

达载体。感染 Jmjd3 - shRNA 慢病毒颗粒后, mBM - MSCs 中 Jmjd3 基因的表达明显降低, H3K27me3 的水平明显升高。为进一步研究 Jmjd3 基因在 mBM - MSCs 定向分化过程中的作用及调控机制奠定了基础。

参考文献

- 1 Chen S, Ma J, Wu F, *et al.* The histone H3 Lys 27 demethylase JMJD3 regulates gene expression by impacting transcriptional elongation [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(12): 1364 - 1375
- 2 Kotake Y, Cao R, Viatour P, *et al.* pRB family proteins are required for H3K27 trimethylation and Polycomb repression complexes binding to and silencing p16 INK4a tumor suppressor gene [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(1): 49 - 54
- 3 Bernstein BE, Mikkelsen TS, Xie X, *et al.* A bivalent chromatin structure marks key developmental genes in embryonic stem cells [J]. *Cell*, 2006, 125(2): 315 - 326
- 4 Agger K, Cloos PA, Christensen J, *et al.* UTX and JMJD3 are histone H3K27 demethylases involved in HOX gene regulation and devel-

- opment [J]. *Nature*, 2007, 449(7163): 731 - 734
- 5 Dropulic B. Lentiviral vectors: their molecular design, safety, and use in laboratory and preclinical research [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(6): 649 - 657
- 6 Dai JP, Lu JY, Zhang Y, *et al.* Jmjd3 activates Mash1 gene in RA - induced neuronal differentiation of P19 cells [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(6): 1457 - 1463
- 7 Yasui T, Hirose J, Tsutsumi S, *et al.* Epigenetic regulation of osteoclast differentiation: possible involvement of Jmjd3 in the histone demethylation of Nfatc1 [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(11): 2665 - 2671
- 8 Burgold T, Spreafico F, De Santa F, *et al.* The histone H3 lysine 27 - specific demethylase Jmjd3 is required for neural commitment [J]. *PLOS ONE*, 2008, 3(8): e3034
- 9 Estarás C, Akizu N, García A, *et al.* Genome - wide analysis reveals that Smad3 and JMJD3 HDM co - activate the neural developmental program [J]. *Development*, 2012, 139(15): 2681 - 2691

(收稿日期: 2013 - 04 - 06)

(修回日期: 2013 - 04 - 19)

血液透析患者血清骨钙素水平及其与血管钙化的关系

明 静 胡凤琪 秦永芳 袁 海

摘 要 **目的** 观察血液透析患者血管钙化的发生情况, 探讨血清骨钙素水平与血管钙化的关系。**方法** 采用酶联免疫吸附法测定血清骨钙素水平; X 线片检测腹主动脉、股动脉及桡动脉部位血管钙化, 计算血管钙化积分; 检测患者的一般生化指标; 对各参数的相互关系进行统计分析。**结果** 入选 30 例血液透析患者及 15 例健康对照者, X 线片显示血液透析患者中 19 例 (63.3%) 有不同程度、不同部位的血管钙化。轻度钙化 11 例 (占发生钙化人数的 57.9%), 中度钙化 5 例 (占发生钙化人数的 26.3%), 重度钙化 3 例 (占发生钙化人数的 15.8%), 正常对照组无人发生血管钙化。有血管钙化者血清骨钙素水平明显高于无血管钙化者 ($P < 0.05$); 中、重度血管钙化的血液透析患者血清骨钙素水平明显高于无钙化或轻度钙化患者 ($P < 0.05$)。多元线性回归分析显示血清骨钙素水平是血管钙化积分的独立影响因素。**结论** 血液透析患者普遍存在血管钙化, 血清骨钙素水平是血管钙化的独立影响因素。

关键词 血液透析 血管钙化 X 线片 骨钙素

Relationship between Osteocalcin and Vascular Calcification in Hemodialysis Patients. Ming Jing, Hu Fengqi, Qin Yongfang, Yuan Hai. *Division of Nephrology, Xiangyang Central Hospital, Hubei 441021, China*

Abstract Objective To observe vascular calcification and to investigate the relationship between osteocalcin level and vascular calcification in hemodialysis (HD) patients. **Methods** The levels of serum osteocalcin from 30 HD patients were measured by ELISA. The vascular calcification was detected by plain radiographs. Interrelations among above parameters were examined statistically. **Results** Vascular calcification on X - ray films presented in 19 cases (63.3%). Of these 19 cases, 11 cases were found have mild degree of calcification, 5 cases were found have moderate degree of calcification, and 3 cases were found have severe degree of calcification. Serum osteocalcin was higher in hemodialysis patients with vascular calcification than patients without vascular calcification ($P < 0.05$). Lower osteocalcin was frequently seen in patients with mild vascular calcification than moderate to severe vascular calcification ($P < 0.05$). Serum

基金项目: 湖北省卫生厅青年科技人才基金资助项目 (QJX2012 - 41)

作者单位: 441021 湖北省襄阳市中心医院肾内科

通讯作者: 袁海, 电子信箱: yhl22@hotmail.com

osteocalcin concentration was the independent factor affecting score of vascular calcification. **Conclusion** Vascular calcification is commonly present in hemodialysis patients. Serum osteocalcin level was the independent factors affecting score of vascular calcification.

Key words Hemodialysis; Vascular calcification; X-ray film; Osteocalcin

血管钙化是慢性肾脏病尤其是终末期肾脏病患者的常见病理改变之一,也是导致其发生心血管疾病(CVD)及死亡的重要原因^[1]。血管钙化是类似骨形成的调节过程,在钙化的血管中有各种与骨及矿物质代谢相关的蛋白质表达。骨钙素是一种骨形成标志物,其在调节骨矿物质代谢及血管钙化中的作用越来越受到关注,已成为临床代谢性骨病的重要检测指标。最近有研究表明,骨钙素水平在血液透析的老年患者中显著高于正常人群,但其与血液透析患者血管钙化的关系尚不明确^[2]。本研究旨在通过对血液透析患者大、中、小动脉的X线片检查观察血管钙化的发生情况及其特点,并探讨血清骨钙素水平与血管钙化之间的关系。

对象与方法

1. 研究对象:选择在笔者医院肾内科血液净化中心行规律性血液透析的患者30例,男性16例,女性14例,患者年龄 57.1 ± 10.3 岁,透析时间6个月以上,每周透析3次,每次4h。原发病为慢性肾小球肾炎者15例、糖尿病肾病者5例、高血压肾硬化者4例、多囊肾者1例、病因不明者5例。排除标准:明显感染、肝功能损害、恶性肿瘤。并选取健康对照组20例为对照组,年龄 57.5 ± 7.2 岁。参加者均签署知情同意书。

2. 研究方法:(1)一般生化指标检测:血液透析前空腹抽取静脉血,使用血细胞分析仪检测血红蛋白,全自动生化分析仪检测白蛋白、甘油三酯、总胆固醇、血钙、血磷,免疫比浊法检测C反应蛋白,放射免疫法测定甲状旁腺激素(iPTH)。(2)骨钙素水平测定:抽取5ml静脉血,2000r/min离心10min,分离血清,冻存于 -70°C 冰箱备用。ELISA法测定血清骨钙素浓度(试剂盒购自美国Invitrogen),具体操作按厂家说明书进行。(3)血管钙化检测及积分评定:使用西门子AXIOM Aristos MX X线机对患者进行侧位腹平片(空腹)、髋关节正位片、双手正位片X线片检查,评价腹主动脉、髂动脉、股动脉、桡动脉、手指动脉钙化情况。X线片血管钙化评分参照文献[3]:将骨盆X线平片用2条线分成4部分,水平线位于股骨头切面,垂直线位于脊柱位置;上腹部和下腹部以平 L_2 、 L_3 椎间隙分界;双手正位片共分为4部分,先以双手各作为一部分,再以掌骨上方做水平线进行分隔。共计10个部位,计数每个部位的钙化,有钙化计为1,无钙化计为0,最终钙化积分数值为0~10。1~3分为轻度钙化,4~6分为中度钙化, ≥ 7 分为重度钙化。由两位放射科医师盲法阅X线片及评分。

3. 统计学方法:采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。计量数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布资料两组间比较采用 t 检验。非参数检验(Spearman秩相关)分析血管

钙化积分与各指标之间的相关性。采用单因素直线相关及多元线性回归分析血管钙化与各指标之间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 血管钙化的发生情况及其特点:在参加本研究的30例血液透析患者中,共有19例(63.3%)存在血管钙化,而正常对照组中无人发生血管钙化。19例存在血管钙化的患者中,单纯腹主动脉钙化者9例(47.3%),单纯中小动脉(包括髂动脉、股动脉、桡动脉、手指动脉钙化)患者5例(26.3%),腹主动脉钙化合并中小动脉钙化者5例(26.3%)。根据钙化积分,轻度钙化11例(占发生钙化人数的57.9%),中度钙化5例(占发生钙化人数的26.3%),重度钙化3例(占发生钙化人数的15.8%)。血液透析患者无钙化组患者平均年龄为 53.5 ± 6.7 岁,轻度钙化患者平均年龄为 55.9 ± 7.1 岁,中重度血管钙化患者平均年龄为 59.2 ± 8.4 岁。

2. 血清骨钙素水平与血管钙化的关系:正常对照组血清骨钙素水平为 $11.4 \pm 1.2\text{ng/ml}$,血液透析患者无钙化组骨钙素水平为 $17.2 \pm 3.8\text{ng/ml}$,轻度钙化组为 $29.2 \pm 4.8\text{ng/ml}$,中重度钙化组为 $60.0 \pm 7.3\text{ng/ml}$ 。血液透析各组患者骨钙素水平均较正常对照组显著升高(P 均 < 0.05),中重度血管钙化者及轻度钙化者血清骨钙素水平较无钙化者均明显升高(P 均 < 0.05),中重度钙化者血清骨钙素水平显著高于轻度钙化者($P < 0.05$),详见图1。

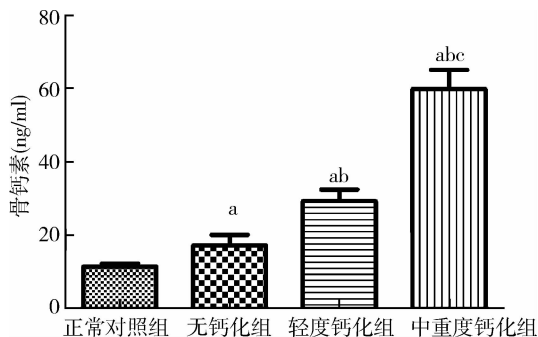


图1 血清骨钙素水平与血管钙化的关系

与正常对照组相比,^a $P < 0.05$;与无钙化组相比,^b $P < 0.05$;与轻度钙化组相比,^c $P < 0.05$

3. 骨钙素水平与血管钙化的关系:单因素线性相关分析显示血管钙化积分与年龄、iPTH水平、骨钙素

水平相关,相关系数分别为 0.345、-0.357、0.504(P 均 <0.05),而与血红蛋白、血浆白蛋白、甘油三酯、总胆固醇、血钙、血磷、C 反应蛋白、血压无关。*Spearman* 秩相关分析显示血清骨钙素水平与血管钙化积分相关($r=0.367$, $P<0.05$)。多元线性回归分析显示血骨钙素、年龄是血液透析患者血管钙化积分的独立影响因素,详见表 1。

表 1 透析患者血管钙化积分的多元线性回归分析

项目	回归系数	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄	0.343	2.556	<0.05
骨钙素	0.438	2.871	<0.01

讨 论

维持性血液透析患者 CVD 发生率较普通人群高 20~30 倍,是导致死亡的首位病因^[4]。血管钙化与 CVD 发生直接相关^[1]。正常情况下,血管钙化主要见于老年人,但其在慢性肾脏病特别是血液透析患者中相当普遍^[5]。研究进一步发现血管钙化是独立于年龄、性别、透析时间以及炎症标志物的维持性血液透析患者全因死亡及因 CVD 死亡的独立预测因子^[6,7]。本研究正常对照组未发现明显血管钙化,而血液透析患者普遍存在血管钙化,血管钙化积分与年龄相关,这与以前的研究结果相近^[5]。本研究进一步发现发生血管钙化者骨钙素水平较无血管钙化者显著升高,中重度血管钙化者骨钙素水平明显高于轻度血管钙化者,骨钙素水平与血管钙化程度密切相关。

研究表明,慢性肾脏病患者血管钙化主要发生于血管内膜及中膜^[8]。内膜钙化主要发生在主动脉或者冠状动脉,中膜钙化多见于股动脉、胫动脉等。内膜钙化与年龄以及其他与动脉粥样硬化相关的因素如高血压、糖尿病、血脂异常等相关。中膜钙化主要与血液透析时间及钙磷代谢紊乱有关。对于终末期肾病的患者,因为存在的相关危险因素较多,一般同时存在着以上两种血管钙化方式。钙化积分达到一定数值与冠状动脉疾病、外周动脉疾病独立相关,且心血管事件的风险、病死率、住院率均明显增加。既往研究认为通过使用骨盆、双手 X 线片评定的血管钙化积分,能够作为评价长期血液透析患者与钙化相关的心血管事件风险的一种简单方法^[3]。由于目前尚无针对心血管钙化的特效药物,仍然以预防和纠正危险因素为主,因此寻找血管钙化的标志物、探讨其形成机制就显得尤为重要。

近年来研究发现,血管钙化是一个基因与蛋白介导的主动调节过程,在这一过程中,血管钙化调节因子在系统和(或)局部水平发挥重要作用,血管钙化的形成是钙化促进因素与抑制因素不平衡的结果。骨钙素是构成骨基质的成分之一,是反映机体骨代谢变化的灵敏、可靠的指标,其在肾性骨营养不良的患者中显著升高。体外实验表明,骨钙素可在高磷刺激下表达增高,从而刺激血管平滑肌的钙化,其表达水平与血管钙化程度呈正相关,并可作为心脏瓣膜钙化的早期标志物^[8]。终末期肾脏病血液透析患者普遍存在钙磷调节紊乱,这可能是其骨钙素水平较正常对照组显著升高的原因之一。本研究进一步发现,骨钙素是血液透析患者血管钙化的独立危险因素,提示骨钙素一方面可能作为血液透析患者血管钙化的敏感指标,另一方面其还可能成为血液透析患者血管钙化干预的主要靶点之一。而本研究中,未发现血钙、血磷水平与血管钙化相关,这也与既往的研究相符,提示血钙、血磷水平与血管钙化的关系并不是十分紧密。综上所述,本研究显示,血液透析患者普遍存在血管钙化,其骨钙素水平显著高于无钙化的透析患者,血骨钙素是血液透析患者血管钙化的独立危险因素。但由于本研究例数较少,对于生存率的影响及其具体作用机制,还值得更进一步的研究。

参考文献

- 1 Ishir B, Ravi T. Vascular calcification and ESRD: a hard target[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009(4):102-105
- 2 Osorio A, Ortega E, Torres JM, et al. Biochemical markers of vascular calcification in elderly hemodialysis patients[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 374(1-2):21-27
- 3 Adrago T, Pries A, Lueas C, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in hemodialysis patients[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19:1480-1488
- 4 Tadros GM, Herzog CA. Percutaneous coronary intervention in chronic kidney disease patients[J]. J Nephrol, 2004, 17:364-368
- 5 徐利鹭, 刘毅, 吴秀娟, 等. 维持性血液透析患者的血管钙化情况及危险因素分析[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(4):95-98
- 6 Okuno S, Ishimura E, Kitatani K, et al. Presence of abdominal aortic calcification is significantly associated with all-cause and cardiovascular mortality in maintenance hemodialysis patients[J]. Am J Kidney Dis, 2007, 49:417-425
- 7 Block GA, Raggi P, Bellasi A, et al. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients[J]. Kidney Int, 2007, 71:438-441
- 8 史嘉玮, 张米, 陈思, 等. Runx2 和骨钙素在钙化心脏瓣膜的表达[J]. 中华实验外科志, 2011, 10:1756-1757

(收稿日期:2013-04-16)
(修回日期:2013-05-02)