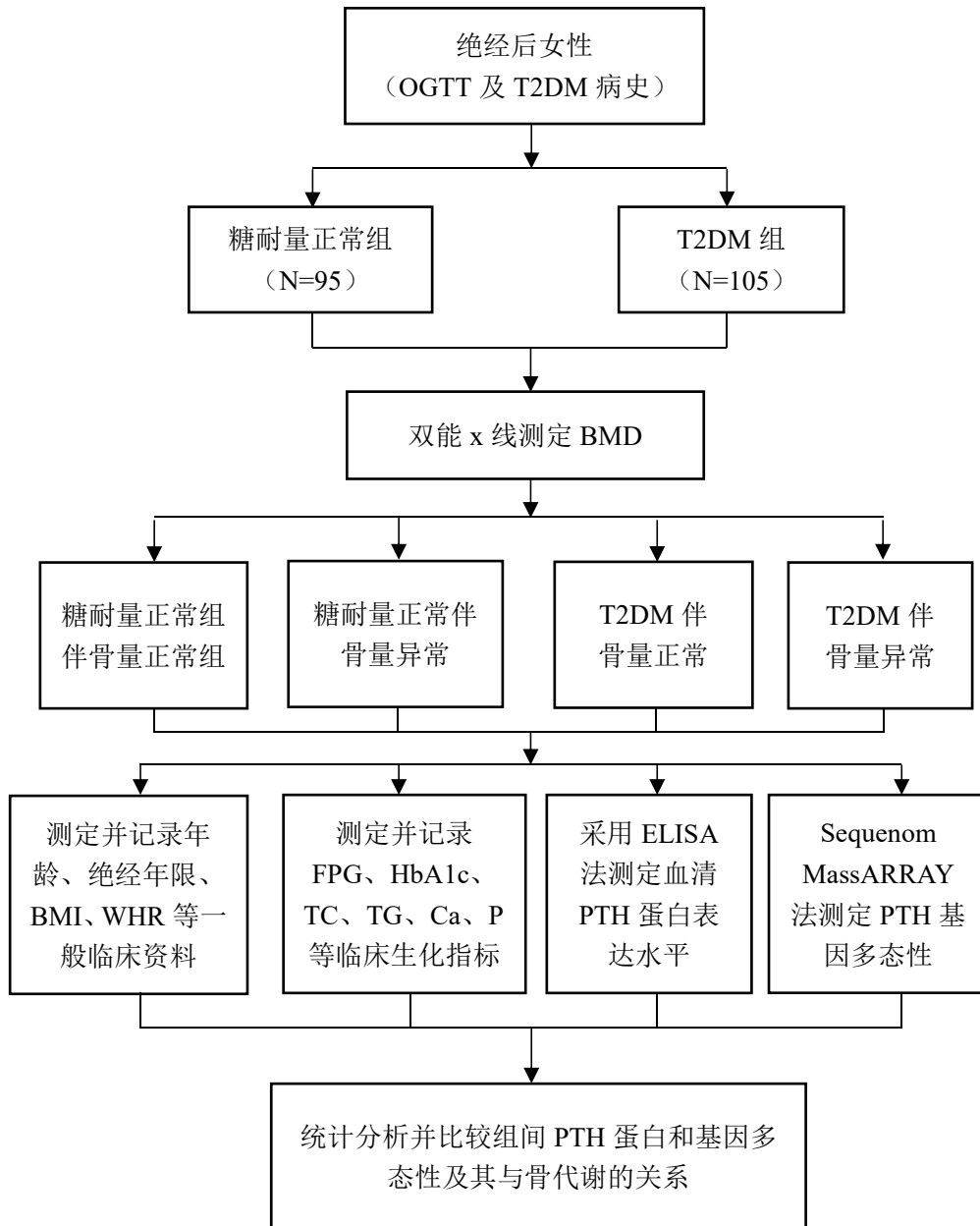
### 6.2 实验条件的质量控制

- (1) 严格遵守无菌操作规范，佩戴好口罩及一次性手套，避免污染。
- (2) 定期对实验台进行紫外线照射处理。
- (3) 做好实验前准备，实验所需器材需提前高压灭菌消毒。
- (4) 严格遵守实验操作要求，加样时避免污染，仔细核对所加试剂的名称和加样量。
- (5) 注意血标本及试剂盒等实验物品的保存方式，贮存在 $-20^{\circ}\text{C}$ 、 $80^{\circ}\text{C}$ 或室温下保存，避免温度过高或者过低引起分子量的变化。
- (6) 在实验操作中，仔细阅读试剂盒说明书上的操作步骤及注意事项，严格按照实验要求加样，避免因混淆加样的先后顺序引起的实验结果的不准确。

## 7. 统计学方法

操作软件 SPSS 20.0 对数据进行统计处理，通过 $\chi^2$  检验判断 PTH 基因型是否满足 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律以及 PTH 基因 rs10500783 和 rs10500784 位点的多态性和等位基因频率分布；计量资料若呈正态分布用 $(\bar{x} \pm s)$  表示，两组间比较采用独立样本  $t$  检验，多组间比较采用方差分析（如果基线资料不齐则需采用协方差分析）；若是呈非正态分布，则采用  $M(P_{25}, P_{75})$  表示，组间比较采用  $K-S$  秩和检验；Spearman 相关性分析 PTH 蛋白浓度与各指标间的关系；通过绘制 ROC 曲线，探讨 PTH 蛋白表达在绝经后 T2DM 女性 OP 中的诊断价值；多元线性回归分析绝经后 T2DM 女性 BMD 的影响因素，检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 8. 技术路线



## 结果

### (Results)

#### 1. 一般资料比较

与 A 组相比, B 组绝经年限高于 A 组 ( $15.74 \pm 9.67$  vs  $11.48 \pm 9.42$ ), D 组年龄和绝经年限高于 A 组 ( $69.03 \pm 9.74$ 、 $20.10 \pm 9.58$  vs  $58.44 \pm 9.24$ 、 $11.48 \pm 9.42$ , ( $P < 0.05$ )), 基线不齐同, 采用协方差分析进一步比较相关生化指标。(见表 12)

表 12. 组间基线指标的比较

指标	A 组	B 组	C 组	D 组
例数 n	52	43	47	58
年龄/岁	$58.44 \pm 9.24$	$61.14 \pm 16.55$	$57.15 \pm 9.52$	$69.03 \pm 9.74^{**}$
绝经年限/年	$11.48 \pm 9.42$	$15.74 \pm 9.67^*$	$9.55 \pm 10.41$	$20.10 \pm 9.58^{**}$
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$26.10 \pm 3.59$	$24.68 \pm 3.34$	$25.63 \pm 4.21$	$25.38 \pm 3.61$
WHR	$2.69 \pm 12.91$	$0.89 \pm 0.09$	$2.98 \pm 14.16$	$1.96 \pm 7.76$

注: 与 A 组相比,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$

#### 2. 经协方差分析后组间各生化指标的比较

##### 2.1 组间糖、脂代谢指标比较

结果显示, C 组和 D 组的 FPG ( $9.10 \pm 2.44$ 、 $9.10 \pm 2.44$  vs  $5.00 \pm 0.59$ )、HbA1c% ( $8.42 \pm 1.95$ 、 $8.19 \pm 1.87$  vs  $6.01 \pm 0.83$ ) 水平高于 A 组 ( $P < 0.01$ ), C 组 HDL ( $1.93 \pm 1.06$  vs  $1.43 \pm 0.49$ ) 水平高于 A 组 ( $P < 0.01$ ); 其余指标组间比较无差异 ( $P > 0.05$ )。(见表 13)

表 13. 组间糖、脂代谢指标比较

指标	A 组	B 组	C 组	D 组
FPG ( $\text{mmol}/\text{l}$ )	$5.00 \pm 0.59$	$5.30 \pm 1.83$	$9.10 \pm 2.44^{**}$	$9.10 \pm 2.44^{**}$
HbA1c%	$6.01 \pm 0.83$	$6.24 \pm 0.92$	$8.42 \pm 1.95^{**}$	$8.19 \pm 1.87^{**}$
TG ( $\text{mmol}/\text{l}$ )	$1.72 \pm 1.25$	$1.34 \pm 0.93$	$2.32 \pm 3.01$	$1.63 \pm 1.07$
HDL ( $\text{mmol}/\text{l}$ )	$1.43 \pm 0.49$	$1.42 \pm 0.59$	$1.93 \pm 1.06^{**}$	$1.53 \pm 0.61$
LDL ( $\text{mmol}/\text{l}$ )	$2.64 \pm 0.81$	$2.40 \pm 0.97$	$2.32 \pm 1.00$	$2.54 \pm 1.21$

注: 与 A 组相比,  $^{**}P < 0.01$

##### 2.2 组间骨代谢指标和 BMD 比较

结果显示, B 组和 D 组的 BMD (L1-4) ( $0.93 \pm 0.20$ 、 $0.95 \pm 0.10$  vs  $1.16 \pm 0.20$ ) 和 BMD (股骨颈) ( $0.78 \pm 0.13$ 、 $0.77 \pm 0.10$  vs  $1.02 \pm 0.25$ ) 低于 A 组 ( $P < 0.01$ ); 其余指标组间比较无差异 ( $P > 0.05$ )。(见表 14)

表 14.组间骨代谢指标及 BMD 比较

指标	A 组	B 组	C 组	D 组
Ca(mmol/l)	2.28±0.08	2.27±0.11	2.27±0.20	2.28±0.17
P(mmol/l)	1.14±0.16	1.18±0.24	1.18±0.18	1.08±0.15
ALP(U/l)	86.79±94.86	81.81±27.26	67.21±16.27	76.66±18.00
BMD(L1-4) (g/cm <sup>2</sup> )	1.16±0.20	0.93±0.20**	1.15±0.20	0.95±0.10**
BMD(股骨 颈)(g/cm <sup>2</sup> )	1.02±0.25	0.78±0.13**	1.02±0.15	0.77±0.10**

注：与 A 组相比， \*\* $P<0.01$

### 3.PTH 蛋白表达

#### 3.1 组间 PTH 蛋白表达浓度比较

与对照组 A 组相比，B 组 {44.89 (40.11, 49.17) vs 48.86 (43.98, 57.92),  $P<0.05$ } 和 D 组 {44.28 (41.00, 46.68) vs 48.86 (43.98, 57.92),  $P<0.01$ } PTH 蛋白表达浓度降低，其余各组间比较差异无统计学意义。（见表 15 及图 1）

表 15.组间 PTH 蛋白表达浓度比较

指标	A 组	B 组	C 组	D 组
PTH 蛋白 (pg/ml)	48.86 (43.98, 57.92)	44.89 (40.11, 49.17) *	46.42 (43.01, 54.72)	44.28 (41.00, 46.68) **

注：与 A 组相比， \* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

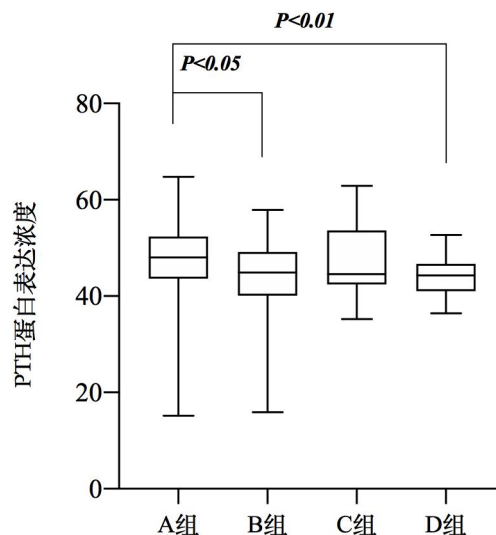


图 1.组间 PTH 蛋白表达浓度比较

Fig.1 Comparison of PTH protein expression concentration among groups

#### 3.2 PTH 蛋白表达水平与各指标间的 Spearman 相关性分析

结果显示, PTH 蛋白表达水平与 BMD (L1-4) ( $r=0.223$ ,  $P<0.05$ ) 和 BMD (股骨颈) ( $r=0.220$ ,  $P<0.05$ ) 呈正相关。(见表 16)

表 16.PTH 蛋白与各指标间的相关性分析

指标	PTH 蛋白	
	相关系数	<i>P</i> 值
年龄	-0.086	0.430
绝经年限	-0.046	0.676
BMI	0.092	0.401
WHR	-0.089	0.417
病程	0.071	0.515
FPG	-0.014	0.901
HbA1c%	-0.071	0.516
TG	0.102	0.352
HDL-C	0.076	0.487
LDL-C	0.029	0.793
Ca	0.099	0.365
P	0.061	0.574
ALP	-0.112	0.304
BMD(L1-4)	0.223	0.039
BMD(股骨颈)	0.220	0.042

### 3.3 PTH 蛋白表达在绝经后 T2DM 女性中 OP 的诊断价值

通过绘制 ROC 曲线显示: PTH 蛋白表达水平诊断 OP 的最佳临界点为 0.271, 其对应的 PTH 浓度为 50.85 pg/ml, 此时 PTH 蛋白表达水平诊断 OP 的敏感度为 34.1%, 特异度为 93%, AUC 为 0.640 ( $P=0.027$ , 95%可信区间: 0.521~0.759)。(见图 2)

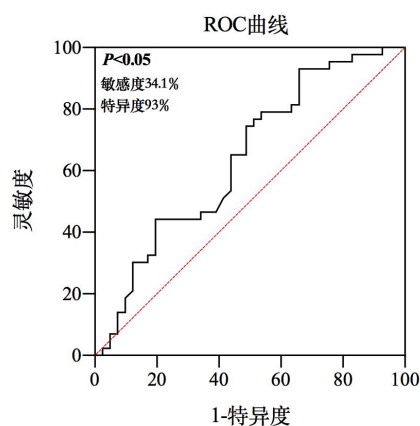


图 2.PTH 蛋白表达水平在诊断 OP 中的价值

Fig.2 The value of PTH protein expression level in the diagnosis of OP

## 4.PTH 基因多态性分析

### 4.1 PTH 基因哈温 (Hardy-Weinberg) 平衡检测

选择对照组 A 组进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检测, PTH 基因 rs10500783 位点和 rs10500784 位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P>0.05$ ), 提示本研究所纳入的人群具有代表性。(见表 17)

表 17.PTH 位点 Hardy-Weinberg 遗传平衡

位点	基因型	实际频数	理论频数	$\chi^2$	P 值
rs10500783	CC	36	31.20	0.448	0.094
	TT	2	1.02		
	CT	11	11.30		
rs10500784	AA	42	42.50	0.482	0.098
	CC	0	0.50		
	AC	10	9.00		

### 4.2 PTH 基因型及等位基因频率分布

#### 4.2.1 PTH 基因 rs10500783 位点的基因型及等位基因频率分布

PTH 基因 rs10500783 位点 CC、TT 及 CT 基因型分布频率为 72.1% (137 例)、12.6% (24 例) 和 15.3% (29 例); 等位基因 C 和 T 的分布频率分别为 79.7% 和 20.3%。与 A 组相比, B 组和 C 组基因型频率分布有差异 ( $P<0.001$ ), D 组差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。与 B 组相比, D 组间基因型频率分布存在差异 ( $P<0.001$ ), 与 C 组相比, B 组基因型频率分布存在差异 ( $P<0.001$ ), 等位基因分布频率差异无统计学意义。(见表 18、图 3 及图 4)

表 18.PTH 基因 rs10500783 位点基因型及等位基因频率分布

分 组	基因型			$\chi^2$	P 值	等位基因		$\chi^2$	P 值
	CC	TT	CT			C	T		
A	36(73.5)	2(4.1)	11(22.4)	43.66	0.00	83(84.7)	15(15.3)	3.62	0.31
B	31(75.6)	10(24.4)	0(0.0) * &			62(75.6)	20(24.4)		
C	34(75.6)	11(24.4)	0(0.0) *			68(75.6)	22(24.4)		
D	36(65.5)	1(1.8)	18(32.7) #			90(81.8)	20(18.1)		

注: \*与 A 组相比, #与 B 组相比, &与 C 组相比,  $P_{adj}$  值均  $<0.001$

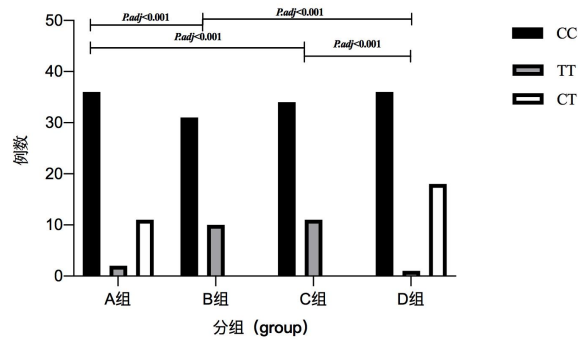


图 3.PTH 基因 rs10500783 位点基因型频率分布

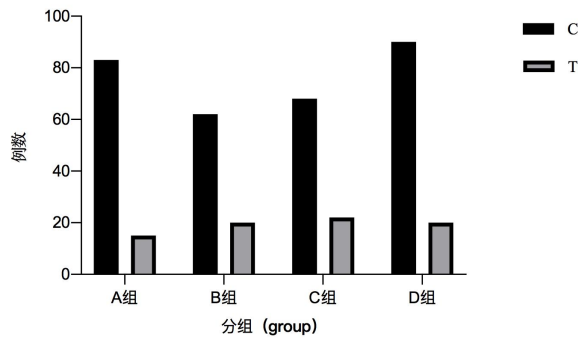


图 4.PTH 基因 rs10500783 位点等位基因频率分布

#### 4.2.2 PTH 基因 rs10500784 位点的基因型及等位基因频率分布

PTH 基因 rs10500784 位点 AA、CC 及 AC 基因型分布频率为 80.2% (158 例)、0.5% (1 例) 和 19.3% (38 例)；等位基因 A 和 C 的分布频率分别为 89.8% 和 10.2%。组间比较，差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。(见表 19、图 5 及图 6)

表 19.PTH 基因 rs10500784 位点基因型及等位基因频率分布

分组	基因型			$\chi^2$	P 值	等位基因		$\chi^2$	P 值
	AA	CC	AC			A	C		
A	42(80.8)	0(0.0)	10(19.2)	4.17	0.65	94(90.4)	10(9.6)	0.76	0.86
B	32(74.4)	1(2.3)	8(18.6)			72(87.8)	10(12.2)		
C	36(76.6)	0(0.0)	10(21.3)			82(89.1)	10(10.9)		
D	48(82.8)	0(0.0)	10(17.2)			106(91.4)	10(8.6)		

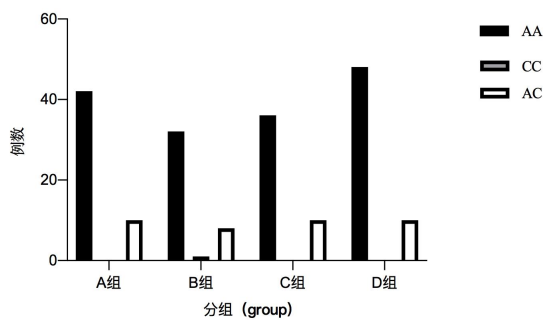


图 5.PTH 基因 rs10500784 位点基因型频率分布

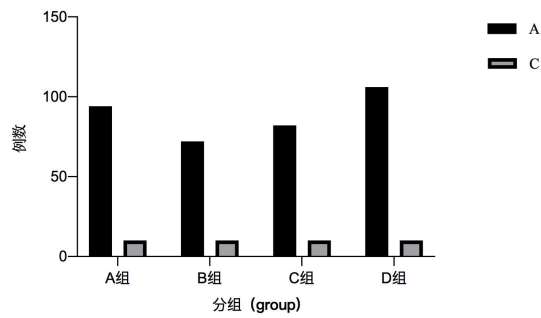


图 6. PTH 基因 rs10500784 位点等位基因频率分布

## 5. PTH 基因不同位点野生型与突变型基因型间各指标的比较

### 5.1 PTH 基因 rs10500783 位点突变型与野生型间生化指标及 BMD 比较

在本研究人群中，由于突变基因型（CT、TT）的数量较少，故将二者合并（CT/TT）与野生基因型（CC）进行比较。D 组，CT/TT 基因型（突变型）年龄{65.00（50.00，74.00）vs73.00（68.00，77.00）， $P<0.05$ }和绝经年限{13.00（5.00，24.00）vs24.00（20.00，29.50）， $P<0.05$ }低于 CC 基因型（野生型），提示基线不齐同，计量资料若呈正态分布，组间比较时采用协方差分析。CT/TT 基因型（突变型）TG 水平低于 CC 基因型（野生型）{1.04（0.83，1.75）vs 1.69（1.20，2.08）， $P<0.05$ }。A 组、B 组和 C 组不同基因型组间基线资料、生化指标及 BMD 比较差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。（见表 20、21、22、23、24、25、26 及 27）

表 20.A 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间基线资料比较

指标	CC	CT/TT	P 值
年龄	60.00（48.00，66.00）	58.00（48.50，62.50）	0.540
绝经年限	15.00（2.00，19.50）	7.00（1.50，14.50）	0.194
BMI	25.64（23.44，27.00）	27.02（23.38，28.65）	0.377
WHR	0.90（0.84，0.95）	0.91（0.82，0.99）	0.973

表 21.A 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	CC	CT/TT	P 值
FPG	5.04±0.59	4.85±0.58	0.318
HbA1c%	5.90（5.60，6.10）	6.00（5.25，6.35）	0.750
TG	1.29（1.05，1.93）	1.22（0.95，1.66）	0.490
HDL	1.37（1.04，1.66）	1.27（1.14，1.58）	0.946
LDL	2.70±0.87	2.57±0.71	0.634
Ca	2.27±0.09	2.29±0.10	0.586
P	1.14±0.14	1.10±0.17	0.328
ALP	72.00（57.25，91.00）	72.00（59.00，82.50）	0.874
BMD(L1-4)	0.90±1.63	0.28±2.45	0.157

BMD(股骨颈)	0.29±1.25	-0.12±1.45	0.133
----------	-----------	------------	-------

表 22.B 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间基线资料比较

指标	CC	CT/TT	P 值
年龄	64.00 (54.50, 71.25)	71.00 (52.00, 74.00)	0.353
绝经年限	15.33±16.00	16.55±22.00	0.733
BMI	24.83±4.07	24.04±7.62	0.515
WHR	0.89 (0.84, 0.93)	0.87 (0.85, 0.93)	1.000

表 23.B 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	CC	CT/TT	P 值
FPG	4.96 (4.70, 5.52)	4.88 (4.72, 5.72)	0.941
HbA1c%	5.85 (5.50, 6.43)	6.20 (5.70, 7.00)	0.282
TG	1.09 (0.77, 1.38)	1.19 (0.80, 1.47)	0.871
HDL	1.28 (1.03, 1.58)	1.37 (0.98, 1.81)	0.871
LDL	2.22±0.95	2.83±0.84	0.069
Ca	2.27±0.11	2.28±0.12	0.858
P	1.20±0.28	1.11±0.12	0.138
ALP	81.00 (64.00, 99.25)	77.00 (61.00, 81.00)	0.211
BMD(L1-4)	-1.64±1.04	-0.95±1.01	0.062
BMD(股骨颈)	-1.54±1.08	-1.58±0.53	0.896

表 24.C 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间基线资料比较

指标	CC	CT/TT	P 值
年龄	55.00 (48.00, 61.00)	55.00 (53.00, 68.00)	0.165
绝经年限	5.50 (1.00, 16.25)	9.00 (1.00, 18.00)	1.000
BMI	25.86±4.41	24.21±2.78	0.250
WHR	0.94 (0.89, 0.96)	0.91 (0.87, 0.91)	0.232

表 25.C 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	CC	CT/TT	P 值
FPG	9.13±2.27	9.06±3.20	0.937
HbA1c%	8.20±1.62	9.04±2.86	0.371
TG	1.38 (0.98, 1.91)	1.32 (1.04, 3.46)	0.905
HDL	1.44 (1.19, 2.55)	1.68 (1.10, 3.55)	0.751
LDL	2.33±1.02	2.21±0.94	0.738
Ca	2.28±0.12	2.34±0.20	0.199
P	1.18 (1.08, 1.24)	1.20 (1.05, 1.25)	0.509

ALP	65.74±15.22	70.82±20.29	0.381
BMD(L1-4)	0.56±1.22	1.26±2.09	0.306
BMD(股骨颈)	0.44±0.91	0.13±1.26	0.371

表 26.D 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间基线资料比较

指标	CC	CT/TT	P 值
年龄	73.00 (68.00, 77.00)	65.00 (50.00, 74.00)	0.004
绝经年限	24.00 (20.00, 29.50)	13.00 (5.00, 24.00)	0.002
BMI	25.36 (23.37, 28.62)	24.09 (21.10, 27.27)	0.370
WHR	0.91 (0.87, 0.96)	0.89 (0.83, 0.93)	0.309

表 27.D 组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	CC	CT/TT	P 值
FPG	8.13 (7.03, 10.50)	7.40 (6.57, 8.43)	0.078
HbA1c%	7.80 (7.10, 9.95)	7.50 (6.51, 8.50)	0.352
TG	1.69 (1.20, 2.08)	1.04 (0.83, 1.75)	0.031
HDL	1.37 (1.14, 1.90)	1.29 (1.05, 1.50)	0.222
LDL	2.41 (1.23, 4.03)	2.37 (1.51, 2.90)	0.441
Ca	2.32 (2.19, 2.42)	2.24 (2.13, 2.39)	0.381
P	1.06±0.14	1.10±0.15	0.292
ALP	79.53±17.79	71.37±19.09	0.121
BMD(L1-4)	-1.25 (-1.88, -0.63)	-1.10 (-1.40, 0.20)	0.238
BMD(股骨颈)	-1.20 (-2.08-1.03)	-1.30 (-2.10, -1.10)	0.797

## 5.2 PTH 基因 rs10500784 位点突变基因与野生基因型间生化指标及 BMD 比较

在本研究人群中, 由于突变基因型 (AC、CC) 的数量较少, 故将二者合并 (AC/CC) 与野生基因型 (AA) 进行比较。在 A 组中, AC/CC 基因型 (突变型) 血 Ca 水平低于 AA 基因型 (野生型) {2.22 (2.18, 2.28) vs 2.30 (2.24, 2.34),  $P < 0.05$ }。B 组、C 组及 D 组不同基因型组间基线资料、生化指标及 BMD 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。(见表 28、29、30、31、32、33、34 及 35)

表 28.A 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间基线资料比较

指标	AA	AC/CC	P 值
年龄	58.24±8.96	59.30±10.82	0.748
绝经年限	12.00 (2.00, 17.00)	12.50 (1.00, 18.50)	0.907
BMI	26.16 (23.51, 27.68)	24.11 (23.37, 27.15)	0.307
WHR	0.91 (0.84, 0.96)	0.88 (0.85, 0.98)	0.862

表 29.A 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	AA	AC/CC	P 值
----	----	-------	-----

FPG	5.15 (4.46, 5.49)	4.73 (4.39, 5.68)	0.963
HbA1c%	5.90 (5.60, 6.13)	5.90 (5.66, 6.73)	0.709
TG	1.30 (1.06, 1.95)	1.29 (1.01, 2.35)	0.889
HDL	1.34 (1.04, 1.56)	1.49 (1.25, 1.68)	0.150
LDL	2.74±0.84	2.24±0.58	0.084
Ca	2.30 (2.24, 2.34)	2.22 (2.18, 2.28)	0.042
P	1.10 (0.06, 1.24)	1.18 (1.04, 1.27)	0.693
ALP	91.95±104.94	65.10±13.16	0.427
BMD(L1-4)	0.70 (-0.20, 1.40)	1.10 (-0.90, 2.68)	0.585
BMD(股骨颈)	0.14±0.74	0.38±1.28	0.582

表 30.B 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间基线资料比较

指标	AA	AC/CC	P 值
年龄	64.00 (51.50, 71.00)	71.00 (56.00, 73.00)	0.559
绝经年限	16.50 (6.00, 21.00)	21.00 (4.00, 25.50)	0.305
BMI	24.96±3.38	23.38±3.39	0.223
WHR	0.89 (0.85, 0.93)	0.86 (0.84, 0.91)	0.230

表 31.B 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	AA	AC/CC	P 值
FPG	4.96 (4.76, 5.67)	4.78 (4.31, 5.63)	0.386
HbA1c%	5.95 (5.50, 6.60)	6.10 (5.75, 7.45)	0.360
TG	1.07 (0.74, 1.45)	1.26 (1.07, 1.37)	0.386
HDL	1.19 (0.99, 1.56)	1.44 (1.22, 1.72)	0.257
LDL	2.21±0.85	2.85±1.18	0.079
Ca	2.27±0.11	2.30±0.11	0.440
P	1.19±0.26	1.10±0.15	0.337
ALP	80.00(64.75, 93.25)	79.00(67.50, 98.50)	0.850
BMD(L1-4)	-1.53±1.08	-1.04±0.96	0.231
BMD(股骨颈)	-1.55 (-2.15, -1.30)	-1.60 (-2.05, -0.70)	0.937

表 32.C 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间基线资料比较

指标	AA	AC/CC	P 值
年龄	54.00 (50.00, 61.00)	58.50 (46.00, 68.25)	0.957
绝经年限	4.50 (1.00, 16.75)	12.50 (1.00, 17.50)	0.608
BMI	24.02 (22.28, 28.37)	26.21 (24.66, 31.56)	0.143
WHR	0.91 (0.86, 0.95)	0.95 (0.90, 0.98)	0.067

表 33.C 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	AA	AC/CC	P 值
FPG	8.81 (7.62, 10.14)	8.82 (6.50, 10.49)	0.689
HbA1c%	8.50 (7.23, 9.30)	8.90 (6.29, 9.33)	0.979
TG	1.45 (1.05, 3.29)	1.34 (0.81, 1.53)	0.215
HDL	1.52 (1.21, 2.27)	1.53 (1.03, 3.27)	0.989
LDL	2.04 (1.61, 3.27)	1.72 (1.21, 2.94)	0.252
Ca	2.30 (2.19, 2.36)	2.30 (2.20, 2.37)	1.000
P	1.20 (1.10, 1.25)	1.11 (0.99, 1.22)	0.122
ALP	68.33±17.27	62.40±12.50	0.317
BMD(L1-4)	0.95±1.46	0.15±1.43	0.133
BMD(股骨颈)	0.42±0.99	0.20±1.03	0.546

表 34.D 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间基线资料比较

指标	AA	AC/CC	P 值
年龄	72.00 (66.00, 75.75)	71.00 (58.00, 75.50)	0.561
绝经年限	22.50 (15.00, 26.75)	20.00 (8.00, 25.50)	0.352
BMI	25.40±3.82	24.75±1.97	0.623
WHR	0.90 (0.84, 0.94)	0.89 (0.85, 0.93)	0.685

表 35.D 组 PTH 基因 rs10500784 位点基因型间生化指标及 BMD 比较

指标	AA	AC/CC	P 值
FPG	7.91 (6.94, 9.63)	6.91 (6.57, 11.50)	0.801
HbA1c%	7.80 (7.10, 9.10)	7.20 (6.65, 8.50)	0.283
TG	1.40 (0.99, 1.90)	1.81 (1.04, 2.03)	0.562
HDL	1.31 (1.14, 1.66)	1.85 (1.04, 2.77)	0.484
LDL	2.62±1.23	1.95±0.97	0.126
Ca	2.29 (2.19, 2.41)	2.24 (2.10, 2.40)	0.437
P	1.08±0.14	1.11±0.19	0.633
ALP	79.71±18.69	74.67±14.92	0.759
BMD(L1-4)	-1.20 (-1.68, -0.05)	-1.20 (-1.50, -0.85)	0.844
BMD(股骨颈)	-1.40 (-2.10, -1.10)	-1.10 (-1.25, -1.00)	0.059

## 6.多元线性回归分析

以年龄 (X1)、绝经年限 (X2)、BMI (X3)、WHR (X4)、糖尿病病程 (X5)、HbA1c% (X6)、FPG (X7)、ALP (X8)、Ca (X9)、P (X10)、HDL (X11)、TG (X12)、LDL (X13)、PTH 基因型 (X14)、PTH 蛋白表达浓度 (X15) 为自变量, 并分别以 BMD(L1-4)、BMD (股骨颈) 为因变量进行多元线性回归分析。

以 PTH 基因 rs10500783 位点为自变量时, BMD (L1-4) 的影响因素为 ALP、绝经

年限及 PTH 蛋白浓度, 随着 ALP 水平以及绝经年限增加, BMD (L1-4) 降低; 随着 PTH 蛋白浓度降低, BMD (L1-4) 降低。BMD (股骨颈) 影响因素为血 P、绝经年限及 PTH 基因 rs10500783 位点, 随着血 P 水平降低, BMD (股骨颈) 降低; 随着绝经年限增加, BMD (股骨颈) 降低; PTH 基因 rs10500783 位点多态性是 BMD (股骨颈) 降低的危险因素。BMD (L1-4) 回归方程:  $Y = -0.008 (X2) - 0.002 (X8) + 0.000 (X15) + 1.216$ ,  $R^2 = 0.397$ ; BMD (股骨颈) 回归方程:  $Y = -0.006 (X2) + 0.261 (X10) - 0.112 (X14) + 1.170$ ,  $R^2 = 0.372$ 。

以 PTH 基因 rs10500784 位点为自变量时, BMD (L1-4) 的影响因素为 ALP、LDL、绝经年限及 PTH 蛋白浓度, 随着 ALP 水平以及绝经年限增加, BMD (L1-4) 降低; 随着 LDL 水平及 PTH 蛋白浓度降低, BMD (L1-4) 降低。随着血清 P 水平的下降, BMD (股骨颈) 降低。BMD (L1-4) 回归方程:  $Y = -0.008 (X2) - 0.002 (X8) + 0.040 (X13) + 0.000 (X15) + 1.104$ ,  $R^2 = 0.391$ ; BMD (股骨颈) 回归方程:  $Y = 0.284 (X10) + 0.873$ ,  $R^2 = 0.356$ 。(见表 36)

表 36. BMD 的多元线性回归分析

位点	BMD	自变量	回归系数	t 值	P 值
rs10500783	BMD(L1-4)	绝经年限	-0.008	-3.423	0.001
		ALP	-0.002	-2.298	0.025
		PTH 蛋白浓度	0.000	2.422	0.018
	BMD(股骨颈)	绝经年限	-0.006	-2.477	0.016
		血 P	0.261	2.501	0.015
		rs10500783	-0.112	-2.308	0.024
rs10500784	BMD(L1-4)	绝经年限	-0.008	-3.422	0.001
		ALP	-0.002	-2.108	0.039
		LDL	0.040	2.198	0.031
		PTH 蛋白浓度	0.000	2.374	0.020
	BMD(股骨颈)	血 P	0.284	2.777	0.007

## 讨 论

### (Discussion)

随着经济快速发展,人口老龄化不断加剧,OP的高发病率、高致残率给人们带来沉重的经济负担<sup>[9-11]</sup>。OP是T2DM常见慢性并发症之一,但发病机制不明确。近年来,以基因为靶点治疗T2DM合并OP的发生,该研究方向成为关注的焦点。

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是调控生物生长发育的关键通路<sup>[16]</sup>,PTH发挥促进骨形成的作用,可通过激活经典的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,促进 $\beta$ -catenin与转录因子结合,调控Wnt靶基因表达<sup>[40]</sup>。PTH基因还可以通过抑制成骨细胞凋亡,增加成骨细胞数量<sup>[32]</sup>。PTH基因位于11号染色体,PTH蛋白作为一种钙调激素,在调节钙磷代谢、维持机体钙稳态方面起关键作用。国外研究发现<sup>[39]</sup>,在以沙特人为研究对象,分析PTH基因rs10500783位点多态性与维生素D的关系,等位基因T与维生素D水平显著相关。除此之外,DM患者PTH基因多态性(BSTBI位点)是预测骨量减少和OP的易感基因<sup>[38]</sup>。进一步说明PTH基因多态性参与骨重塑和调节钙稳态,是OP的重要候选基因之一。Wnt信号通路可通过促进胰岛 $\beta$ 细胞增殖和胰岛素分泌,调节糖代谢<sup>[25]</sup>。PTH作为一种促进骨合成代谢的药物,已批准用于绝经后女性OP的预防和治疗。一项研究表明<sup>[35]</sup>,PTH可通过上调ucOC的表达,使血糖下降、胰岛素抵抗改善,绝经后女性间歇性服用PTH1-84治疗后,可以使血清中ucOC水平升高。以上表明,PTH在调节骨代谢、糖代谢中起重要作用,那么PTH蛋白表达及基因多态性在T2DM合并OP中扮演什么角色呢?因此,本研究纳入新疆石河子绝经后女性为研究对象,探讨PTH蛋白表达及基因多态性与骨代谢和BMD的关系,进一步分析T2DM合并OP的发病机制,为预防绝经后T2DM患者OP的发生和发展提供参考依据。

#### 1. PTH蛋白表达水平及与骨代谢、糖代谢和脂代谢的关系

国内外未见关于PTH蛋白表达在绝经后T2DM女性OP中诊断价值的研究,而本研究在针对绝经后女性的研究中发现,组间PTH蛋白表达浓度比较,与糖耐量正常和骨量正常的人群相比,骨量异常的人群及骨量异常合并T2DM人群的PTH蛋白浓度降低。同时,通过绘制ROC曲线,评估PTH蛋白表达在绝经后T2DM女性中OP的诊断价值,结果显示,PTH蛋白表达水平诊断OP的最佳临界点为0.271,其对应的PTH浓度为50.85 pg/ml,此时AUC最大且为64%,敏感度为34.1%,但是特异度为93%,说明PTH蛋白在诊断绝经后T2DM女性OP中准确性较高。此外,PTH基因rs10500783位点多态性与骨量改变有关,可能通过调控PTH mRNA的转录和PTH蛋白的翻译,从而使PTH蛋白表达水平降低,参与OP的发生和发展。

李颖等<sup>[41]</sup>针对绝经后糖尿病女性BMD与PTH四项指标关系的研究中发现,糖尿病患者骨形成减弱且PTH水平较对照组明显降低,低PTH水平可能是评估骨量异常的候选指标。动物实验进一步证实<sup>[42]</sup>,间歇性注射PTH可以促进前体成骨细胞分化为成熟的成骨细胞。与上述研究一致,本研究通过比较组间PTH蛋白表达水平显示,与糖耐

量正常伴骨量正常组相比,糖耐量正常伴骨量异常组 PTH 蛋白浓度减低;在本研究中,PTH 蛋白与 BMD(腰椎和股骨颈)呈正相关;且多元线性回归分析显示,随着 PTH 蛋白表达浓度降低 BMD(L1-4)也降低,说明 PTH 蛋白水平降低与 BMD 降低有关,可能参与 OP 的发生和发展。但有研究发现<sup>[43-44]</sup>,PTH 蛋白浓度与 BMD(全髌关节、股骨颈和 L2-4)存在显著负相关性,研究结果不一致,可能与本研究所纳入的人群是绝经后女性有关。上述分析说明了 PTH 蛋白是绝经后女性 BMD 的影响因素。

在本研究中,与糖耐量正常伴骨量正常组相比,糖耐量异常伴骨量异常组 PTH 蛋白浓度明显降低,提示在 OP 合并 T2DM 患者中,出现 PTH 异常且 BMD 降低的可能性更高。与糖耐量正常伴骨量正常组相比,糖耐量异常伴骨量正常组 PTH 蛋白浓度降低,虽然差异无统计学意义,但可以说明 PTH 蛋白浓度降低可能与 T2DM 患者血糖异常及胰岛素抵抗有关。在一项针对糖尿病小鼠的实验发现,间歇性脉冲式应用 PTH,发现糖尿病小鼠胫骨的 BMD 增加、血糖下降及胰岛素抵抗明显改善<sup>[42]</sup>。Spearman 相关分析未发现 PTH 蛋白表达与糖代谢和脂代谢指标存在相关性,可能与 T2DM 引起的机体对 PTH 反应能力下降有关。糖尿病是一种受遗传-环境共同作用的疾病,且实验结果易受到是否服用降糖药物的影响。因此,关于 PTH 蛋白与糖代谢和脂代谢的关系,仍需进一步深入研究。

## 2. PTH 基因多态性与骨代谢、糖代谢及脂代谢的关系分析

### 2.1 PTH 基因两个位点的基因型及等位基因频率分布

选取 PTH 基因功能区域的两个位点:rs10500783、rs10500784 进行分析,rs10500783 位点的三种基因型为 CC、TT 和 CT,rs10500784 位点的三种基因型为 AA、CC 和 AC。选择对照组 A 组进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检测,PTH 基因 rs10500783 位点和 rs10500784 位点基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ( $P>0.05$ ),提示本研究所纳入的人群具有代表性。

rs10500783 位于 11 号染色体 PTH 基因,有三种基因型,其中 CC、TT 和 CT 基因型分布频率分别为 72.1%、12.6%和 15.3%,高等位基因分布频率为 79.7%,低等位基因分布频率为 20.3%。Al-Daghri 等人<sup>[39]</sup>的研究,PTH 基因 rs10500783 位点,高等位基因频率为 85.5%,低等位基因频率为 14.5%,研究结果不一致可能的原因是,纳入人群的地域差异有关。研究表明<sup>[45]</sup>,在白种人和黄种人中,PTH 基因作为骨质疏松的候选基因,其基因型和等位基因频率分布存在明显差异。

rs10500784 位于 11 号染色体 PTH 基因,有三种基因型,其中 AA、CC 及 AC 基因型分布频率分别为 80.2%、0.5%和 19.3%,高等位基因分布频率为 89.8%,低等位基因分布频率为 10.2%。Al-Daghri 等人<sup>[39]</sup>的研究,PTH 基因 rs10500784 位点上,高等位基因频率 89.2%,低等位基因频率为 10.8%,与本研究结果相似。

### 2.2 PTH 基因多态性与骨代谢及骨密度的关系

PTH 是调节钙磷代谢的重要激素之一,李星等<sup>[46]</sup>研发现钙摄入量高且携带 BB 基因型的人群,骨量增长明显,提示 BB 基因型可能是骨量的保护因素。目前,许多研究表

明, PTH 基因突变与骨质疏松性骨折和 BMD 密切相关, 且 PTH 全基因组关联研究<sup>[47]</sup>, 表明维生素 D、钙和磷代谢相关基因的遗传变异与 PTH 浓度有关。因此, PTH 基因被认为是骨质疏松相关的候选基因, 成为人们研究的热点。

BMD 测量值是诊断骨质疏松的金标准, 可预测骨折风险<sup>[48-49]</sup>。国内外关于 PTH 基因多态性与 BMD 关系已有报道, 在日本一项研究中, 发现与 BB 基因型相比, Bb 基因型腰椎 BMD 降低, 携带 b 基因的患者出现骨质疏松的可能性更高, PTH 基因多态性与 BMD 有关, 与 Lin 等<sup>[51]</sup>研究一致。此外, 程洁等<sup>[38]</sup>人的研究发现, PTH 基因联合维生素 D 受体基因多态性是预测骨量减少的候选基因。但杨浩等<sup>[52]</sup>选择 210 例上海绝经后女性为研究对象, 不同 PTH 基因型之间 BMD 无明显差异, PTH 基因多态性与 BMD 不相关。前期研究发现<sup>[53-55]</sup>, SOST、OPG、RANK、RANKL、LRP5/6 等基因多态性与 OP 的发生有关, OP 是一种多基因遗传性疾病, 受遗传和环境共同作用的影响。出现上述研究结果不一致, 可能与纳入人群的饮食习惯、种族及样本量大小有关。

本研究选择了功能区域的研究较少的 PTH 基因 rs10500783 和 rs10500784 两个位点, Tenne 等<sup>[56]</sup>研究纳入 1044 名瑞典老年女性, 分析了 PTH rs10500783、rs10500784 基因变异及基因多态性与老年女性骨量和骨折发生率之间的关系, PTH 基因变异与骨量无关, 但与骨折发生率增加有关。但王其飞<sup>[37]</sup>等以北京地区 127 例骨质疏松性骨折患者为研究对象, 发现 PTH 基因多态性与北京地区汉族人群骨质疏松性骨折患者 BMD 不相关。与上述研究不一致, 可能的原因是 PTH 基因对骨量的作用也受到种族、地域、生活环境和生活方式的影响。在本研究中, 与对照组相比, 骨量异常组 PTH rs10500783 位点基因多态性差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 说明该位点基因多态性可能与新疆绝经后 T2DM 女性骨量改变有关。经 Spearman 相关分析显示, PTH 蛋白表达水平与 BMD (L1-4) 和 BMD (股骨颈) 呈正相关, 且通过绘制 ROC 曲线显示, PTH 蛋白在诊断绝经后骨质疏松中有较好的特异性和敏感度。多元线性回归分析, PTH 基因 rs10500783 位点多态性是 BMD 降低的危险因素。因此, PTH 基因 rs10500783 位点多态性与 BMD 降低有关, 可能通过下调 PTH 蛋白表达引起骨代谢异常, 参与新疆石河子绝经后女性骨质疏松的发生和发展。在 PTH 基因两个位点上, 尚未发现野生/突变基因型间 BMD 存在差异, 提示 PTH 基因突变与骨量变化无关。有研究表明<sup>[57]</sup>, PTH 基因突变影响非负重骨骼(手或手臂)的大小, 但与髋关节或脊柱的骨量改变无关, 与本研究一致。

在本研究中, T2DM 伴骨量异常与骨质疏松组相比差异有统计学意义, 提示 PTH 基因多态性与糖代谢有关。然而, 与对照组相比, 未发现 T2DM 伴骨量异常组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型频率分布存在差异, 可能与 T2DM 引起的 PTH 反应迟钝有关。糖尿病合并骨质疏松症是一种遗传-环境共同作用的疾病, T2DM 是否会引起 BMD 降低, 国内外研究不一致, 且糖尿病合并骨质疏松症发病机制复杂, 那么 PTH 基因在该合并症的发生中扮演什么角色还需进一步深入研究。

除了用 BMD 评估骨量变化外, 骨转化标记物也有一定价值<sup>[58-59]</sup>。钟妮等<sup>[60]</sup>对长沙正常女性人群的研究中, 发现 BB 和 Bb 基因型间 OPG、CTX 等骨代谢指标差异无统计

学意义, PTH 基因多态性与骨代谢不相关。与上述研究一致, 杨浩等<sup>[52]</sup>研究也发现, 不同 PTH 基因型之间的骨代谢指标如血清骨碱性磷酸酶 (BALP) 及抗酒石酸酸性磷酸酶-5b (TRACP-5b) 差异无统计学意义。在一项前瞻性研究<sup>[56]</sup>中, 分析发现 PTH 基因 rs10500783 位点、rs10500784 位点基因型间血清维生素 D 和钙的水平无统计学差异, 且在调整了 BMI、绝经年限等混杂因素的影响后, 仍不具有统计学差异。本研究中, 在糖耐量正常伴骨量正常组 PTH 基因 rs10500784 位点, 与 AA 基因型(野生型)相比, AC/CC 基因型(突变型)血钙水平低于 AA 基因型(野生型), 而在其他组中未发现突变型/野生型基因型间骨代谢指标钙、磷和 ALP 差异有统计学意义。

有研究表明<sup>[61]</sup>, PTH 在调节 1,25 (OH)<sub>2</sub>D (维生素 D 的活性形式) 的水平中起着至关重要的作用, 并进一步阐明了 PTH 基因多态性与骨骼生长发育有关。Al-Daghri 等人<sup>[39]</sup>的研究报道, PTH rs10500783 和 rs10500784 突变基因与血清钙水平降低有关, 与本研究结果一致, 提示 PTH 基因突变可能通过调节 Ca、P 等骨代谢指标参与 OP 的发生。

### 2.3 PTH 基因多态性与其他指标的关系

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活可以促进成骨细胞增殖<sup>[62-63]</sup>, PTH 作为一种钙调激素, 可通过激活经典的 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 促进骨形成<sup>[64]</sup>。PTH 既是钙稳态的重要调节因子, 又与胰岛素抵抗和肥胖的发生呈正相关<sup>[65-67]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路被抑制, 造成骨作用减弱, 成脂作用增强。研究发现, 多个编码 $\beta$ -catenin 的基因与体质指数和脂肪堆积有关<sup>[68]</sup>。此外, 在国外研究中仅发现一篇关于 PTH 基因 rs10500783 和 rs10500784 位点的报道, 比较不同基因型间体质指数以及脂代谢指标的变化。该研究表明<sup>[39]</sup>, 在 PTH 基因 rs10500784 位点上, CC 基因型(突变型)的 TG 水平明显低于 AC/AA 基因型(野生型)差异有统计学意义, 而在 PTH 基因 rs10500783 位点上, TT 基因型(突变型)的体质指数及 LDL-C 明显低于 CT/CC 基因型(野生型)差异有统计学意义。在本研究中, 与对照组相比, T2DM 伴骨量正常组 PTH 基因 rs10500783 位点基因型频率分布差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 且 T2DM 伴骨量异常与骨质疏松组相比基因型分布频率存在差异, 提示 PTH 基因 rs10500783 位点多态性可能与新疆绝经后女性 T2DM 患者血糖及血脂改变有关。基因型间生化指标比较, T2DM 伴骨量异常组 PTH 基因 rs10500783 位点 CC 基因型(突变型)TG 水平高于 CT/TT 基因型(野生型), 与上述研究一致, 但不排除年龄和绝经年限的影响。上述研究结果表明, 在绝经后 T2DM 女性中, PTH 基因 rs10500783 位点基因多态性及基因突变与血糖有关且在脂代谢中发挥一定作用。这两个位点均位于 PTH 基因的功能区域, 其脂代谢指标的变化可能通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路产生影响。本研究未发现 PTH 基因 rs10500784 位点多态性与 TG、HbA1c 及 FPG 存在关系。因此, 需扩大样本量进一步研究 PTH 基因多态性及基因突变与糖代谢的相关关系, 为绝经后 T2DM 合并骨质疏松的防治提供参考依据。

### 3. BMD 影响因素分析

OP 是一种常见病多发病, 其高致残率给社会带来沉重的经济负担<sup>[69]</sup>, 研究证实<sup>[70-71]</sup>, 绝经后 T2DM 女性更易并发 OP, 可能与体内雌激素变化有关。因此, 从基因水平上,

进一步研究其发病机制，为 T2DM 合并 OP 的发生提供依据。目前尚不能确定 T2DM 可以导致 BMD 的降低。但越来越多的研究表明，T2DM 可导致骨脆性的增加<sup>[72-73]</sup>，也可以促进 T2DM 合并 OP 的发生<sup>[74-75]</sup>。T2DM 并发 OP 其发病机制是多因素的，常受遗传和环境因素的影响。

多元线性回归分析显示，PTH 基因 rs10500783 位点的基因多态性是 BMD（股骨颈）降低的危险因素影响因素，说明 PTH 基因 rs10500783 位点的基因多态性与骨量降低有关。相关文献报道，PTH 基因 rs10500783 位点突变与骨折发生率增加呈正相关，提示 PTH 基因在骨代谢和维持骨稳态中发挥重要的作用。

国内外关于脂质代谢与 BMD 相互关系的研究结果不尽相同。本研究发现 LDL-C 的降低是 BMD 降低的危险因素，提示 LDL-C 越低，患 OP 的风险越高。Saarelainen 等<sup>[76]</sup>研究发现，体重和脂肪量增加可以减少 OP 和骨折的发生，脂肪和肌肉对骨骼起支撑作用，与本研究结果一致。研究发现<sup>[77-78]</sup>，骨髓中脂肪的堆积可导致骨质丢失，从而使骨质变得更加脆弱，促使 OP 的发生。已知脂肪堆积可导致腹型肥胖，腹型肥胖肥胖的患者常出现胰岛素抵抗，可抑制成骨细胞分化而促进破骨细胞增殖，造成骨稳态被打破，从而导致 BMD 降低，脂肪堆积是 BMD 降低的负性调节因子。Maghbooli 等<sup>[79]</sup>发现，绝经后妇女血清高密度脂蛋白水平是骨量降低负向影响因子。血脂异常导致 BMD 下降可能与以下因素有关<sup>[81-82]</sup>：（1）促进骨髓基质细胞向脂肪细胞分化，导致成骨细胞数量减少。（2）促使血管内皮受损、骨髓微循环障碍，引起骨量减少。（3）骨血管内皮细胞中脂质的过氧化修饰作用抑制成骨细胞活性。（4）可能与胆固醇生物合成途径有关。但研究发现<sup>[80]</sup>，在绝经后妇女中，血清胆固醇水平与骨量改变无关。与本研究结果截然不同，可能是由于血脂水平受饮食、药物等影响，因此，关于脂代谢指标对 BMD 的影响需进一步研究。

此外，本研究发现 ALP 增高为 BMD（L1-4、股骨颈）降低的危险因素，已有研究证实 ALP 与 BMD 呈负相关<sup>[83-87]</sup>，与本研究结果一致。成骨细胞可以分泌 ALP，且作为成骨细胞活性标记物，绝经后女性骨形成及骨吸收处于活跃状态，ALP 浓度增加<sup>[88]</sup>。同时，动物试验研究发现，在骨质疏松模型大鼠中，血清 ALP 水平增加，进一步证实 ALP 增高是 BMD 降低的危险因素。

综上所述，PTH 基因 rs10500783、rs10500784 位点的基因多态性通过下调 PTH 蛋白表达引起骨代谢异常，参与新疆石河子绝经后 T2DM 合并 OP 的发生和发展，血清 PTH 蛋白在绝经后 T2DM 女性中，对 OP 的诊断价值具有较好的灵敏度和特异度。在今后的研究中，进行多中心、大样本研究，并从基因联合的角度出发，进一步探讨基因-基因及基因-环境交互作用对 BMD 的影响，为新疆石河子地区绝经后女性 T2DM 合并 OP 的发生机制的揭示寻找新的证据。

## 结 论

### (Conclusions)

1. 在石河子绝经后 T2DM 女性中，PTH 基因多态性通过下调 PTH 蛋白表达引起骨代谢异常，从而参与该人群 OP 的发生和发展；
2. 当血清 PTH 蛋白浓度小于 50.85pg/ml 时，在该人群 OP 中具有较好的诊断价值；
3. PTH 基因多态性与糖代谢有关，且基因突变参与该人群脂代谢紊乱的发生。

## 参考文献

### (References)

- [1] BANERJEE M, VATS P, KUSHWAH A S, et al. Interaction of antioxidant gene variants and susceptibility to type 2 diabetes mellitus[J]. *Br J Biomed Sci*, 2019, 76(4):166-1171.
- [2] Huang Y, Karuranga S, Malanda B, et al. Call for data contribution to the IDF Diabetes Atlas 9th Edition 2019[J]. *Diabetes Research & Clinical Practice*, 2018, 140(06):351-352.
- [3] WANG P, ABDIN E, SHAFIE S, CHONG S A, VAINGANKAR J A, SUBRAMANIAM M. Estimation of prevalence of osteoporosis using OSTA and its correlation with sociodemographic factors, disability and comorbidities[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(13): 2338.
- [4] NAPOLI N, CHANDRAN M, PIERROZ D D, ABRAHAMSEN B, SCHWARTZ A V, FERRARI S L; IOF Bone and Diabetes Working Group. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(4): 208-219.
- [5] NAPOLI N, SCHWARTZ A V, BLACK D M; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. Reply to indications of increased vertebral fracture risk in patients with type 2 diabetes[J]. *J Bone Miner Res*, 2018, 33(01): 183.
- [6] 李瑞霄,薄德峰,曹文功,等.糖尿病合并骨质疏松的防治分析[J].*临床合理用药杂志*, 2014, 7(10): 169.
- [7] MANOLAGAS S C. Birth and death of bone cells:basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis[J]. *EndocrRev*, 2000, 21(2): 115-137.
- [8] 易伟莲,廖德权,林柏云,等.绝经后骨质疏松症患者性激素,细胞因子及骨代谢指标的变化及关系[J].*检验医学*, 2012, 027(004):296-298.
- [9] Keene GS, Parker MJ, Pryor GA. Mortality and morbidity after hip fractures. [J].*BMJ*, 1993, 6914(307):1248-1250.
- [10] Osnes EK, Lofthus CM, Meyer HE, et al. Consequences of hip fracture on activities of daily life and residential needs[J]. *Osteoporos Int*, 2004, 15(7): 567-574.
- [11] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010-2050[J]. *Osteoporosis International*, 2015, 26(7):1929-1937.
- [12] US Food and Drug Administration. Drug approval package: Forteo [teriparatide (rDNA origin)] injection (FDA, 2002).
- [13] Neer R M, Arnaud C D, Zanchetta J R, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis.[J]. *New England Journal of Medicine*, 2001, 344(19):1434-41.
- [14] Greenspan S L, Bone H G, Ettinger M P, et al. Effect of Recombinant Human Parathyroid Hormone (1-84) on Vertebral Fracture and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women with Osteoporosis: A Randomized Trial[J]. *Annals of internal medicine*, 2007, 146(5):326-339.
- [15] 张方雪,禹宝庆.成骨药物对骨质疏松疾病促成骨代谢治疗的研究进展[J].*临床医学进*

- 展,2020,10(1):6.
- [16] STEINHART Z, ANGERS S.Wnt signaling in development and tissue homeostasis[J]. *Development*, 2018,145(11):146-589.
- [17] Andreas Wodarz,Nusse Roel.MECHANISMS OF WNT SIGNALING IN DEVELOPMENT[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 14(1): 59-88.
- [18] Megan-M Weivoda, Ruan Ming,Hachfeld Christine-M,et al.Wnt Signaling Inhibits Osteoclast Differentiation by Activating Canonical and Noncanonical c AMP/PKA Pathways[J]. *Journal of Bone & Mineral Research*,2016, 31(1): 65-75.
- [19]肖启程,严光文,田一男,等.Wnt 信号配体种类及其在骨代谢中的作用 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018,11 (6): 613-619.
- [20]汤军. 杜仲醇提取物诱导大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化中 Wnt 信号通路研究[D].南京中医药大学,2013.
- [21]陈靖,贺无恙,陈庆伟.Wnt 信号通路与骨质疏松的关系研究进展[J]. *现代医药卫生*,2017,33(8):1172-1174.
- [22] Nusse R, Clevers H. Wnt/ -Catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. *Cell*,2017,169(6):985-999.
- [23]Ayaka Imamura a b, Hiroshi Kajiya a c, Seiichi Fujisaki a d,等. Three-dimensional spheroids of mesenchymal stem/stromal cells promote osteogenesis by activating stemness and Wnt/ $\beta$ -catenin - ScienceDirect[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 523(2):458-464.
- [24] Slawomir R, Ilona K, Malgorzata L S. Activation of Wnt/beta-catenin pathway during osteogenic differentiation of adipose derived stem cells in monolayer cultures and 3D spheroids[J]. *Frontiers in Bioengineering & Biotechnology*, 2016, 4.
- [25]I-C Rulifson,S-K Karnik,P-W Heiser,et al.Wnt signaling regulates pancreatic beta cell proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(15): 6247-6252.
- [26] Chun-Yan W, Mei L I. The influencing factors on serum parathyroid hormone (PTH) in primary osteoporosis[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research*, 2010.
- [27] Polyzos S A, Makras P, Efstathiadou Z, et al. Investigational parathyroid hormone receptor analogs for the treatment of osteoporosis[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2015, 24(2):145-57.
- [28] Thompson WR, Uzer G, Brobst KE, et al. Osteocyte specific responses to soluble and mechanical stimuli in a stem cell derived culture model[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(09): 11049.
- [29] Keller H,Kneissel M.SOST is a target gene for PTH in bone[J].*Bone*,2005,37(2):148-158.
- [30]杨念恩. 不同方式运动对生长期小鼠骨合成代谢和 Wnt 信号通路的影响[D].华东师范大学,2014.
- [31] Bellido T, Ali AA, Plotkin LI, et al. Proteasomal degradation of Runx2 shortens parathyroid hormone-induced antiapoptotic signaling in osteoblasts. A putative explanation for why intermittent administration is needed for bone anabolism[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50):50259-50272.
- [32] Nagase Y, Iwasawa M, Akiyama T, et al. Antiapoptotic molecule Bcl-2 is essential for the anabolic

- activity of parathyroid hormone in bone[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010(03), 1192:330-337.
- [33] Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, et al. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(13): 5266-5270.
- [34] Schafer AL, Sellmeyer DE, Schwartz AV, et al. Change in undercarboxylated osteocalcin is associated with changes in body weight, fat mass, and adiponectin: parathyroid hormone (1-84) or alendronate therapy in postmenopausal women with osteoporosis (the PaTH study) [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(12): E1982-1989.
- [35] Cheung PS, Thompson NW, Brothers TE, et al. Effect of hyperparathyroidism on the control of diabetes mellitus[J]. *Surgery*, 1986, 100(6): 1039-1047.
- [36] Zhou X G, Liu Y Z, Li M X, et al. Parathyroid hormone gene with bone phenotypes in Chinese[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2003, 307(3):666-671.
- [37]王其飞, 薛涛, 张清华,等. PTH 基因多态性与骨质疏松性骨折的相关性研究[J]. *实用骨科杂志*, 2017, 23(003):240-243.
- [38]程洁, 翟木绪, 姜宏卫, 柳林, 董砚虎. 甲状旁腺素和维生素 D 受体基因多态对糖尿病患者骨密度的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2010, 01(16):9-12.
- [39] Al-Daghri N M, Al-Attas O S, Krishnaswamy S, et al. Association between promoter region genetic variants of PTH SNPs and serum 25(OH)-vitamin D level[J]. *International journal of clinical and experimental pathology*, 2015, 8(7):8463-8471.
- [40] Cheng Z, Ye T, Ling Q, et al. Parathyroid hormone promotes osteoblastic differentiation of endothelial cells via the extracellular signal regulated protein kinase 1/2 and nuclear factor $\kappa$ B signaling pathways[J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2018, 15(02):1754-1760.
- [41]李颖, 张秀珍, 宣淼,等. 绝经后 2 型糖尿病妇女骨密度与 PTH 四项指标的临床分析[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2014, 35(06):98-102.
- [42] Motyl K J, Mccauley L K, McCabe L R. Amelioration of type I diabetes-induced osteoporosis by parathyroid hormone is associated with improved osteoblast survival[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2012, 227(04):1326-34.
- [43] Al-Daghri N M, Sobhy Y, Eman A S, et al. Inflammatory and bone turnover markers in relation to PTH and vitamin D status among saudi postmenopausal women with and without osteoporosis[J]. *International journal of clinical and experimental medicine*, 2018, 7(10):3528-35.
- [44]许海琦, 杨历新, 朱沁芳,等. 2 型糖尿病患者血清 PTH、25-羟维生素 D 水平变化及与骨密度关系研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018(8):840-843.
- [45] Dvornyk V, Liu X, Shen H, et al. Differentiation of Caucasians and Chinese at Bone Mass Candidate Genes: Implication for Ethnic Difference of Bone Mass[J]. *Annals of Human Genetics*, 2012, 67(3):216-227.
- [46]李星, 何国鹏, 苏宜香. 甲状旁腺激素基因多态性与钙摄入量对青春期女童骨量增长的交互作用[J].

- 营养学报,2007(06):556-560.
- [47] Robinson-Cohen C, Lutsey P L, Kleber M E, et al. Genetic Variants Associated with Circulating Parathyroid Hormone[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2016, 28(5):1553-1565.
- [48] Orimo H. [Osteoporosis: progress in its diagnosis and treatment]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2005 Apr 10;94(4):607-8.
- [49] Davis S R, Kirby C, Weekes A, et al. Simplifying screening for osteoporosis in Australian primary care: The Prospective Screening for Osteoporosis; Australian Primary Care Evaluation of Clinical Tests (PROSPECT) study. [J]. *Menopause-the Journal of the North American Menopause Society*, 2011, 18(1):53-9.
- [50] Hosoi T, Miyao M, Inoue S, Hoshino S, Shiraki M, Orimo H, Ouchi Y. Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. 1999 Mar;64(3):205-8.
- [51] Lin G T, Tseng H F, Chang C K, et al. SNP combinations in chromosome-wide genes are associated with bone mineral density in Taiwanese women[J]. *Chinese Journal of Physiology*, 2008, 51(1):32-41.
- [52] 杨浩, 张秀珍. 绝经后妇女 PTH DraII 多态性与骨代谢相关性分析[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2012, 33(004):83-85.
- [53] 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性 SOST 蛋白表达在骨质疏松中诊断价值的研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2021, 01:31-35.
- [54] 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 石艳秋, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性低密度脂蛋白相关蛋白 5 基因 rs901825 和 rs7125942 位点多态性及突变与骨代谢的关系[J]. *实用医学杂志*, 2020, 13(36):1765-1769.
- [55] 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 石艳秋, 李佳佳, 高群. 低密度脂蛋白相关蛋白 5 基因 rs682429 和 rs3781590 位点多态性及突变与绝经后女性骨代谢关系的研究[J]. *中国实用内科杂志*, 2020, 12(40):1020-1023+1027.
- [56] Tenne M, Mcguigan F, Jansson L, et al. Genetic variation in the PTH pathway and bone phenotypes in elderly women: evaluation of PTH, PTHLH, PTHR1 and PTHR2 genes[J]. *Bone*, 2008, 42(4):719-727.
- [57] Lei SF, Zhang YY, Deng FY, Liu MY, Liu XH, Zhou XG, Deng HW. Bone mineral density and five prominent candidate genes in Chinese men: associations, interaction effects and their implications. *Maturitas*. 2005 Jun 16;51(2):199-206.
- [58] 岩本, 潤. Use of bone resorption and formation markers in osteoporosis: Association between bone mass increase and estrangement of bone formation and resorption marker changes in osteoporosis treatment[J]. *医学のあゆみ*, 2013, 09(21), 246:1017-1025.
- [59] Janaka, Lenora, Kaisa, et al. Use of Bone Turnover Markers in Osteoporosis[J]. *Clinical Reviews in Bone & Mineral Metabolism*, 2010, 8(01):1-1.
- [60] 钟妮, 张红, 伍贤平, 罗湘杭, 谢辉, 曹行之, 单鹏飞, 刘红, 皮银珍, 方团育, 廖二元. 甲状旁腺激素基因多态性与女性骨量及骨相关生化指标的关系[J]. *中华医学杂志*, 2006(06):376-379.

- [61] Scillitani A, Jang C, Wong Y L, et al. A functional polymorphism in the PTHR1 promoter region is associated with adult height and BMD measured at the femoral neck in a large cohort of young caucasian women[J]. *Human Genetics*, 2006, 119(4):416-21.
- [62] Ross S E, Hemati N, Longo K A, et al. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling [J]. *Science*, 2000, 289(5481): 950-953.
- [63] Bennett C N, Ross S E, Longo K A, et al. Regulation of Wnt Signaling during Adipogenesis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(34): 30998-31004.
- [64] 田野. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路介导甲状旁腺素促进成骨细胞分化的实验研究[D].中国医科大学, 2012.
- [65] Reis J P, D Von Muhlen, Miller E R. Relation of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels with metabolic syndrome among US adults. [J]. *European Journal of Endocrinology*, 2008, 159(1):41-48.
- [66] Reis J P, Muhlen D V, Kritz-Silverstein D, et al. Vitamin D, parathyroid hormone levels, and the prevalence of metabolic syndrome in community-dwelling older adults.[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(6):1549-1555.
- [67] Ha J, Jo K, Lim DJ, Lee JM, Chang SA, Kang MI, Cha BY, Kim MH. Parathyroid hormone and vitamin D are associated with the risk of metabolic obesity in a middle-aged and older Korean population with preserved renal function: A cross-sectional study. *PLoS One*. 2017 Apr 6;12(4):e0175132.
- [68] Yong-Jun L, Xiao-Gang L, Liang W, et al. Genome-wide association scans identified CTNBL1 as a novel gene for obesity [J]. *Human Molecular Genetics*, 2008, 17(12): 1803-1813.
- [69] MOHD-TAHIR N A, LI S C. Economic burden of osteoporosis-related hip fracture in Asia: a systematic review[J]. *Osteoporosis Int*, 2017, 28(7):2035-2044.
- [70] RASKAI J R, RASKOVA M, ZIKAN V, et al. Prevalence and risk factors of osteoporosis in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus[J]. *Cent Eur J Public Health*, 2017, 25(1): 3-10.
- [71] BONACCORSI G, MESSINA C, CERVELLATI C, et al. Fracture risk assessment in postmenopausal women with diabetes: comparison between DeFRA and FRAX tools[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 34(5):404-408.
- [72] YAMAMOTO M, YAMAUCHI M, SUGIMOTO T. Prevalent vertebral fracture is dominantly associated with spinal micro-structural deterioration rather than bone mineral density in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *PLoS One*, 2019, 14(9):e0222571.
- [73] PARLE E, TIO S, BEHRE A, et al. Bone mineral is more heterogeneously distributed in the femoral heads of osteoporotic and diabetic patients: A pilot study[J]. *JBMR Plus*, 2019, 4(2): e10253.
- [74] HUNT H B, TORRES A M, PALOMINO P M, et al. Altered tissue composition, microarchitecture, and mechanical performance in cancellous bone from men with Type 2 diabetes mellitus[J]. *J Bone*

- Miner Res, 2019, 34(7):1191-1206
- [75] LEKKALA S, TAYLOR E A, HUNT H B, et al. Effects of diabetes on bone material properties[J]. Curr Osteoporos Rep, 2019, 17(6):455-464.
- [76] Saarelainen J, Kiviniemi V, Kroger H, et al. Body mass index and bone loss among postmenopausal women: the 10- year follow - up of the OSTPRE cohort [J]. J bone miner metab, 2012, 30(2): 208-216.
- [77] Feng R N, Zhao C, Wang C, et al. BMI is strongly associated with hypertension, and waist circumference is strongly associated with type 2 diabetes and dyslipidemia, in northern Chinese adults [J]. Journal of Epidemiology, 2012, 22(4): 317-323.
- [78] 易波,文重远,孙永林等.脂肪分布对不同年龄正常人群骨密度的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(7): 610-613.
- [79] MAGHBOOLI Z, KHORRAMI-NEZHAD L, ADABI E, RAMEZANI M, ASADOLLAHPOUR E, RAZI F, et al. Negative correlation of high-density of lipoprotein- cholesterol and bone mineral density in postmenopausal Iranian women with vitamin D deficiency[J]. Menopause, 2018, 25(04): 458-464.
- [80]张红,谭小红,罗湘杭,胡平安.低密度脂蛋白胆固醇对绝经前、后正常女性骨密度影响初探[J]. 实用预防医学, 2007,14(04):1021-1023.
- [81]高飞,杨静,师天燕,李伟.绝经女性血脂与腰椎骨密度关系的研究[J].中南医学科学杂志, 2012,40(05):480-483.
- [82] 张振强,王丛笑,贾亚泉,宋军营,刘学芳,吕欢欢,等.高脂血症对模型大鼠血管内皮细胞及血管调节因子的影响[J].河南大学学报(医学版),2013,32(02):51-53.
- [83]付晓宁.绝经后妇女骨密度与骨代谢生化指标的相关研究及临床意义[D].桂林医学院,2019.
- [84]R-K Marwaha,N Tandon,P Kaur, et al.Establishment of age-specified bone mineral density reference range for Indian females using dual-energy X-ray absorptiometry[J]. J Clin Densitom, 2012, 15(2): 241-249.
- [85]K Mukaiyama,M Kamimura,S Uchiyama, et al. Elevation of serum alkaline phosphatase(ALP) level in postmenopausal women is caused by high bone turnover[J]. Aging Clin Exp Res, 2015, 27(4): 413-418.
- [86]B Pineda,C Hermenegildo,P Laporta,et al.Common polymorphisms rather than rare genetic variants of the Runx2 gene are associated with femoral neck BMD in Spanish women[J]. J Bone Miner Metab, 2010, 28(6): 696-705.
- [87]R-M Hussein.Biochemical relationships between bone turnover markers and blood glucose in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Metab Syndr, 2017, 11(01) :S369-S372.
- [88]于志锋,顾淑珠,高建军,等.去势大鼠血清 ALP 动态及骨髓细胞骨形成相关基因表达研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2004, (02): 35-37.

## 文献综述

(Review)

### 甲状旁腺激素、维生素 D、钙和性激素对骨代谢的影响

**摘要:** 随着经济快速发展,老龄化不断加剧,骨质疏松性骨折的发病率仍有进一步升高的趋势,成为一个重大的社会公共卫生问题。骨骼健康是一个受多种激素和矿物质影响的复杂问题。研究证实,骨化三醇(维生素 D)、甲状旁腺素和性激素与骨骼健康密切相关,成为人们研究的热点。维生素 D 主要从一下两个方面获得,1、从日常生活中获得,例如服用含有钙离子较多的食物,比如牛奶、羊奶、奶酪、黄豆、豆腐等食物中获得,2、也可以从阳光下获得,皮肤中的 7-脱氢胆固醇在紫外线的作用下生产维生素 D 的活性形式即骨化三醇,并通过作用于骨骼、肠道和肾脏,用来调控机体内需要钙离子的各种生理反应。同时,甲状旁腺激素(PTH)通过作用于骨化三醇,使血钙升高。性激素在骨骼重塑中发挥重要作用,卵巢功能的低下和雌激素水平下降也是老年妇女骨质流失的标志。治疗骨质疏松症时,常用的药物如双磷酸盐、RANKL 抑制剂、雌激素和雌激素类似物、雌激素受体调节剂、甲状旁腺激素受体激动剂以及钙和维生素 D。因此,本文将对甲状旁腺激素、维生素 D、钙和性激素与骨骼健康和衰老的关系进行探讨。

**关键字:** 甲状旁腺激素; 维生素 D; 钙; 性激素; 骨骼

#### 骨骼

骨骼强度与遗传和承受压力变化有关,为了保持骨骼强壮,必须对骨骼施加恒定的机械压力。骨骼主要是由矿物质和蛋白质组成,这两种物质对骨骼的特性至关重要。矿物质本身会导致骨骼变脆,而蛋白质本身会导致骨骼变软和弹性增加。矿物质、钙和磷以羟基磷灰石晶体的形式沉积在由骨细胞产生的骨胶原基质中<sup>[1]</sup>。

人体的骨骼细胞更新速度是比较慢的,一般十年左右会更新一次,具体过程就是破骨细胞将陈旧老化的骨细胞溶解吞噬掉,形成骨陷窝,然后成骨细胞进行更新修复,形成新的骨细胞填充骨陷窝,这样就可以形成骨骼的生长以及骨骼的重塑。通过运动和健身等,是可以促进骨骼代谢,加速骨骼生长的,一般人到中年之后,骨骼的代谢速度会下降,特别是成骨细胞,它的活性会降低,这样就会引起骨骼生长缓慢,骨流失加速,容易导致骨质疏松。骨细胞主要分为两种形式,1、破骨细胞,其主要作用为促进骨的吸收,2、成骨细胞,其主要作用促进骨组织的生长。骨重塑在人类的整个生命中都是非常活跃的,可以修复骨骼中发生的骨折和裂痕<sup>[1]</sup>,包括骨形成和骨吸收<sup>[2]</sup>。

人体骨骼由两部分组成:骨小梁和骨皮质。随着年龄的增长,男性和女性骨质流失的病理生理略有不同。在老年妇女中,骨重塑过程的增加,呈现负平衡状态(即骨吸收大于骨形成),从而导致骨质流失和骨微结构的破坏。在老年男性中,衰老引起骨形成减少,并导致骨周转率降低<sup>[3-6]</sup>。

骨化三醇、甲状旁腺激素(PTH)、降钙素、性激素(雌激素和睾酮)、生长激素、甲状

腺激素、皮质醇和胰岛素是影响骨骼健康的常见激素,尤其骨化三醇、甲状旁腺激素(PTH)和性激素在维持骨稳态中发挥着尤为关键的作用,因此,本篇文章重点讨论上述激素与骨骼生长发育的关系。

### 维生素 D 的代谢

维生素 D 称为一种可以治疗“狗病”(限制在室内的狗会出现此种疾病)的微量物质,可通过喂鳕鱼肝油来治愈<sup>[7]</sup>。因此,维生素 D 最初是在鱼肝油中发现的<sup>[8]</sup>,而如今,维生素 D 通常是指化学物质胆钙化醇(D3)和麦角钙化醇(D2)。D3 是由胆固醇形成的 7-脱氢胆固醇的甾体核在 B 环上受到阳光紫外线的作用而分解的甾类固醇,主要 D3 是通过日光的作用直接形成的,也可以由前维生素 D3 间接形成。

在人体中,维生素 D 通过多晒太阳获得,也可以从饮食中摄取富含维生素 D 的食物(例如肥鱼)获得。为了激活维生素 D,需要在肝脏及肾脏中最终形成 1,25 二羟基 D<sub>3</sub>。1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可以激活钙的释放,在肾脏中,CYP24 羟化酶可将 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 转换为非活性代谢产物 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,从而减少了 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的产生。因此,可以调控活性维生素 D 的产生和排泄,以保持其平衡<sup>[9]</sup>。血清骨化三醇水平的调节有两种机制,骨化三醇含量的增高可以通过激活 CYP24A1 的产生,促进骨化三醇转化为排泄产物。相反,骨化三醇含量的降低可以通过刺激 PTH 的分泌,促进骨化三醇的产生,也可抑制排泄产物的产生。可能导致老年人饮食中维生素 D 缺乏的直接因素有以下几点:(a)日晒时间少导致维生素 D3 水平降低;(b)由于乳糖酶缺乏,导致维生素 D 的吸收不当<sup>[10]</sup>。

### 甲状旁腺激素和钙代谢

甲状旁腺分泌甲状旁腺激素 PTH,是一种肽类激素,最初分泌为 115 个氨基酸长的前原 PTH。前原 PTH 被切割两次以形成 84 个氨基酸长的 PTH。当血清中钙或骨化三醇含量低时,可以促进 PTH 的分泌。PTH 可以作用于肾脏,肠和骨骼,以增加血清中钙的水平。在肾脏中,既有钙受体也有 PTH 受体,因此,PTH 对钙代谢有直接影响。在 PTH 作用下,可以促进肾小球重新吸收钙,导致血清钙水平的增加。在骨骼中,PTH 具有分解代谢和合成代谢作用。对骨骼的影响可分为早期影响,导致骨骼中的钙从骨骼中释放出来,促进钙的重吸收和骨骼重塑。PTH 可以促进成骨细胞的分化,导致成骨作用增强,也可以通过骨化三醇的作用间接促进骨骼中钙的吸收<sup>[11]</sup>。

### 性激素和骨代谢

机体内雌激素和雄激素在生理水平的变化,对骨骼系统的生长发育也起着重要的作用。既往多项研究数据提示,雌激素可以抑制骨形成,而雄激素可以刺激骨形成,从而导致男性骨密度高于女性。最近,研究发现,雄激素可以转化为雌激素,且骨细胞表面既有雌激素受体和雄激素受体<sup>[12]</sup>。最重要的雄激素是睾酮和 5 $\alpha$ -双氢睾酮(DHT)<sup>[13]</sup>。男性中的大部分睾酮(T)是由睾丸分泌的。T5 直接作用于雄激素受体(AR)或间接通过 AR 转化为 DHT $\alpha$ 还原酶<sup>[13]</sup>。T 由 P450 芳香化酶雌二醇(E2)与雌激素受体 $\alpha$ 和 $\beta$ (ER $\alpha$ 和 ER $\beta$ )转化而来。肾上腺雄激素可以通过芳香化酶转化为雌酮(E1)或转化为 T<sup>[14]</sup>。男性的睾丸只产生约 20%的 E2;其余的来自周围组织中的雄激素。ER 的活性可以通过

T 的产生、雄激素的产生和 E2 的产生来调控。在男性和女性中，雌激素和雄激素的产生途径相似。在女性中，卵巢会产生雄激素并将其转化为雌激素。绝经前女性，卵巢中约分泌 95% 的 E2。在老年男性中，T 水平略有下降，而 E2 水平正常。而激素的生物利用度主要取决于性激素结合球蛋白 (SHBG)，在男性中，大约 50% 至 60% 的 T 与 SHBG 结合 (无生物利用度)，T 与 SHBG 结合的数量增加，生物利用度降低。由于 SHBG 与 E2 的结合减少，因此，在老年妇女中，雌激素的生物利用度与 SHBG 关系不大<sup>[12]</sup>。

ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 和 AR 存在于骨细胞、成骨细胞和破骨细胞中<sup>[15]</sup>。激素的结合和信号传导可以通过细胞质中的受体刺激基因组 DNA 的活化，也可以通过膜受体直接进行活化<sup>[12]</sup>。在男性和女性中，骨骼的发育都与性类固醇的产生以及骨骼中性类固醇受体的表达密切相关。虽然在青春期，男性和女性的骨骼都会增大，但男性的骨骼生长程度要高于女性<sup>[16]</sup>。性类固醇在骨骼重塑中发挥重要作用，如在性腺功能减退的男性患者中发现，雄性激素的减低可以延迟骨骼的发育<sup>[17]</sup>。同样，在绝经后妇女中，雌激素水平下降可能导致骨矿物质密度降低和骨质疏松症。雌激素如何影响骨骼重塑？雌激素发挥的促进骨形成的作用，主要是通过调控骨髓基质细胞等细胞生长因子的生成<sup>[18]</sup>。

### 钙代谢

在体内发现的各种矿物质中，钙是一种大部分存在于骨骼和牙齿的含量较高的矿物质，人体大约含有 1.2kg<sup>[19]</sup>。钙矿物质在体内起着两个主要作用：维持骨骼结构完整性和调节骨代谢功能<sup>[20]</sup>。

通过饮食摄入的钙的吸收主要发生在空肠中和结肠中，钙吸收的形式可以是主动的或被动的。当钙浓度降低时，必须进行主动转运，但是当钙浓度增加时，就会发生被动扩散。骨化三醇通过产生钙结合蛋白来刺激肠道细胞中钙的主动转运<sup>[21]</sup>。骨化三醇的活性对于维持钙的吸收和骨骼的完整性至关重要，当钙吸收较低时，可以导致继发性甲状旁腺功能亢进；且当由于肠道疾病导致钙吸收不良时，会出现骨质的丢失，进一步导致骨质疏松的发生和发展。随着年龄的增长，钙吸收下降，是导致骨质疏松症的发病率呈不断增长趋势的原因之一<sup>[22]</sup>。

骨化三醇 (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) 通过 VDR 起作用<sup>[23]</sup>，VDR 的减少或缺失导致钙吸收不良。VDR 中的配体结合结构域与骨化三醇结合并引起 VDR 的二聚化或 VDR 与类维生素 A 受体结合，导致 DNA 中维生素 D 反应元件的激活。通过作用于肠道上皮细胞、肾上皮细胞及骨细胞，增加血清钙水平<sup>[24]</sup>。

### 甲状旁腺激素

研究证实<sup>[25]</sup>，随着年龄增长，甲状旁腺激素 (PTH) 水平增高。当血液中的钙的水平降低时，会刺激 PTH 的产生，钙化三醇和血钙水平的持续降低是继发性甲亢的原因之一。一项研究发现，血清钙水平随着年龄的增长而逐渐下降，刺激 PTH 水平增加。在老年人中，可以出现继发性甲旁亢，表现为 PTH 水平的增加。但是，与男性相比，女性血清 PTH 水平差异无统计学意义。

### 更年期对骨质流失的影响

衰老对骨小梁和皮质骨丢失的影响已得到广泛研究,女性更年期会导致雌激素生成减少,其特征是皮质骨丢失,小梁骨丢失进一步加速。在男性中,皮质骨丢失仅在 70 岁以后才加速,比女性晚了大约二十年<sup>[26]</sup>。骨形成和骨吸收通常是发生在骨骼中的离散病灶,称为骨基本多细胞单位(BMU)。当雌激素水平降低时,BMU 的数量增加且骨吸收增强,可能与破骨细胞寿命延长有关<sup>[27]</sup>。另外,雌激素水平的增加,促使成骨细胞分化。因此,雌激素水平降低可以抑制骨形成<sup>[28]</sup>。

绝经后女性,骨质流失加速。可能由于卵巢功能丧失而引起的,通常可以通过雌激素替代来预防骨质流失<sup>[29]</sup>。绝经后女性血清中的 E1 和 E2 水平均下降,在绝经后的 2 年至 4 年过渡期间,血清 E2 降至绝经前水平的 10%至 15%。卵巢功能丧失后,血清 E1 水平下降 25%至 35%<sup>[30]</sup>,血清睾丸激素轻度降低<sup>[31]</sup>。绝经后女性由于雌激素水平的改变,骨吸收大于骨形成,造成骨质流失<sup>[32]</sup>,骨质流失会导致骨骼中钙的流失。

动物实验发现,卵巢切除小鼠(OVX 小鼠)与绝经期女性的皮质骨和小梁骨丢失量是类似的<sup>[33]</sup>。同时,在缺乏 T 细胞的 OVX 小鼠中,未发现骨量丢失,阐明了 T 细胞在 OVX 小鼠骨丢失中的作用。通过注射抗 T 细胞抗体,以及使用缺乏 CD40 配体的小鼠<sup>[34-35]</sup>耗尽 T 细胞时,再次证实上述实验结果。CD4+和 CD8+细胞均与 OVX 小鼠的骨质丢失有关。但也有研究表明,研究表明,雌激素刺激可以通过刺激 T 细胞的形成,促进骨形成抑制骨吸收<sup>[36]</sup>。

### 骨质疏松症的治疗

治疗 OP 的药物按其作用机理不同分为:抗吸收药和合成代谢药<sup>[37]</sup>。抗吸收药物发挥作用的细胞主要是破骨细胞,生理作用为减少骨重塑,抗吸收药可以增加 BMD。双膦酸盐是抗骨质疏松症最常见一类药物,其代表药物主要有唑来膦酸、利塞膦酸盐、阿仑膦酸盐及伊班膦酸盐,是一种抗吸收药,可降低骨折的风险<sup>[37]</sup>。顾名思义,双膦酸酯含有两个磷酸酯基团,与焦磷酸酯相似,可进入破骨细胞并破坏骨吸收过程<sup>[38]</sup>。

其他治疗 OP 的药物包括 RANK 受体抑制剂、雌激素和雌激素类似物及其受体调节剂。地若单抗是 RANK 受体抑制剂的单克隆抗体,可导致骨重构可逆性降低<sup>[39]</sup>。通常需要长时间服用,停药后会再次出现骨质疏松的症状。绝经后的女性由于体内激素水平的变化,易出现骨量改变,导致骨质疏松的发生。因此,有时会使用雌二醇、雌激素和雌激素类似物进行治疗。据报道,雌孕激素疗法可降低绝经后妇女骨质疏松性骨折的发生<sup>[40-41]</sup>。雷洛昔芬和巴多昔芬具有弱抗吸收作用,是一种新型治疗 OP 的雌激素受体调节剂。雷洛昔芬对椎骨骨折有作用,但对非椎骨和髌部骨折没有作用<sup>[42]</sup>。目前用于治疗 OP 常见的 PTH 受体激动剂是特立帕肽,它是一种合成代谢药物。特立帕肽含有具有生物活性的 PTH 的活性 N 末端 34 个氨基酸,可以激活成骨细胞并促进骨骼生长<sup>[43]</sup>。阿巴洛肽也是一种 PTH 相关蛋白类似物,已被批准用于治疗绝经后骨质疏松症<sup>[44]</sup>。

### 小结

有研究提出了一种金字塔形的方法来治疗包括 OP 在内的骨骼疾病,金字塔的底部有足够量的钙和维生素 D 摄入,并应定期运动。金字塔的中间,即治疗引起 OP 的继发

原因，如雌二醇缺乏。药物治疗则位于金字塔的顶部<sup>[45-46]</sup>。因此，建议 OP 高危人群，尤其是老年人群，补充足量的维生素 D 和钙，预防 OP 的发生。

## 参考文献

- [1] US Department of Health and Human Services, Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General, Vol. 437, US Department of Health and Human Services, Washington, DC, USA, 2004.
- [2] Boulton, Worsely, ©1965, Nature Publishing Group, 1965.
- [3] Parfitt A M, Mathews C H, Villanueva A R, et al. Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1983, 72(4):1396-1409.
- [4] J. E. Compston, R. W. E. Mellish, and N. J. Garrahan. Age-related changes in iliac crest trabecular microanatomic bone structure in man [J]. *Bone*, 1987, 5(8):289-292.
- [5] RMD Zebaze, Ghasem-Zadeh A, Bohte A, et al. Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. [J]. *Lancet*, 2010, 375(9727):1729-1736.
- [6] S. M. Cortical or trabecular bone: what's the difference? [J]. *American Journal of Nephrology*, 2018, 6(47):373-375.
- [7] Mellanby E. AN EXPERIMENTAL INVESTIGATION ON RICKETS [J]. *Nutrition Reviews*, 2010, 34(11):338-340.
- [8] P. Lips. Vitamin D and bone health in the older patient [J]. *Bone Abstracts*, 2014, 3(3)1014-1031.
- [9] Lips P. Vitamin D physiology. [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2006, 92(1):4-8.
- [10] S. F. Boettger, B. Angersbach, C. N. Klimek et al. Prevalence and predictors of vitamin D-deficiency in frail older hospitalized patients [J]. *BMC Geriatrics*, 2018, 01(18):1-6.
- [11] R. Mihai and J. R. Farndon. Parathyroid disease and calcium metabolism. British [J]. *Journal of Anaesthesia*, 2000, 01(85):29-43.
- [12] K. Venken, F. Callewaert, S. Boonen, and D. Vanderschueren. Sex hormones, their receptors and bone health [J]. *Osteoporosis International*, 2008, 11(19):1517-1525.
- [13] J. D. Wilson. The role of 5 $\alpha$ -reduction in steroid hormone physiology [J]. *Reproduction, Fertility and Development*, 2001, 08(13):673-678.
- [14] Simpson E R, Clyne C, Rubin G, et al. Aromatase--a brief overview [J]. *Annual Review of Physiology*, 2002, 64(1):93-127.
- [15] D. Vanderschueren, L. Vandenput, S. Boonen, M. K. Lindberg, R. Bouillon, and C. Ohlsson, Androgens and bone [J]. *Endocrine Reviews*, 2004, 03(25):389-425.
- [16] Seeman E. From density to structure: growing up and growing old on the surfaces of bone. [J]. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2010, 12(4):509-521.
- [17] N. Tahani, L. Nieddu, G. Prossomariti et al. Long-term effect of testosterone replacement therapy on bone in hypogonadal men with Klinefelter Syndrome [J]. *Endocrine*, 2018, 02(61):327-335.
- [18] Riggs B L, Hartmann L C. Selective estrogen-receptor modulators -- mechanisms of action and application to clinical practice. [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(7):618.

- [19] Lanham-New S A. Role of calcium and vitamin D in the prevention (and treatment) of osteoporotic fracture[J]. *Surgery*, 2009, 27(2):47-54.
- [20] M. Marino, R. Masella, P. Bulzomi, I. Campesi, W. Malorni, and F. Franconi. Nutrition and human health from a sex- gender perspective[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2011,01(32):1–70.
- [21] Bronner F. Mechanisms of intestinal calcium absorption[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2003, 88(2):387-93.
- [22] J. R. Bullamore, R. Wilkinson, J. C. Gallagher, B. E. C. Nordin, and D. H. Marshall. Effect of age on calcium absorption[J]. *The Lancet*, 1970,7672(296):535–537.
- [23] Pike J W. Vitamin D3 receptors: structure and function in transcription. [J]. *Annual Review of Nutrition*, 1991, 11(11):189.
- [24] Pike J W, Meyer M B. The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D 3[J]. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 2010, 39(2):255-269.
- [25] Chapuy M C, Durr F, Chapuy P. Age-related Changes in Parathyroid Hormone and 25 Hydroxycholecalciferol Levels[J]. *Journal of Gerontology*, 1983, 38(1):19.
- [26] B. L. Riggs, L. J. Melton, R. A. Robb et al. A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2008,02(23):205–214.
- [27] Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, et al. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts. [J]. *Cell*, 2007, 130(5):811.
- [28] Tobias J H, Compston J E. Does estrogen stimulate osteoblast function in postmenopausal women? [J]. *Bone*, 1999, 24(2):121.
- [29] R. Lindsay, J. M. Aitken, L. B. Anderson, D. M. Hart, E. B. Macdonald, and A. C. Clarke. Long-term prevention of postmenopausal osteoporosis by oestrogen[J]. *The Lancet*, 1976,7968(307):1038–1041.
- [30] S. Khosla, L. J. Melton, E. J. Atkinson, W. M. O’Fallon, G. G. Klee, and B. L. Riggs. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen[J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1998,07(83):2266–2274.
- [31] Horton R, Romanoff E, Walker J. Androstenedione and Testosterone in Ovarian Venous and Peripheral Plasma During Ovariectomy for Breast Cancer[J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1966, 26(11):1267-1269.
- [32] Garnero P, Sornay-Rendu E, Marie X laire Chapuy, et al. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis[J]. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2010, 11(3):337-349.
- [33] Cenci S, Weitzmann M N, Roggia C , et al. Estrogen deficiency induces bone loss by enhancing T-cell production of TNF- $\alpha$ [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2000, 106(10):1229-1237.

- [34] E. M. Ruderman and R. M. Pope. The evolving clinical profile of abatacept (CTLA4-Ig): a novel co-stimulatory modulator for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2005,02(7): S21–S25.
- [35] Li J Y, Tawfeek H, Bedi B, et al. Ovariectomy disregulates osteoblast and osteoclast formation through the T-cell receptor CD40 ligand[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(2):768-773.
- [36] Luo C, Wang L, Sun C, et al. Estrogen enhances the functions of CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) regulatory T cells that suppress osteoclast differentiation and bone resorption in vitro. [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2011, 8(1):50–58.
- [37] J. E. Compston, M. R. McClung, and W. D. Leslie. Osteoporosis. [J]. *The Lancet*, 2019,10169(393):364–376.
- [38] Coxon F P, Thompson K, Roelofs A J, et al. Visualizing mineral binding and uptake of bisphosphonate by osteoclasts and non-resorbing cells. [J]. *Bone*, 2008, 42(5):848-860.
- [39] Rachner T D, Khosla S, Hofbauer L C. Osteoporosis: now and the future. [J]. *Lancet*, 2011, 377(9773):1276-1287.
- [40] Cauley J A, Robbins J, Zhao C, et al. Effects of Estrogen Plus Progestin on Risk of Fracture and Bone Mineral Density: The Women's Health Initiative Randomized Trial[J]. *Journal of the American Medical Association*, 2003, 290(13):1729-1738.
- [41] H. N. Hodis, W. J. Mack, V. W. Henderson et al. Vascular effects of early versus late postmenopausal treatment with estradiol[J]. *New England Journal of Medicine*, 2016,13(374):1221–1231.
- [42] Ettinger B. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: Results from a 3-year randomized clinical trial (vol 282, pg 637, 1999) [J]. *JAMA The Journal of the American Medical Association*, 1999, 282(22):2124-2124.
- [43] U. S. Nori, A. K. Agarwal, and B. H. Rovin. Teriparatide or alendronate in glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2008,12(358):1303.
- [44] S. H. Tella, A. Kommalapati, and R. Correa. Profile of abaloparatide and its potential in the treatment of post- menopausal osteoporosis[J]. *Cureus*, 2017,05(09):5.
- [45] Sunyecz J. The use of calcium and vitamin D in the management of osteoporosis[J]. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2008, 4(4): 827–836.
- [46] Zhao J G, Zeng X T, Wang M J, et al. Association Between Calcium or Vitamin D Supplementation and Fracture Incidence in Community-Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. *JAMA The Journal of the American Medical Association*, 2017, 318(24):2466-2482.

## 致 谢

### (Acknowledgements)

在石河子大学医学院的三年研究生生活转瞬即逝，在此毕业之际，我谨向所有关心、爱护、帮助我的老师和同学们表示最诚挚的感谢与最美好的祝愿。

首先，感谢我的导师李军教授。古人云：“师者，传道授业解惑也”，又曰“授之以鱼，不如授之以渔”。三年来，在我的生活中，她给予了我无私地关怀和帮助；在我的学习中，不仅授我以“鱼”，更授我以“渔”，以渊博的专业知识、严谨的学术态度、严格的科研精神、诲人不倦的高尚师德深深地教诲着我，为我指引前进的方向。在此我向我的导师李军教授表示最诚挚的感谢和最崇高的敬意！感谢无私帮助我的其他各位老师、朋友和同学的关心与帮助。感谢石河子大学医学院第一附属医院的孙侃教授、常向云主任等各位老师，以及石河子大学医学院李思源老师、张君老师、芮东升老师等所提出的宝贵意见使我的学习水平得以提升；感谢石河子大学医学院第一附属医院内分泌代谢科全体医护人员在临床中给予我的帮助和支持，这些我将终身铭记。感谢在课题实验和生活中给予我无私帮助的师姐、师妹、同门邵晗、冀雪姣、伍雅敏、安学院等，还有我的舍友曹囡、邓双、樊雅歌等，以及学术 11 班的同学们给予我的关心和无私帮助。感谢大家对我的关怀和照顾，让我的研究生生活有了色彩，也深刻地体会了医学的精髓和意义，因此倍感珍惜。

衷心感谢我的父母和家人，因为你们的爱，我才无所畏惧地勇往直前。

最后，感谢在百忙之中抽出宝贵时间对我的论文进行审阅和评议的专家们。

## 作者简介

赵会荣, 女, 生于 1991 年 3 月, 籍贯山东。毕业于济宁医学院临床医学专业。2018 年 9 月进入石河子大学医学院攻读内科学科学硕士学位。在校期间, 认真努力学习, 通过英语 6 级考试, 修满学分, 圆满完成教学及社会实践任务, 在导师的悉心指导下, 完成了综述撰写、课题设计、开题及论文的撰写。

### 研究生期间参与课题项目:

2021AB031 内分泌性高血压 MDT 规范化诊治流程在南疆的应用及推广

CGZH201911 2 型糖尿病规范化防治技术在南疆的示范应用及推广

2018BB040 基于远程互联网的代谢综合症的规范诊疗方案在南疆的示范应用

### 研究生期间发表的论文:

(1) Li J, Li S, Zhao H, et al. A Study of the Relationship between the Polymorphism and Mutation of rs682429 and rs3781590 in the LRP5 Gene and Bone Metabolism in Postmenopausal Type 2 Diabetic Women in Xinjiang[J]. J Diabetes Res. 2020; 2020:3071217.

(2) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 石艳秋, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性低密度脂蛋白相关蛋白 5 基因多态性及突变与骨代谢的关系[J]. 中国实用内科学, 2020, 12:1020-1023+1027.

(3) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 石艳秋, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性低密度脂蛋白相关蛋白 5 基因 rs901825 和 rs7125942 位点多态性及突变与骨代谢的关系[J]. 实用医学杂志, 2020, 13:1765-1769.

(4) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 石艳秋, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性患者脂质代谢与骨密度的关系[J]. 第二军医大学学报, 2020, 05:574-577.

(5) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 李佳佳, 高群. 新疆绝经后 2 型糖尿病女性 SOST 蛋白表达在骨质疏松中诊断价值的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 01:31-35.

(6) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 李佳佳, 高群. 新疆石河子地区绝经后 T2DM 女性 SOST 基因联合 LRP5 基因多态性及突变与骨代谢关系的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, (已录用).

(7) 赵会荣, 李思源, 李军, 王双, 李佳佳, 高群. SOST 蛋白联合 LRP5 蛋白表达在新疆绝经后 2 型糖尿病女性骨质疏松诊断中价值的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021 (已录用).

### 研究生期间获奖情况:


(1) 2018 年学业奖学金二等奖 石河子大学医学院

(2) 2020 年石河子大学学术成果奖一等奖 石河子大学医学院

(3) 2020 年石河子大学国家奖学金 石河子大学医学院

## 石河子大学硕士研究生论文

## 导师评阅表

研究生姓名	赵会荣	学制	3 年
专业	内科学	研究方向	内分泌与代谢性疾病
<p>学术评语:</p> <p>本研究通过观察新疆石河子绝经后女性在不同糖, 骨代谢状态下PTH蛋白的表达情况及rs10500783和rs10500784位点的基因多态性, 探讨PTH蛋白表达及基因多态性与骨代谢的关系, 为该人群2型糖尿病合并骨质疏松的防治提供依据。</p> <p>本课题立意新颖, 设计合理, 技术路线例, 数据真实, 该生平时学习积极向上对特科研一丝不苟, 科研过程是精益求精, 实验过程谨慎, 理论知识扎实, 论文撰写思路清晰, 逻辑性较强, 表达调理, 写作较为规范, 体现较为坚实的理论基础及实验能力。</p> <p>综上所述, 同意该生硕士论文提交答辩委员会进入答辩过程。</p> <p style="text-align: right;">指导教师签字: </p> <p style="text-align: right;">2021年5月23日</p>			