

血清骨硬化蛋白与维持性血液透析患者冠状动脉钙化的相关性研究

程劲 王葳 刘国香

200052 上海,中国人民解放军第四五五医院肾脏科

【摘要】 目的 研究分析血清骨硬化蛋白与维持性血液透析(MHD)患者冠状动脉钙化的相关性。方法 选择 2016 年 1 月至 2017 年 1 月在中国人民解放军第四五五医院血透中心接受维持性血液透析治疗患者共 138 例。检测患者血清骨硬化蛋白水平和相关临床资料,CT 辅助检测患者冠状动脉钙化并进行评分。利用多因素 Logistic 回归分析骨硬化蛋白与维持性血液透析患者冠状动脉钙化的相关性,并用 ROC 曲线分析骨硬化蛋白对维持性血液透析患者诊断价值。结果 Logistic 回归分析显示骨硬化蛋白为冠状动脉钙化的独立危险因素($OR = 1.362, 95\% CI = 1.073 \sim 1.724, P = 0.032$)。血清骨蛋白诊断冠状动脉钙化积分(coronary artery calcification score, CACs)的 ROC 曲线分析, $AUC = 0.826, 95\% CI = 0.759 \sim 0.892, P = 0.000$ 。诊断值为 47.71 ng/L,诊断敏感度为 0.607,特异性为 0.938。结论 血清高浓度骨硬化蛋白是维持性血液透析患者冠状动脉钙化的独立危险因素,骨硬化蛋白对 MHD 患者的冠脉钙化具有诊断意义。

【关键词】 骨硬化蛋白;维持性血液透析;冠状动脉钙化

DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2019.02.002

Association of serum sclerostin level with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients CHENG Jin, WANG Wei, LIU Guo-xiang. Department of Nephrology, the 455th Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Shanghai 200052, China

Corresponding author: CHENG Jin, E-mail:chengjinchengjincj@126.com

【Abstract】 Objective To study the association of serum sclerostin level with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis (MHD) patients. **Methods** The clinical data of 138 patients receiving MHD during January 2016 to January 2017 in Hemodialysis Center of our hospital were collected. Patients were examined for serum sclerostin levels and related clinical data, CT-assisted detection of coronary artery calcification score. Multivariate logistic regression was used to analyze the correlation between sclerostin and coronary artery calcification in MHD patients. The ROC curve was used to analyze the diagnostic value of sclerostin in MHD patients. **Results** Logistic regression analysis showed that sclerostin was an independent risk factor for coronary artery calcification ($OR = 1.362, 95\% CI = 1.073 \sim 1.724, P = 0.032$). The analysis on the ROC curve of sclerostin for coronary artery calcifications revealed $AUC = 0.826, 95\% CI = 0.759 \sim 0.892, P = 0.000$. The diagnostic value of sclerostin was 47.71 ng/L, the diagnostic sensitivity was 0.607, and the specificity was 0.938. **Conclusions** The high concentration of sclerostin is an independent risk factor for coronary artery calcification in MHD patients. It is significant for sclerostin to diagnose coronary artery calcification in MHD patients.

【Key words】 Sclerostin; Maintenance hemodialysis; Coronary artery calcification

维持性血液透析(MHD)是终末期肾病患者替代治疗的主要方式。与普通人群相比,MHD 患者的冠状动脉粥样硬化性心脏病发病率较高。动脉钙化是动脉粥样硬化的主要表现形式,也是患者死亡的重要预测指标。研究显示,MHD 患者常并发矿物质和骨代谢失衡,患者血清中多种蛋白参与了血管钙化的形成,包括骨保护素、碱性磷酸酶、胎球蛋白 A 等^[1]。骨硬化蛋白(sclerostin)是近年发现的一种新型骨代谢调节因子,其存在于动脉粥样硬化斑块之中。目前已有动物实验^[2]和理论研究表明,骨硬化蛋白可能参与了动脉粥样硬化和血管钙化^[3],但对于骨硬化蛋白水平与 MHD 患者冠状动脉钙化的具体相关程度并不确定,所以本研究通过检测 MHD 患者血清骨硬化蛋白水平,探讨其与患者冠状动脉钙化的相关关系,以期为临床干预提供新思路。

资料与方法

一、研究对象

选择 2016 年 1 月至 2017 年 1 月在中国人民解放军四五五医院血透中心接受维持性血液透析治疗患者共 138 例,其中男性 72 例,年龄 30~85 岁,平均年龄(54.8±11.2)岁;女性 66 例,年龄 26~69 岁,平均年龄(52.4±9.2)岁。入选标准:(1)年龄>18 岁;(2)规律血液透析 3 个月以上。排除标准:(1)冠脉搭桥术后或者冠脉支架植入术后患者;(2)甲状旁腺切除术后患者;(3)恶性骨肿瘤,肿瘤骨转移史,多发性骨髓瘤史,或近 3 个月下肢骨折;(4)近 3 个月接受糖皮质激素治疗患者;(5)严重肝功能不全或严重营养不良;(6)妊娠期、哺乳期患者,伴精神疾病者或无法配合检查者。本研究经本院伦理委员会审核批准,所有入选患者均已签署知情同意书。

二、方法

1. 病史收集 收集包括性别、年龄、原发疾病、透析龄、用药情况、并发症(含高血压、糖尿病、心血管疾病)等临床资料。记录当日透析前身高、干体质量,计算体质量指数(BMI)值。

2. 血生化检查 所有患者透析前采集静脉血,使用德国罗氏 DPP 自动生化分析仪对血液各项指标检测,内容包括血红蛋白、血细胞比容、白蛋白、血钙、磷、碱性磷酸酶、总胆固醇、C 反应蛋白(CRP)等。德国罗氏-E170 全自动免疫分析仪检测甲状旁腺素(PTH),雅培化学发光仪检测 25 羟维生素 D₃。

3. 血清骨硬化蛋白检测 采用酶联免疫吸附法

(ELISA)测定患者血透前骨硬化蛋白浓度,试剂盒购自奥地利 Biomedica 公司,检测范围 0~240 pmol/L。

4. 冠状动脉钙化积分(CACs) 在上述实验室检查完成前后 7 d 内,使用美国 GE 64 排螺旋 CT 机扫描 CACs 检查。扫描前连接好心电门控设备(ECG)导连,确认 ECG 监测屏显示心动波形,且心率低于 70 次/min 后开始进行。采用前瞻性心电门控步进式采集模式,扫描条件为 120 kVp,电流 80 mA,层厚 3.0 mm,重建层距 1.5 mm。时间窗位于 70%RR 间期,矩阵 512×512。冠状动脉钙化程度采用专门的计算机软件(Agatston score)进行评分,对结果保存并打印。总 CACs 包括冠状动脉的左主干、左前降支、左回旋、右冠状动脉 4 个部位。CACs 0 分为无钙化,1~10 分为少量钙化,11~100 分为轻度钙化,101~400 分为中度钙化,CACs>400 分为重度钙化。根据 CACs 结果将患者分为 3 组:组 1(CACs<100 分)、组 2(CACs 100~400 分)、组 3(CACs>400 分)。

三、统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学分析。患者性别、并发症例数等正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用方差分析进行组间比较,两两比较采用 LSD 检验。甲状旁腺素、CRP、CACs 等非正态分布的计量资料用 M(1/4, 3/4) 表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验,组间两两比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料用例数和百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验或者精确概率法。通过对可能导致 MHD 患者冠脉钙化的危险因素采用方差分析和 Kruskal-Wallis 检验筛选出 $P<0.05$ 的因素,对筛选因素再使用二元多因素 Logistic 回归分析,得到 MHD 患者冠脉钙化的独立危险因素。并通过建立 ROC 曲线确定骨硬化蛋白诊断 MHD 患者冠状动脉钙化的最佳切点,骨硬化蛋白最佳切点通过约登指数(灵敏度+特异度-1)确定。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、临床资料

138 例患者平均年龄(53.6±10.3)岁,其中男性 72 例(52.2%)。入选患者中原发病包括:肾小球肾炎 41 例(29.7%),糖尿病肾病 33 例(23.9%),高血压肾病 31 例(22.5%),多囊肾 15 例(10.9%),其他 18 例(13.0%)。并发高血压 97 例(70.2%),糖尿病 36 例(26.1%),心血管疾病 49 例(35.5%)。

所有患者均接受 Fresenius 4008s 血液透析机进行治疗,每周透析 3 次,每次 4 h,血流量为 200~250 mL/min,透析液流量为 500 mL/min。

根据患者情况给予口服降压药,调节钙磷代谢,纠正肾性贫血治疗。根据 CACs 结果分为 3 组: CACs<100 分组 49 例, CACs 100~400 分组 14 例, CACs>400 分组 75 例。根据分组对 MHD 患者冠状动脉钙化危险因素进行单因素分析,在全部因素中年龄 ($F = 3.074, P = 0.03$)、骨硬化蛋白 ($F = 3.647, P = 0.014$)、25 羟维生素 D3 ($F = 3.115, P = 0.021$) 和血尿酸 ($F = 3.081, P = 0.023$) 差异有统计学意义,患者并发症等其他因素无统计学意义 ($P > 0.05$)。(表 1)

二、MHD 患者冠状动脉钙化的危险因素分析

以 CACs = 100 为临界点,根据冠状动脉钙化程度,将全部患者分为轻度钙化和中重钙化两组。对影响 MHD 患者冠状动脉钙化的全部单因素进行二元多因素 Logistic 回归分析,结果显示仅骨硬化蛋白为冠状动脉钙化的独立危险因素 ($OR = 1.362, 95\%CI = 1.073 \sim 1.724, P = 0.032$)。(表 2)

三、血清骨蛋白诊断 MHD 患者冠状动脉钙化的 ROC 曲线分析

对血清骨蛋白诊断 CACs 进行 ROC 曲线分析,得出 $AUC = 0.826, 95\%CI = 0.759 \sim 0.892, P = 0.000$ 。可见利用血清骨蛋白诊断冠状动脉钙化具有较高准确性,诊断值为 47.71 ng/L,诊断敏感度为 0.607,特异性为 0.938。(图 1)

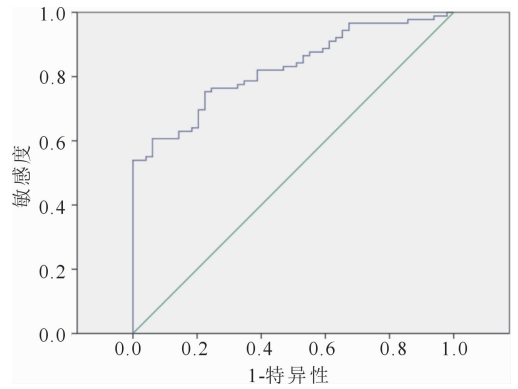


图 1 血清骨蛋白诊断 MHD 患者冠状动脉钙化的 ROC 曲线分析

表 1 不同冠状动脉钙化积分组患者的临床资料比较

项目	全部($n = 138$)	CACs<100($n = 49$)	CACs100~400($n = 14$)	CACs>400($n = 75$)
年龄(岁)	53.6 ± 10.3	50.8 ± 10.1	57.5 ± 10.2 ^a	54.8 ± 10.1 ^a
男性[例(%)]	72(52.17)	29(59.18)	9(64.28)	34(45.33)
透析龄(年)	13.50 ± 5.14	13.05 ± 4.70	12.3 ± 5.6	13.06 ± 5.38
BMI(kg/m ²)	24.31 ± 3.10	24.32 ± 3.09	25.03 ± 3.31	24.59 ± 2.96
血红蛋白(g/L)	99.0 ± 14.3	103.2 ± 13.0	100.0 ± 16.2	98.5 ± 13.8
红细胞比容(%)	34.7 ± 9.4	34.1 ± 9.1	30.8 ± 10.4	35.8 ± 9.2
白蛋白(g/L)	39.4 ± 3.4	40.0 ± 3.2	38.2 ± 3.9	39.8 ± 3.1
血尿素氮(mmol/L)	32.0 ± 4.8	32.4 ± 5.1	33.8 ± 4.9	31.4 ± 4.5
血钙(mmol/L)	2.31 ± 0.13	2.29 ± 0.12	2.32 ± 0.13	2.31 ± 0.14
血磷(mmol/L)	2.21 ± 0.51	2.65 ± 0.47	1.39 ± 0.26 ^a	2.08 ± 0.24 ^a
25 羟维生素 D3(μg/L)	15.8 ± 4.1	19.6 ± 3.7	17.4 ± 1.9 ^a	13.0 ± 1.7 ^a
血肌酐(μmol/L)	990.9 ± 153.4	1 010.4 ± 168.0	1 002.9 ± 142.9	975.8 ± 145.5
血尿酸(μmol/L)	430.7 ± 67.8	458.1 ± 87.6	417.7 ± 65.8	425.9 ± 75.2 ^a
总胆固醇(mmol/L)	4.5 ± 0.8	4.5 ± 1.0	4.4 ± 0.8	4.5 ± 0.8
碱性磷酸酶(U/L)	86.4(67.6,101.1)	80.7(65.1,104.3)	77.0(62.7,92.4)	92.5(73.9,109.1)
CACs	455(70,693)	58(28,78)	215(189,318) ^a	758(617,1013) ^a
甲状旁腺素(ng/L)	4865(3642,6623)	4840(3579,6152)	3541(3041,4508)	5789(4001,7410) ^b
C 反应蛋白(ng/L)	4.43(2.56,6.68)	5.83(2.70,7.97)	3.05(2.76,6.09)	4.01(2.33,6.60)
骨硬化蛋白(ng/L)	43.07(36.40,69.80)	35.09(30.45,37.34)	35.70(28.78,44.95)	56.15(45.74,68.42) ^a

注:与 CACs<100 组比较,^a $P < 0.05$;与 CACs100~400 组比较,^b $P < 0.05$

表 2 CACs 危险因素的多因素 Logistic 回归分析结果

相关因素	β	SE	Wald 值	OR	95%CI	P 值
骨硬化蛋白	0.307	0.121	4.328	1.362	1.073~1.724	0.032
年龄	0.282	0.263	0.517	1.326	0.792~2.220	0.131
25 羟维生素 D ₃	0.131	0.146	1.623	1.141	0.856~1.518	0.081
尿酸	0.215	0.173	0.724	1.249	0.883~1.741	0.168

讨 论

骨硬化蛋白是一种具有抑制成骨细胞发育和骨形成的蛋白,是 Wnt- β 经典通路的可溶性阻断剂, Wnt 信号通路在调节骨重建、骨细胞分化及增殖过程中发挥重要负性调控作用。近年来,研究表明 Wnt 信号通路可能参与血管钙化形成过程^[4],并对钙化进展起重要作用。骨硬化蛋白除在骨骼表达外也可在肾脏、胰腺、肺中表达,也有研究显示骨硬化蛋白存在于血管壁和心脏瓣膜中,可能直接参与了动脉粥样硬化形成和血管钙化^[5]。动脉粥样硬化的钙化,并非一个简单、被动过程,而是一个可调控、主动的过程:血管内皮细胞及平滑肌细胞首先转分化为类成骨细胞、类软骨细胞,进而这些细胞通过细胞分泌影响钙磷代谢,属多因素参与的高度调控过程^[6]。正常人体内存在成纤维细胞生长因子 23 (FGF23)、胎球蛋白 A、骨保护素等多种血管钙化抑制因素等,但在病理条件下,如碱性磷酸酶、骨形态发生蛋白等多种血管钙化诱导因素被激活,而促进血管类的成骨形成^[7]。

冠状动脉钙化与心肌梗死、恶性心律失常等心血管事件关系密切,也是导致患者死亡的一个独立危险因素。慢性肾脏病 (CKD) 患者尤其是 MHD 患者中冠状动脉钙化较为常见。Chen 等^[8]报道 60.8% 的 MHD 患者存在明显动脉钙化;周继生等^[9]也发现,CKD 患者人群中冠脉钙化的发生率近 76%,且多个分支钙化的发生率较非 CKD 患者更高,危害更大。已有多项研究表明患者体内矿物质失衡和骨代谢紊乱可导致 MHD 患者血管发生钙化^[8,10-11]。本研究使用 KDIGO 指南中 64 层螺旋 CT 检测 CACs 评价标准,通过电脑软件进行 Agatston 钙化评分,判断冠状动脉钙化程度进行半定量分析^[12]。本研究结果显示,CACs > 100 患者占 64.49%,这一比例与德国学者^[13] (CACs > 100 患者约占 65%)及日本学者^[14] (CACs > 100 患者约占 67%)研究结果基本一致。

本研究中 MHD 患者中骨硬化蛋白浓度中位数为 43.07 ng/L,明显高于非慢性肾衰竭患者,但其发生机制目前尚不确定,可能存在多种因素。骨硬化蛋白相对分子质量约为 22 500,因此理论上当发生肾衰竭时因其不能自由通过肾小球滤过膜而产生体内蓄积。Pelletier 等^[15]研究发现在 CKD 人群中骨硬化蛋白与肾小球滤过率呈负相关,血清骨硬化蛋白水平也随 CKD 分期进展而升高。已有研究证实,血清骨硬化蛋白水平与 CKD 患者心血管相关死亡密切相关。目前有部分研究涉及 MHD 患者血清骨硬化蛋白水平与血管钙化的关系,但研究结论并不一致。Claes 等^[16]研究认为,骨硬化蛋白水平与患者腹主动脉钙化评分呈正相关,多因素回归分析提示高骨硬化蛋白可预防血管钙化,重度血管钙化的患者中血清骨硬化蛋白水平相对较高,而 Delanaye 等^[17]报道,MHD 患者骨硬化蛋白水平与腹主动脉钙化评分负相关。本研究结果显示骨硬化蛋白是 MHD 患者冠状动脉钙化的独立危险因素 (OR = 1.362, 95%CI = 1.073~1.724, P = 0.032)。

本研究同时评价了钙磷代谢水平与 CACs 之间的关系。之前,有动物实验报道,高磷饮食可促进肾衰竭大鼠的血管发生钙化^[18]。国内外均有报道 MHD 患者冠脉钙化可能与高血磷有关^[11-19],但也有研究指出并未发现血磷与 CCS 的关系^[20]。本研究虽然得出 CACs > 100 分组的血磷浓度高于 CACs ≤ 100 组,但通过多因素 Logistic 回归分析提示患者血磷浓度并非为冠状动脉钙化的危险因素,因此上述差异无统计学意义。笔者认为,上述多项研究结果不同可能与血磷浓度测量为血透前单次测量结果有关,同时也可能与血磷仅反映体内总磷很小一部分,其浓度易受透析、药物、饮食等多种因素影响有关。另有研究指出,血磷变异能更好反映透析患者体内血磷水平^[21],同时本研究也未发现尿酸、25 羟维生素 D₃、甲状旁腺素与冠状动脉钙化的相关性。

本研究存在样本量相对较小,缺少对患者长期预后观察分析等不足。因此,今后还需要大样本基础和临床的研究,进一步分析骨硬化蛋白对 MHD 患者血管钙化及预后影响。

总之,本研究显示血清高浓度骨硬化蛋白是 MHD 患者冠状动脉钙化的独立危险因素,且具有较强诊断意义。这一发现为 MHD 患者制定干预措施,预防、延缓心血管事件发生,改善患者预后提供了新方向。

参 考 文 献

- [1] Koos R, Brandenburg V, Mahnken AH, et al. Sclerostin as a potential novel biomarker for aortic valve calcification: an in-vivo and ex-vivo study[J]. *J Heart Valve Dis*, 2013, 22(3): 317-325.
- [2] Ominsky MS, Boyce RW, Li X, et al. Effects of sclerostin antibodies in animal models of osteoporosis[J]. *Bone*, 2017, 96: 63-75.
- [3] Milovanova LY, Milovanov YS, Kudriavtseva DV, et al. Role of the morphogenetic proteins FGF-23 and Klotho and the glycoprotein sclerostin in the assessment of the risk of cardiovascular diseases and the prognosis of chronic kidney disease[J]. *Ter Arkh*, 2015, 87(6): 10-16.
- [4] Jin S, Zhu M, Yan J, et al. Serum sclerostin level might be a potential biomarker for arterial stiffness in prevalent hemodialysis patients[J]. *Biomark Med*, 2016, 10(7): 689-699.
- [5] Zhu D, Mackenzie NC, Millan JL, et al. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19595.
- [6] 张淑芳, 梁震, 张红梅, 等. 维持性血液透析患者血管钙化危险因素分析[J]. *华北理工大学学报(医学版)*, 2016, 18(4): 294-298.
- [7] 文杨, 夏运风, 甘华. 维持性血液透析患者血管钙化防治[J]. *中国血液净化*, 2016, 15(5): 263-265.
- [8] Chen Z, Chen X, Xie J, et al. Fibroblast growth factor 23 is a predictor of aortic artery calcification in maintenance hemodialysis patients[J]. *Ren Fail*, 2013, 35(5): 660-666.
- [9] 周继生, 鲍宏达, 汪年松, 等. CKD 与非 CKD 患者冠状动脉钙化发生情况的比较研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(7): 586-589.
- [10] Kramann R, Erpenbeck J, Schneider RK, et al. Speckle tracking echocardiography detects uremic cardiomyopathy early and predicts cardiovascular mortality in ESRD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(10): 2351-2365.
- [11] 王长江, 李胜开. 维持性血液透析患者钙磷代谢紊乱及腹主动脉钙化观察[J]. *山东医药*, 2015, 55(35): 39-40.
- [12] Kahn J, Ram LM, Eberhard K, et al. Calcification score evaluation in patients listed for renal transplantation [J]. *Clin Transplant*, 2017, 31(3): e12888.
- [13] Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study [J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14(1): 219.
- [14] Yamamoto H, Kitagawa T, Kihara Y. Clinical implications of the coronary artery calcium score in Japanese patients [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2014, 21(11): 1101-1108.
- [15] Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, et al. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8(5): 819-823.
- [16] Claes KJ, Viaene L, Heye S, et al. Sclerostin: Another vascular calcification inhibitor? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(8): 3221-3228.
- [17] Delanaye P, Krzesinski J, Warling X, et al. Clinical and biological determinants of sclerostin plasma concentration in hemodialysis patients [J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 128(1-2): 127-134.
- [18] Finch JL, Lee DH, Liapis H, et al. Phosphate restriction significantly reduces mortality in uremic rats with established vascular calcification [J]. *Kidney Int*, 2013, 84(6): 1145-1153.
- [19] Bellasi A, Ferramosca E, Ratti C, et al. The density of calcified plaques and the volume of calcium predict mortality in hemodialysis patients [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 250: 166-171.
- [20] Wang M, Li H, You L, et al. Association of serum phosphorus variability with coronary artery calcification among hemodialysis patients [J]. *PloS one*, 2014, 9(4): e93360.
- [21] Kanbay M, Siritopol D, Saglam M, et al. Serum sclerostin and adverse outcomes in nondialyzed chronic kidney disease patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(10): E1854-1861.