

# 骨质疏松患者 FGF23 与 Crosslaps 血清浓度检测与分析

雒志恒<sup>1</sup>, 李雅莉<sup>2</sup>, 王永吉<sup>1</sup>, 吴婕<sup>1</sup>, 张波<sup>2</sup>

(1. 陕西理工大学 维生素 D 生理与应用研究所, 陕西 汉中 723001;

2. 西安交通大学 医学院附属三二〇一医院, 陕西 汉中 723001)

**摘要:**目的:探讨骨质疏松症(Osteoporosis, OP)患者外周血成纤维生长因子 23(Fibroblast growth factor-23, FGF23)、I 型胶原交联 C 末端肽(Crosslaps)与 25-(OH)D 代谢水平与骨质疏松症的关系. 方法:选择骨质疏松女性患者 32 名, 年龄 48~90 岁(OP 组), 与 21 名健康人年龄 31~50 岁(对照组). 采用酶联免疫吸附法检测外周血 FGF23, Crosslaps 及 25-(OH)D 水平. 采用全自动血液生化分析仪检测血钙、血清无机磷、碱性磷酸酶(Alkaline phosphates, ALP)水平, 并对 OP 患者 25-(OH)D 与 FGF23、Crosslaps、血钙、血磷的相关性进行分析. 对 53 名受试者进行骨密度(Bone mineral density, BMD)测量及医学影像学检测. 采集 OP 患者及健康人股骨骨样进行石蜡包埋、切片、H&E 染色并观察, 采用病理学图像分析系统进行形态计量学分析. 结果:与对照组比较, OP 组患者血清中 FGF23、Crosslaps 水平显著升高( $P < 0.05$ ); OP 患者血清中 25-(OH)D 水平与 FGF23 相关系数为  $-0.012 2$ , 与 Crosslaps 相关系数为  $-0.231 7$ ; 通过骨组织形态计量学分析, OP 患者骨小梁平均厚度、骨小梁面积百分率较对照组显著减少( $P < 0.05$ ), OP 组骨小梁间距较对照组显著增大( $P < 0.05$ ). OP 患者左侧股骨颈(Femoralneck, FN), Ward's 三角(Ward's)骨密度值与对照组均有显著减少( $P < 0.05$ ). 通过影像学检测发现 OP 组 X 光片透光度有所增加, 骨小梁变细, 骨皮质变薄. 结论:骨质疏松症患者血清中 FGF23, Crosslaps 因子水平与 25-(OH)D 水平存在一定相关性. 提示其在骨代谢所引起的血清水平变化, 以及三者之间的关系可为骨质疏松症的诊断和治疗提供参考.

**关键词:**骨质疏松; 成纤维生长因子 23; Crosslaps; 25-(OH)D; 骨标志物; 形态计量学

**中图分类号:** Q593.6

**文献标志码:** A

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以全身骨量减少、骨密度减少、骨组织结构退化引起脆性增加和骨折风险性增大为典型特征的一种全身性骨骼系统疾病<sup>[1]</sup>. 尤其以女性绝经后雌激素水平急剧下降导致骨量丢失而引起的骨质疏松较为常见, 被称为绝经后骨质疏松症(Postmenopausal osteoporosis, PMOP). 60 岁以上女性 OP 的发病率约为 25% 至 50%, 因 OP 而引起的髌部骨折的患者中女性患者约占 85%<sup>[2]</sup>. 由于 OP 患者骨转化加速, 骨代谢紊乱, 导致血清中相关因子 FGF23, Crosslaps, 25-(OH)D 等水平发生变化. 在骨质疏松的临床诊断中, 仅凭骨密度、影像学鉴定具有一定局限性, 无法对疾病进行预防及预后评估, 以及治疗中不能很好地反应骨代谢生化水平. 因此通过研究血清中与钙磷代谢和相关因子水平变化, 对于骨质疏松的诊断、疾病监测以及对治疗效果的评估具有一定意义. FGF23 是一种主要在骨细胞和骨成纤维细胞中表达的钙磷调节因子, 参与体内钙、磷、维生素 D 水平的调节, 属于成纤维细胞生长因子(FGFs)家族成员<sup>[3]</sup>. 近年来有研究发现, FGF23 具有强大的调节血磷和维生素 D 功能, 是主要的调磷素之一<sup>[4]</sup>. Crosslaps 是骨重吸收的标志物, 占骨有机质的 90% 以上<sup>[5]</sup>. 代表破骨细胞降解骨基质所释放的物质, 是 I 型胶原蛋白的羧基端降解产物<sup>[6]</sup>. 其在骨质疏松诊断上具有敏感性高, 特异性好, 稳定性强, 可重复率高等优点.

**收稿日期:** 2017-02-14; **修回日期:** 2017-09-28.

**基金项目:** 陕西省科技厅科技创新团队项目(2012KTC-29); 西安交通大学医学院附属三二〇一医院科研基金(3201yk201506); 陕西省教育厅专项科研项目(12JS029).

**作者简介:** 雒志恒(1992-), 男, 陕西汉中, 陕西理工大学硕士研究生, 主要从事维生素 D 生理应用与骨质疏松症研究, E-mail: luozhiheng2016@163.com.

**通信作者:** 张波, 西安交通大学副教授, 主要从事脊柱外科与骨损伤研究, E-mail: zhangbo3201@126.com.

# 1 材料与方法

## 1.1 一般资料

2014年7月至2015年9月在西安交通大学医学院附属三二〇一医院门骨科门诊及住院部收治的因股骨骨折、股骨坏死及骨外伤等患者53例,其中经确诊为骨质疏松的有32例,年龄48~90岁,平均(73.59±8.22)岁,设为OP组.21名女性对照组,经确诊为正常,年龄31~50岁,平均(36.80±5.41)岁,设为对照组.

### 1.1.1 组织

人体髌部骨组织,来源均为手术废弃骨组织(股骨颈骨骨折人工股骨头置换术废弃股骨头).由西安交通大学医学院附属三二〇一医院提供.

### 1.1.2 试剂

无水乙醇、二甲苯(Fisher)、石蜡、超纯水、苏木精染液、伊红染液、多聚甲醛(Sigma)磷酸盐缓冲液(PBS,pH值7.4)(北京鼎国昌盛生物技术公司)、人酶联免疫吸附测定试剂盒(IDS ELISA 96T,英国 Immunodiagnostic Systems Limited)、10%依地酸钠钙(EDTA,pH值8.0),其他未标明试剂均为实验室研究级.

### 1.1.3 仪器

倒置荧光显微镜(Nikon Ti-S)、酶标仪(BioTek Instruments)、石蜡切片机(莱卡旋转式石蜡切片机2265)、智能恒温磁力搅拌器(ZNCL-S,河南爱傅特仪器有限公司)、纯水机(Thermo公司)、全自动生化分析仪(日立7180)、双侧X线骨密度仪(Prodigy)、恒温展片仪、移液枪(ependorf)、分析天平(TB-214北京赛托利思仪器有限公司)、医用数字X射线机(PLD8800珠海普利德医疗设备有限公司)、-80℃冰箱(SIEMENS)、电热鼓风干燥箱、桥板摇床(其林贝尔公司)、冷藏冷冻箱(SIEMENS)

## 1.2 方法

### 1.2.1 骨样收集

告知患者本人同意后,试验符合人体试验伦理学标准,并得到医院伦理委员会的批准.收集患者手术后废弃用骨,髌部、适量,置于4%多聚甲醛保存于4℃冰箱固定24h.

用20%,50%,75%乙醇逐级脱水,保存于75%乙醇中,置于-20℃冰箱.待样本收集一定数量后集中进行脱钙,组织包埋和切片.

### 1.2.2 组织石蜡包埋

洗涤:脱钙前先用pH值7.4 0.01 mol/L PBS洗涤5次,每次10 min洗去4%多聚甲醛.

脱钙:使用10% pH值8.0 EDTA置于桥板摇床调速至45,4℃保存脱钙4周,每2 d换液1次.

脱水:使用梯度乙醇逐级脱水,如80%乙醇2 h;90%乙醇2 h,95%乙醇2 h,100%乙醇 I 1 h,100%乙醇 II 30 min.

透明:分别用100%乙醇体积/二甲苯(体积=1:1)处理30 min,二甲苯 I 处理20 min,二甲苯 II 处理10 min.

浸蜡:分别将石蜡置于烘箱中65℃融化,分别用蜡 I、蜡 II、蜡 III各浸埋40 min.

包埋:使用自动包埋机包埋.

### 1.2.3 石蜡切片

切片:将包埋好的蜡块用解剖刀修成正方体,将其黏附于小木块上,最后将小木块夹在切片机的蜡块钳上,将切面与刀面平行.调整切片厚度为10 μm,并缓慢摇动转轮使蜡片完整连带.

贴片:在预先明胶处理过的载玻片上滴一滴蒸馏水,选取一小段蜡片用毛笔轻轻置于水滴上,缓慢铺开.将载玻片置于展片机上加热至45~50℃,待蜡片缓慢展开,用吸水纸将周围多余蒸馏水吸去.

烘片:将载玻片置于37℃烘箱中干燥24 h.

### 1.2.4 H&E染色

脱蜡:将烘好的切片置于二甲苯 I 的染色缸中脱蜡10 min,再置于二甲苯 II 中脱蜡10 min,使用无水乙醇洗去二甲苯2次,每次5 min.

复水:将切片置于 95%乙醇、90%乙醇、80%乙醇、70%乙醇、50%乙醇,以及蒸馏水中每次 2~5 min.

染色:将切片使用苏木精染液染色 30 min,使用流水 1 min,1%盐酸乙醇 5S 洗去苏木精染液.胞质脱色,分别使用 70%乙醇、80%乙醇、90%乙醇浸,泡每次 2 min.在使用伊红染液染色 6 min,随后用 95%乙醇、无水乙醇、二甲苯进行脱水,每个溶液 2 次每次 5 min.

封片:在载玻片上滴 1~2 滴中性树胶,盖上盖玻片,烤片机上烤片 12 h.

### 1.2.5 血清收集

清晨采集患者空腹静脉采血 5 mL,3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 6 min,取上清置于-80℃冰箱冻存,以备后用.

### 1.2.6 血清检测

使用 Serum CrossLaps ELISA 试剂盒,操作均按试剂盒说明书进行.

抗体制备:将一抗工作液、过氧化物酶结合抗体、孵育液(Incubation Buffer)按 1:1:100 混合均匀.

孵育:使用 50 μL 移液枪,向制备好的抗体中加入 150 μL 血清样品,覆盖免疫检测试纸,在室温下(18~22℃)孵育 120 min.

洗涤:使用 300 μL 经蒸馏水 1:5 稀释的 Buffer 冲洗免疫检测试纸 5 次.

孵育与显色:向每个孔中加入 100 μL 显色剂,在黑暗室温环境下孵育 15 min.

终止显色:向每个孔中加入 100 μL 硫酸终止显色反应.

吸光度测量:使用酶标仪按预先设定程序测量.

FGF23 因子测量方法同上.

血钙、血磷及 ALP 含量均用全自动血液生化分析仪检测.

### 1.2.7 影像学检测

使用医用数字 X 光机对患者髌部进行 X 射线扫描.受试者仰卧于扫描仪,体位均为髌部扫描标准体位.

### 1.2.8 骨密度检测

使用双能 X 线骨密度仪对患者腰部及左侧髌关节进行扫描.受试者均采用仰卧标准体位.对其腰椎 1~4(L1-4)、左侧股骨颈(femoralneck, FN)、Ward's 三角(Ward's)、大粗隆(Troch)骨密度进行检测.

### 1.2.9 显微镜镜检

使用 Nikon 倒置荧光显微镜对所染色的切片进行观察,每个样本均在 4×、10×、20×、40× 倍镜下观察,骨小梁厚度、间距、连接情况,骨髓腔大小以及成骨细胞和破骨细胞变化情况.并进行图像采集.

## 1.3 统计学处理

使用 Image-pro6.0 软件对骨组织图像进行分析,每个样本量收集 6 组数据后取平均值.所有采集数据均用 SPSS 21.0 进行方差分析、*t* 检验、回归分析,结果用表示, $P<0.05$  时差异有统计学意义.

## 2 结 果

### 2.1 H&E 染色及组织病理学分析结果

通过组织学分析,对照组股骨干骺端骨小梁较宽较厚,数量较多,较为致密,相互连接较好,骨小梁上成骨细胞较多.OP 组骨小梁较为稀疏,有断裂出现,骨小梁间距较大,骨髓腔较大(见图 1.).

### 2.2 骨形态计量学变化

通过对骨进行形态计量学分析显示,OP 组患者骨小梁厚度与对照组比较显著减少,OP 组骨小梁间距较对照组显著增大,骨小梁面积百分率 OP 组较对照组显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ). (见表 1.)

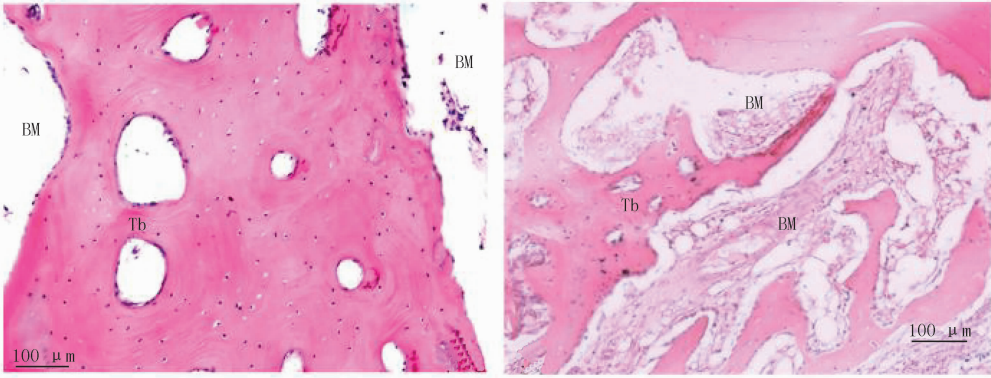
表 1 骨形态计量表( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	骨小梁厚度 Tb.Th/ $\mu\text{m}$	骨小梁间距 Tb.Sp/ $\mu\text{m}$	骨小梁面积比例 Tb.Ar/%
OP 组	32	94.524 7±39.226 1*	140.579 9±63.867 0*	40.320 1±17.379 1*
对照组	21	132.356 5±38.599 8	95.224 3±32.058 5	70.267 5±15.569 3

注:\*  $P<0.05$  与对照组比较.

### 2.3 血清因子检测结果

通过 Elisa 试剂盒对 2 组人群外周血 25-(OH)D, Crosslaps, FGF23 含量测定, 及全自动血液生化分析仪对 2 组外周血中因子进行分析显示, OP 组 Crosslaps 及 FGF23 含量均较对照组显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). OP 组 ALP 较对照组含量升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). 25-(OH)D, OP 组血钙、血磷均较对照组有所降低, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ). (见表 2.)



A: 对照组股骨干骺端 HE 10×

B: OP 组股骨干骺端 HE 10×

图 1 对照组和 OP 组股骨干骺端组织

表 2 OP 组及对照组血清各项指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	血钙/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	血磷/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	ALP U · P <sup>-1</sup>	25-(OH)D/ (μg · L <sup>-1</sup> )	Crosslaps/ (μg · L <sup>-1</sup> )	FGF23 (ng · L <sup>-1</sup> )
OP 组	32	2.210 ± 1.087 9	1.201 1 ± 0.162 5	87.905 4 ± 65.162 7 *	9.478 7 ± 3.147 3	1.051 2 ± 0.531 5 *	28.929 5 ± 15.209 2 *
对照组	21	2.372 7 ± 1.103 2	1.255 1 ± 0.108 5	77.001 0 ± 39.218 5	10.636 8 ± 2.957 5	0.487 5 ± 0.104 1	12.860 9 ± 7.735 0

注: \*  $P < 0.05$  与对照组比较.

### 2.4 OP 患者血清中 25-(OH)D 与其他各因子相关性分析结果

通过相关性分析, OP 患者血清中 25-(OH)D 含量与年龄相关性为 -0.156 9, 呈负相关, 提示, 25-(OH)D 含量随年龄的增加而减少. 25-(OH)D 含量与血钙、血磷、ALP 含量均呈正相关, 在体内血清中血钙、血磷的含量可受到 25-(OH)D 含量的影响. 25-(OH)D 与 Crosslaps 相关性为 -0.231 7, 呈负相关, 与 FGF23 相关性为 -0.012 2, 为负相关. (见表 3.)

表 3 OP 患者 25-(OH)D 与其他因子相关性

项目	年龄	血钙	血磷	ALP	Crosslaps	FGF23
r	-0.156 9	0.230 3	0.033 0	0.009 8	-0.231 7	-0.012 2
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

### 2.5 骨密度检测结果

通过使用双侧 X 线骨密度仪对受试者腰部及左侧髋关节进行扫描. 得出腰椎 1~4 (L1-4)、左侧股骨颈、Ward's 三角、大粗隆相应 BMD 值、T 值、Z 值. OP 组腰椎、T 值、Z 值, 左侧股骨颈 BMD、T 值、Z 值, Ward's 三角 BMD 与 Z 值均较对照组显著减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). OP 组 Ward's 三角 T 值, 大粗隆 BMD, T 值与全部项的 BMD, T 值 Z 值均较对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ) (见表 4.)

### 2.6 影像学检测结果

通过对受试者髋部 X 光扫描发现, OP 组由于骨钙矿盐丢失较为严重, 髋部 X 光片较对照组透光度有所

增加,光密度差减小.OP 组骨小梁较对照组变细,骨皮质有所变薄,密度较低(见图 2.)

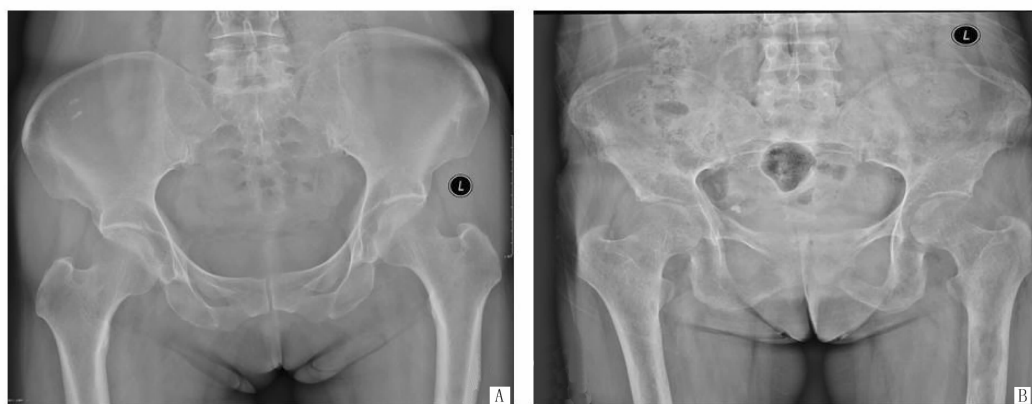
### 3 讨 论

由于骨质疏松症(Osteoporosis,OP)骨吸收大于重建作用,从而导致全身骨量及骨密度减少、骨组织结构退化.引起相应骨代谢标志物血清含量如:FGF23,Crosslaps,ALP 等发生变化.同时,骨质疏松症引起的体内钙磷代谢紊乱也导致 25-(OH)D 水平发生变化<sup>[7-8]</sup>.

表 4 OP 组与对照组骨密度值比较(  $\bar{x} \pm s$  )

项目	OP 组( $n=32$ )			对照组( $n=21$ )		
	BMD/[ $g \cdot (cm^2)^{-1}$ ]	T	Z	BMD/[ $g \cdot (cm^2)^{-1}$ ]	T	Z
腰椎(L <sub>1-4</sub> )	17.273 8±114.281 1	-3.134 6±0.868 0*	-0.855 5±0.732 *	1.237 5±0.907 1	0.324 5±1.503 8	0.310 2±1.715 8
左侧股骨颈	0.633 1±0.088 7*	-2.482 1±0.745 4*	-0.507 1±0.655 4*	1.022 3±0.169 6	0.763 6±1.411 6	0.900 0±0.907 7
Ward's 三角	0.430 1±0.080 3*	-2.996 4±0.537 8 $\Delta$	-0.632 1±0.547 1*	0.826 0±0.215 7	-0.154 5±1.064 3	0.190 9±0.762 2
大粗隆	0.521 2±0.069 7 $\Delta$	-2.200 1±0.648 1 $\Delta$	-0.807 7±0.853 9*	0.868 1±0.161 6	0.927 2±1.505 4	0.872 7±0.973 7
全部	0.654 8±0.078 3 $\Delta$	-2.478 6±0.626 8 $\Delta$	-0.921 4±0.666 3 $\Delta$	1.068 0±0.147 2	0.727 2±1.134 1	0.736 4±0.690 3

注: \*  $P < 0.05$  与对照组比较,  $\Delta P < 0.01$  与对照组比较.



A: 对照组髋部 X 光影像

B: OP 组髋部 X 光影像

图 2 对照组和 OP 组数字 X 光影像

FGF23 属于 FGF 家族的一员,在骨组织中由成骨细胞分泌.主要功能是通过下调激活钠-磷协同转运蛋白 NaPi2a,NaPi2c 促进尿磷排泄,抑制肾小管对磷酸盐重吸收来调节体内磷酸盐水平.由于其分子结构中羧基末端的 Klotho 蛋白的结合位点并未在骨组织中表达,因此其对于骨代谢的影响主要是通过调节钙磷水平实现<sup>[9-10]</sup>.此外,FGF23 通过下调 1- $\alpha$ -羟基酶(Cyp27b1),上调 24- $\alpha$ -羟基酶(Cyp24a1)分别使 25-(OH)D 的合成能力减弱分解能力增强,从而下调 25-(OH)D 水平<sup>[11-12]</sup>.由于 25-(OH)D 水平的降低,使小肠对于磷酸盐的吸收能力减弱使体内钙、磷水平降低.在本试验中,受试者血清 FGF23 因子水平 OP 组较对照组显著升高.FGF23 与 25-(OH)D 存在负相关,相应 25-(OH)D 水平 OP 组较对照组含量较低.25-(OH)D 与血磷存在正相关,因此导致 OP 组血磷水平较正常组有所降低,与文献报道相符<sup>[13]</sup>.

Crosslaps 是近年来评价骨吸收的新标志之一,它是骨吸收作用导致 I 型胶原被降解后释放出的肽片段中的一种,其对 I 型胶原的特异性较强<sup>[14-15]</sup>.因此可以通过检测 Crosslaps 水平来反应体内骨量改变情况.在本研究中 OP 组患者血清中 Crosslaps 含量较对照组显著升高,其原因是骨质疏松和骨关节疾病导致骨吸收作用增强,I 型胶原降解率增高,引起血清中 Crosslaps 水平增高.

在试验中通过对 53 名女性受试者进行骨组织病理学分析、骨密度检测、影像学检查,确诊其中 32 名女

性均患有不同程度的骨质疏松症.通过进一步对其血清中 FGF23, Crosslaps, 25-(OH)D、血钙、血磷、ALP 检测发现,因骨质疏松引起破骨细胞活动增强、骨吸收作用增大,使 FGF23, Crosslaps、ALP 水平升高而导致 25-(OH)D、血钙、血磷含量下降,进而体现在病理特征上表现为骨小梁厚度降低,骨小梁间距增大、骨密度降低、骨髓腔距离增加、骨小梁面积百分率减少等.因此,上述因子之间除存在一定相关性外,对机体血钙、血磷以及骨密度水平变化均有一定关联.

鉴于此,在骨质疏松症中 FGF23, Crosslaps, 25-(OH)D 三者联合可作为骨质疏松症预防、治疗及预后的一组重要指标.有研究显示,在骨质疏松的预后评估中如依据 BMD 水平,则至少需要 2 年以上,但依据 FGF23, Crosslaps 等骨代谢标志物则在治疗开始后 3 个月左右即可为预后提供可靠信息<sup>[16-17]</sup>.此外,绝经后妇女在体检时如参考以上因子水平可在骨组织产生病理性特征之前发现疾病,为疾病的及早发现、药物定量及治疗都提供了良好的参考价值.因此,FGF23, Crosslaps, 25-(OH)D 等因子水平的变化对于骨质疏松的预防与治疗提供参考和依据.

### 参 考 文 献

- [1] 王春生,苏峰,宗治国.骨质疏松模型建立的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1142-1147.
- [2] Forst H M, Jee W S S. On the rat model of human osteoporosis[J]. Bone Miner, 1992, 18: 227-236.
- [3] Huang Tao, Lin Xiaomian, Li Quchou. Selection of a novel FGF23-binding peptide antagonizing the inhibitory effect of FGF23 on phosphate uptake[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99: 3169-3177.
- [4] Komaba H, Fukagawa M, et al. FGF23: a key player in mineral and bone disorder in CKD[J]. Nefrologia, 2009, 29(5): 392-396.
- [5] 龚英峰.  $\beta$ -Crosslaps, tPINP 与原发骨质疏松症中医证型关系的研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [6] 欧萌萌, 黄建荣. 绝经后妇女骨质疏松症患者血清  $\beta$ -Crosslaps、PINP 和 N-MID 检测的评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 18(4): 238-240.
- [7] 夏征, 张红红, 李春霖. 维生素 D 分子机制及其与成纤维生长因子 23、Klotho 相关性的新进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 11(20): 1360-1364.
- [8] 倪卓, 杨莎, 王应, 等. 骨替代材料的研究方法及进展[J]. 深圳大学学报(理工版), 2015, 32(4): 331-342.
- [9] Yokotal H, Pires A, Raposo J F, et al. Model-Based Analysis of FGF23 Regulation in Chronic Kidney Disease[J]. Gene Regulation and Systems Biology, 2010, 4: 53-60.
- [10] Sridharan M, Cheung J, Moore A E, et al. Circulating Fibroblast Growth Factor-23 Increases Following Intermittent Parathyroid Hormone (1-34) in Postmenopausal Osteoporosis: Association with Biomarker of Bone Formation[J]. Calcif Tissue Int, 2010, 87: 398-405.
- [11] 陈亚希, 张坤, 余希杰. 成纤维细胞生长因子 23 对磷代谢的调控及其临床意义[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2012, 5(3): 157-163.
- [12] 鲍宏达, 汪年松. FGF23 与 CKD 患者钙磷代谢的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(4): 370-372.
- [13] 雒志恒, 吴婕, 祁珊珊, 等. 维生素 D 系统在类风湿关节炎中的作用研究进展[J]. 现代免疫学, 2016, 36(5): 420-23.
- [14] 邢学武, 向川, 卫小春. 骨转换生化标志物及其应用研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2009, 15(8): 610-616.
- [15] Reiko O, Masaaki I, Kiyoshi N, et al. Significance of serum CrossLaps as a predictor of changes in bone mineral density during estrogen replacement therapy; comparison with serum carboxyterminal telopeptide of type I collagen and urinary deoxypyridinoline[J]. J Bone Miner Metab, 2004, 22: 127-131.
- [16] 刘刚, 卢光琇.  $\beta$ -Crosslaps 和 PINP 在绝经后妇女骨质疏松诊断中的效能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 801-802.
- [17] Fukumoto S J. FGF23-FGF Receptor/Klotho Pathway as a New Drug Target for Disorders of Bone and Mineral Metabolism[J]. Calcif Tissue Int, 2016, 98: 334-340.

## Detection and analysis of fibroblast growth factor 23 and crosslaps serum concentration in patients with osteoporosis

Luo Zhiheng<sup>1</sup>, Li Yali<sup>2</sup>, Wang Yongji<sup>1</sup>, Wu Jie<sup>1</sup>, Zhang Bo<sup>2</sup>

(1. Vitamin D Research Institute, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China;

2. San Er Ling Yi Hospital, Medical College, Xi'an Jiaotong University, Hanzhong 723001, China)

**Abstract:** Objective: To explore the relationship between osteoporosis and peripheral blood fibroblast growth factor-23 (Fibroblast growth factor-23, FGF23), I type collagen cross-linking C terminal peptide (Crosslaps) and 25-(OH) D me-

tabolism in patients with osteoporosis (postmenopausal osteoporosis, PMOP). Methods: 32 women with osteoporosis were selected, aged from 48 to 90(OP Group), and 21 healthy persons aged from 31 to 50(Control Group).FGF23, Crosslaps and 25-(OH)D in peripheral blood were detected by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).The use of Automatic blood biochemical analyzer to detect the serum levels of calcium, phosphorous, and Alkaline phosphates (ALP), and to analyze correlation of 25-(OH)D, FGF23, Crosslaps, calcium, phosphorous in patients with OP. Bone mineral density (BMD) measurement and medical imaging detection of 53 subjects. The femoral bone samples of OP patients and healthy people were treated and observed with embedded in paraffin, sectioning and H&E staining. Then, the morphometric analysis was carried out using the pathological image analysis system. Results: Compared with the control group, the OP group's FGF23 and Crosslaps level in serum significantly increased ( $P<0.05$ ). The correlation coefficient between OP's serum levels of 25-(OH)D and FGF23 was  $-0.0122$ , and Crosslaps was  $-0.2317$ . Through the analysis of Bone Histomorphometry, the average thickness of the trabecular bone and the percentage of trabecular bone in OP was significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the spacing of trabecular bone was significantly increased ( $P<0.05$ ) compared with the control group. The bone mineral density of the femoralneck (FN) and Ward's in OP patients were significantly decreased compared with the control group. By imaging examination, the X-ray film of OP group was found to increase with the light, and the trabecular bone became thinner and the bone cortex became thinner. Conclusions OP patients' FGF23 and Crosslaps factor level in serum were correlated with the levels of 25-(OH)D. It is suggested that the changes of serum level of bone metabolism and the relationship between the three can provide reference for the diagnosis and treatment of OP.

**Keywords:** Osteoporosis; fibroblast growth factor-23 (FGF23); crosslaps; 25-(OH)D; bone markers; morphometry

[责任编辑 王凤产]