

· 论 著 ·

血清维生素 K1 水平与绝经后女性腰椎骨密度相关性分析

赵利涛^{1,2*} 荣雪芹² 郑庆玲² 吕海文¹

1. 海南省第三人民医院疼痛脊柱微创中心,海南 三亚 572000

2. 河南科技大学第二附属医院脊柱外科,河南 洛阳 471000

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 04-0489-04

摘要: **目的** 探讨绝经后女性骨密度与血清维生素 K1 水平之间的相关性。**方法** 使用标准化的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测量 46 例绝经后骨质疏松女性和 30 名绝经后健康对照女性的血清维生素 K1 水平。检测腰椎(1~4)的骨密度(bone mineral density, BMD)。**结果** 绝经后骨质疏松女性血清维生素 K1 水平明显低于正常对照组($P < 0.05$),绝经后骨质疏松女性血清维生素 K1 浓度与腰椎 BMD 呈正相关($R = 0.545, P = 0.003$);绝经后正常对照组血清维生素 K1 浓度与腰椎 BMD 呈正相关($R = 0.513, P = 0.009$)。维生素 K1 对骨质疏松症的诊断敏感性和特异性分别为 91% 和 98% (截止值:0.853 ng/mL);维生素 K1 的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.985,奇数比为 18.88。**结论** 维生素 K1 与诊断绝经后骨质疏松症呈负相关。

关键词: 维生素 K1;骨密度;骨质疏松症;绝经后女性;腰椎;酶联免疫吸附试验

Analysis of serum vitamin K1 levels and bone mineral density in postmenopausal women

ZHAO Litao^{1,2*}, RONG Xueqin², ZHENG Qingling², LYU(吕) Haiwen¹

1. Pain Spine Minimally Invasive Center, Third People's Hospital of Hainan Province, Sanya 572000, China

2. Department of Spine Surgery, The Second Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000

* Corresponding author; ZHAO Litao, Email: 2321723508@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between bone mineral density and serum vitamin K1 levels in postmenopausal women. **Methods** Serum levels of vitamin K1 were measured in 46 postmenopausal osteoporotic women, and in 30 postmenopausal healthy control women using a standardized Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) kit. Bone mineral density (BMD) was assessed at the lumbar spine L₁₋₄. **Results** The mean serum vitamin K1 level was significantly lower in the postmenopausal osteoporosis group than in the normal control group ($P < 0.05$), and serum vitamin K1 concentration was positively correlated with lumbar spine BMD among postmenopausal osteoporotic women ($R = 0.545, P = 0.003$), and in postmenopausal healthy controls ($R = 0.513, P = 0.009$). Diagnostic sensitivity and specificity of vitamin K1 for osteoporosis were 91% and 98%, respectively (cut-off value: 0.853 ng/mL). The area under the ROC curve (AUC) value for vitamin K1 was 0.985, and the odd ratio result was 18.88. **Conclusion** Our result suggest that vitamin K1 is negatively correlated with the diagnosis of postmenopausal osteoporosis.

Key words: Vitamin K; bone mineral density; osteoporosis; postmenopausal women; lumbar spine; ELISA

骨质疏松症是一种代谢性骨病,特征为骨密度降低,骨质脆弱,易发生骨折^[1]。随着年龄增加而产生的骨密度降低是由于破骨细胞引导的骨吸收超过成骨细胞引导的骨形成。对于女性来说,20 至 30 岁之间骨骼达到最大密度,峰值骨量保持在一水

平直到 40 岁左右,然后逐渐减少直至更年期,最后下降^[2]。近年来维生素 K 除了在血液凝固中的作用之外,其在骨代谢中的作用正受到更多关注。维生素 K 作为 γ -羧化酶的辅因子发挥生物学作用,可以介导谷氨酸残基(Glu)对 γ -羧基谷氨酸(Gla)的 γ -羧化作用。维生素 K 依赖性蛋白 Gla 蛋白的 β -羧基化对其功能至关重要。一些维生素 K 依赖性蛋白存在于骨中,如骨钙蛋白(骨 Gla 蛋白)和 Matrix

* 通信作者: 赵利涛, Email: 2321723508@qq.com

Gla 蛋白 (MGP)。骨钙素需要维生素 K, 因为其矿物结合能力与在正常骨骼生长和发育中向骨基质添加矿物质有关^[3]。有研究^[4]显示维生素 K 可改善骨矿化并减少破骨细胞的骨吸收。维生素 K 还可以通过刺激骨形成促进骨折修复, 并减少尿液中排出的钙^[4]。这些结果证实了维生素 K 在骨代谢中的重要作用。维生素 K 实际上是一组化合物, 包括维生素 K1 和维生素 K2。维生素 K1 是从绿叶蔬菜和其他一些蔬菜中获得的, 对保持骨骼 Gla 蛋白功能和骨形成的作用显著^[5]。本研究目的是比较绝经后骨质疏松女性和绝经后正常骨密度女性血清维生素 K1 水平以及绝经后女性维生素 K1 水平与骨密度之间的关系。

1 材料和方法

1.1 一般资料

本研究选取 2016 年 12 月至 2018 年 1 月期间在我院病房或者门诊就诊的绝经后女性合并腰背部疼痛且需要进行骨密度检测的患者。入选标准: 根据中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会 2011 年制定的《原发性骨质疏松症诊治指南》推荐的诊断标准, 即在绝经后 5~10 年内, 经双能 X 线骨密度仪检测的骨密度降低程度 ≥ 2.5 个标准差或者 < 1 个标准差。排除标准: 患有肾衰竭、恶性肿瘤、胃肠道异常、甲状腺疾病、甲状旁腺疾病、关节炎或骨软化症等继发性引起骨丢失的患者, 服用骨代谢药物 (雌激素、糖皮质激素、抗惊厥药、维生素 D、钙)、维生素 K 拮抗剂、维生素 K 补充剂的受试者均被排除在外。共有 46 例绝经后骨质疏松症女性 (骨密度降低) 和 30 名健康对照者 (绝经后腰椎和股骨颈骨密度均正常) 入组, 将她们分为研究组 ($n=46$) 和对照组 ($n=30$), 两组之间的年龄相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

1.2 样本收集和检测指标

所有女性均采集晨起空腹静脉血 3~5 mL, 全血在 3 000 r/min 下离心 20 min 获取血清。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA), 根据试剂盒 (Sun Red, China) 说明书上的方法检测维生素 K1 水平。同时记录使用美国 GE 公司生产的 Lunar 双能 X 射线吸收 (DEXA) 骨密度仪检测所获得的腰椎 (L_{1-4}) 骨密度 (bone mineral density, BMD) 和血清维生素 D、钙、磷、ALP 水平。

1.3 统计学分析

获得的数据使用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 通过

Mann-Whitney U 检验比较两个不同组之间维生素 K1 浓度的差异。使用线性回归法评估因变量 BMD 与自变量血清维生素 K1 之间的线性关系。随后, 将线性回归模型拟合到数据中。用 Spearman's 相关系数 ROC 分析各组血清维生素 K1 水平与 BMD 之间的相关性曲线, 用于评估诊断价值。使用灵敏度和特异性的最大总和计算最佳截断值, 并且计算曲线下面积 (0.5 是不区分的, 1.0 是理想的区分)。采用 SPSS 20.0 进行统计分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

两组患者的一般临床特征见表 1。研究组的维生素 K1 水平明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.0001$), 如图 1 A 所示; 两组女性血清 ALP、Ca、P、维生素 D 水平相比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 两组血清维生素 K1 与腰椎 1~4 骨密度的关系如图 1B 和图 1C 所示, 维生素 K1 与 L_{1-4} 骨密度呈正相关; 对所有检测指标进行多元线性回归分析以评估骨密度与血清维生素 K1 之间的关联, 调整多个协变量后, 血清维生素 K1 与绝经后女性脊柱骨密度呈正相关。在所有参加研究的人群中 (研究组和对照组合并为一组), 血清维生素 K1 与腰椎骨密度呈正相关 ($R=0.876$, $R^2=0.787$, $P<0.0001$), 血清维生素 K1 每增加 1 ng/mL, 腰椎骨密度即增加 0.115 g/cm²。进行 ROC 曲线并计算相应的曲线下面积 (AUC)。研究组血清维生素 K1 水平相对于对照组的灵敏度和特异性分别为 91% 和 98%, 截止值为 0.858 ng/mL, 维生素 K1 达到 AUC (0.985)。维生素的 ODD 比例为 18.88, 置信区间为 95% (图 1D)。这些结果表明维生素 K1 对女性骨骼健康有保护作用。

表 1 两组女性血清骨生化指标和维生素 K1 水平

Table 1 The levels of serum biochemical indicators and vitamin K1 in both groups of women

类别	对照组	研究组
年龄/岁	55.8 $\pm$ 0.7	56.3 $\pm$ 1.1
L_{1-4} /(g/cm ²)	1.06 $\pm$ 0.073	0.69 $\pm$ 0.08
BMI/(kg/m ²)	35.67 $\pm$ 4.24	33.18 $\pm$ 5.32
维生素 K1/(ng/mL)	3.64 $\pm$ 1.23	0.78 $\pm$ 0.45
维生素 D/(ng/mL)	30.32 $\pm$ 3.47	28.5 $\pm$ 5.29
钙/(mg/dL)	9.03 $\pm$ 0.39	9.23 $\pm$ 0.45
磷/(mg/dL)	3.19 $\pm$ 0.54	3.18 $\pm$ 0.57
ALP/(IU/L)	75.25 $\pm$ 33	83.34 $\pm$ 39

3 讨论

骨骼是一个代谢活跃的器官, 在整个生命过程

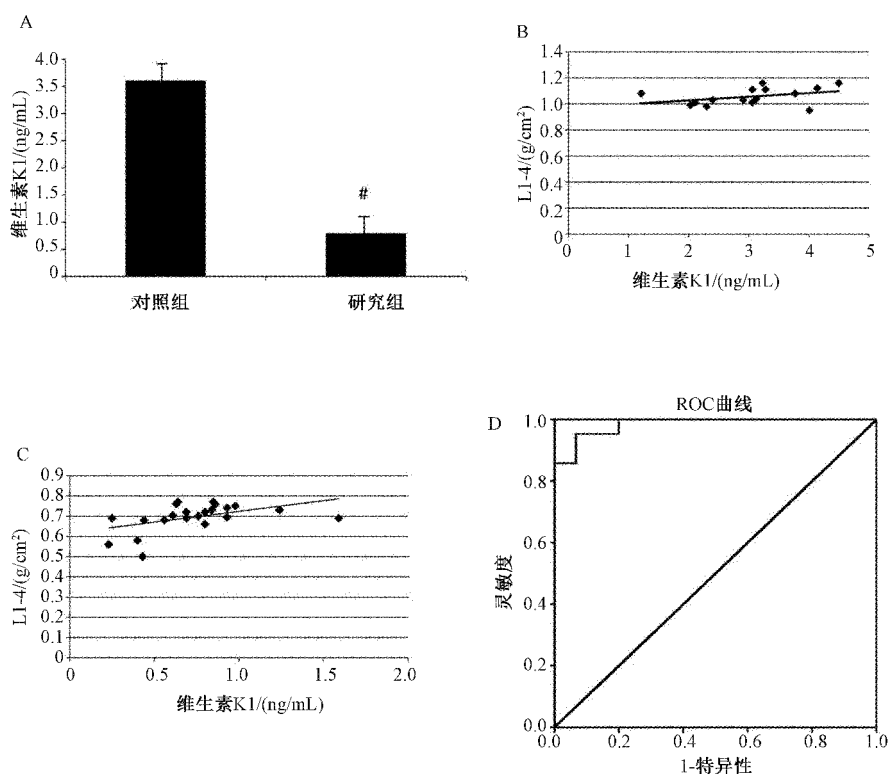


图 1 A: 两组女性的血清维生素 K1 水平 (与对照组相比, $^{\#}P < 0.05$); 图 1B: 对照组女性血清维生素 K1 与 L_{1-4} 骨密度呈正相关 ($R = 0.513, P = 0.009$); 图 1C: 研究组血清维生素 K1 与脊柱骨密度之间存在正相关 ($R = 0.545, P = 0.003$); 图 1D: ROC 分析血清维生素 K1, 曲线下面积 (AUC) 为 (0.985) 95%, $P < 0.0001$

Fig.1 A: Serum vitamin K1 levels in two groups of women ($^{\#}P < 0.05$ compared with the control group); B: serum vitamin K1 in the control group was positively correlated with L_{1-4} bone mineral density ($R = 0.513, P = 0.009$); C: There was a positive correlation between serum vitamin K1 and spinal bone mineral density in the study group ($R = 0.545, P = 0.003$); D: ROC analysis of serum vitamin K1, area under the curve (AUC) was (0.985) 95%, $P < 0.0001$

中不断进行重塑。女性更年期骨丢失在骨折风险方面起着主要作用。绝经后女性骨量减少的基本原因是雌激素合成的减少, 雌激素是育龄期天然骨吸收抑制剂。因此, 骨代谢增加不足以抵消骨吸收的增加是绝经早期女性骨丢失的重要原因^[6]。这种不平衡主要归因于骨骼衰老的正常过程以及遗传和体质因素, 绝经后雌激素水平降低, Ca 调节激素代谢异常, 不健康饮食和生活方式因素 (如吸烟和体力活动不足)。在绝经期间, 骨吸收的增加比骨形成更多, 因此, 骨组织中骨吸收增加, 破骨细胞数量增加, 骨转换增加活化, 导致成骨细胞骨钙素分泌增加, 骨吸收和骨形成均增加^[2]。

骨钙蛋白具有三个谷氨酸 (Gla) 残基, 通过依赖于维生素 K 的过程进行 γ 羧化, 因此骨钙蛋白的 β -羧化对其功能是必需的。 α -羧化骨钙素对羟基磷灰石和骨基质表现出高亲和力, 有助于骨形成^[3]。研究还报道^[7] 了维生素 K 通过完全不同于 β -羧化

的机制来防止骨吸收。

在此次研究中, 笔者发现绝经后骨质疏松女性所在的研究组血清维生素 K1 水平明显低于对照组。一项包括 3 199 名中年苏格兰女性的横断面研究^[8]表明, 膳食摄入叶绿醌 (VK1) 的最高四分位数 ($162 \mu\text{g}/\text{d}$) 的女性腰椎 (L_{2-4}) 和左侧股骨颈的 BMD 明显高于与最低四分位数 ($59 \mu\text{g}/\text{d}$) 女性相应部位的 BMD。Hara 等^[8]研究表明, 在动物细胞实验中, 维生素 K 以剂量依赖的方式抑制由 IL-1 α 、PGE2、PTH 和维生素 D3 诱导的骨吸收。此外, 本研究还显示了绝经后女性血清维生素 K1 浓度与腰椎 BMD 呈正相关。这些数据与 Booth 等^[9]的研究结果一致, 他们发现低雌激素水平的血浆叶绿醌浓度与未使用雌激素替代治疗的绝经后女性低骨密度相关。据亚洲一项研究报道^[10], 在对 379 名 30 岁至 88 岁的女性研究中, 脊柱椎体骨折的高发生率与腰椎骨密度和维生素 K1 浓度呈反相关, 这与笔者

的研究结果一致。Fujita 等^[11]报道,大量摄入纳豆,叶绿醌含量高的发酵大豆和 MK-7 与 BMD 较高有关。Ikeda 等^[12]也报道了相似的结果,在体内骨质疏松症模型中,发现维生素 K 增加骨密度。Hodges 等^[13]的一项研究发现,骨质疏松症患者的维生素 K 水平下降,非羧化骨钙素水平升高。这些发现提示了维生素 K 在骨代谢中的重要作用,因此一直认为它可能会有效治疗骨质疏松症。本研究结果再次证明了维生素 K 对绝经后骨质疏松症骨代谢的重要作用。进一步研究表明维生素 K 的使用会使得骨质疏松症患者骨密度增加,此外,还发现维生素 K 的使用可防止骨量流失和减少骨折的发生^[14]。第五次韩国国家健康和营养调查^[15]涵盖了维生素 K 摄入量数据,该调查纳入了 19 岁以上(男性 2 785 人,女性 4 307 人)的研究对象,报道低维生素 K 摄入量与低骨密度有关。此外,由于女性维生素 K 摄入量增加,骨质疏松症的风险降低,但在调整因素后,这种影响并未延续。该调查建议增加膳食维生素 K 摄入量以保持 BMD。

然而维生素 K 摄入量与骨密度之间的关系在观察性研究中并不一致^[16]。Fang 等^[17]推断维生素 K 补充剂对股骨颈 BMD 没有影响,但补充 6~36 个月平均腰椎 BMD 增加 1.3%(95%CI:0.5~2.1)。在这项荟萃分析中,有 7 项研究利用了维生素 K1,每天的用量为 0.2~10 mg。有 10 项研究利用维生素 K2(8 项使用 MK-4,研究使用 15~45 mg),有两项研究使用 MK-7(0.2~3.6 mg/d),并排除高风险偏倚后的研究,作者推论补充维生素 K 对亚组分析中的腰椎骨密度没有显著影响,他们发现补充维生素 K2 使平均腰椎骨密度增加 1.8%(95%CI:0.9~2.8)。据报道,骨质疏松症与氧化应激有关。此外,维生素 K 作为一种抗氧化维生素,可以有效降低氧化应激水平,并可能对骨骼产生有利的影响,正如几种实验模型所显示的,维生素 K 是骨骼健康所必需的。

总的来说,笔者的研究表明,维生素 K 可能有助于维持 BMD 和诊断绝经后女性的骨质疏松症。然而,此次研究的局限性在于样本量少,且为同一家医院所提供的样本,具有地域特异性。关于维生素 K 对骨质疏松症诊断和治疗的影响以及对骨密度的影响,需要进行更多的研究。

【参 考 文 献】

[1] Lorentzon M, Cummings SR. Osteoporosis: the evolution of a

- diagnosis[J]. *Journal of Internal Medicine*, 2015, 277(6): 650-661.
- [2] Czeczuk A, Hukwieliczuk E, Michalska A, et al. The effect of menopause on bone tissue in former swimmers and in non-athletes[J]. *Advances in Clinical & Experimental Medicine Official Organ Wroclaw Medical University*, 2012, 21(5): 645-652.
- [3] Hoesel CHM, Wehr U, Wenisch S, et al. Diagnosis of Osteoporosis with Vitamin K as a New Biochemical Marker[J]. *Vitamins & Hormones*, 2008, 78: 417-434.
- [4] Shikano K, Kaneko K, Kawazoe M, et al. Efficacy of Vitamin K2 for Glucocorticoid-induced Osteoporosis in Patients with Systemic Autoimmune Diseases[J]. *Internal Medicine*, 2016, 55(15): 1997-2003.
- [5] Bügel S. Vitamin K and bone health in adult humans[J]. *Vitamins & Hormones-advances in Research & Applications*, 2008, 78: 393-416.
- [6] Ivey JL, Baylink DJ. Postmenopausal osteoporosis: Proposed roles of defective coupling and estrogen deficiency[J]. *Metabolic Bone Disease & Related Research*, 1981, 3(1): 3-7.
- [7] Palermo A, Tuccinardi D, D'Onofrio L, et al. Vitamin K and osteoporosis: Myth or reality? [J] *Metabolism-clinical & Experimental*, 2017, 70: 57-71.
- [8] Macdonald HM, McGuigan FE, Lanham-New SA, et al. Vitamin K1 intake is associated with higher bone mineral density and reduced bone resorption in early postmenopausal Scottish women: no evidence of gene-nutrient interaction with apolipoprotein E polymorphisms [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 87(5): 1513-1520.
- [9] Tsugawa N, Shiraki M, Suhara Y, et al. Low plasma phylloquinone concentration is associated with high incidence of vertebral fracture in Japanese women[J]. *Journal of Bone & Mineral Metabolism*, 2008, 26(1): 79-85.
- [10] Finnes TE, Lofthus CM, Meyer HE, et al. A combination of low serum concentrations of vitamins K1 and D is associated with increased risk of hip fractures in elderly Norwegians: a NOREPOS study[J]. *Osteoporosis International*, 2016, 27(4): 1645-1652.
- [11] Fujita Y, Iki M, Tamaki J, et al. Association between vitamin K intake from fermented soybeans, natto, and bone mineral density in elderly Japanese men: the Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) study[J]. *Osteoporosis International*, 2012, 23(2): 705-714.
- [12] Ikeda Y, Iki M, Morita A, et al. Intake of fermented soybeans, natto, is associated with reduced bone loss in postmenopausal women: Japanese Population-Based Osteoporosis (JPOS) Study [J]. *Journal of Nutrition*, 2006, 136(5): 1323-1328.
- [13] Hodges SJ, Akesson K, Vergnaud P, et al. Circulating levels of vitamins K1 and K2 decreased in elderly women with hip fracture [J]. *Journal of Bone & Mineral Research the Official Journal of the American Society for Bone & Mineral Research*, 1993, 8(10): 1241-1245.
- [14] Jaghsi S, Hammoud T, Haddad S. Relation Between Circulating Vitamin K1 and Osteoporosis in the Lumbar Spine in Syrian Post-Menopausal Women[J]. *Open Rheumatology Journal*, 2018, 12(1): 1-9.
- [15] Mi SK, Eun SK, Cheong MS. Dietary intake of vitamin K in relation to bone mineral density in Korea adults: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2010-2011) [J]. *Journal of Clinical Biochemistry & Nutrition*, 2015, 57(3): 223-227.
- [16] Hamidi MS, Cheung AM. Vitamin K and musculoskeletal health in postmenopausal women[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2014, 58(8): 1647-1657.
- [17] Fang Y, Hu C, Tao X, et al. Effect of vitamin K on bone mineral density: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Journal of Bone & Mineral Metabolism*, 2012, 30(1): 60-68.

(收稿日期: 2018-05-03;修回日期: 2018-08-01)