

肠道菌群与老年骨质疏松患者骨密度、骨代谢的相关性^{*}

干佳玥¹, 杨保同¹, 赵大治²

河南科技大学第一附属医院¹检验科,²骨科(河南洛阳 471000)

【摘要】 目的 探讨肠道菌群与老年骨质疏松患者骨密度、骨代谢的关系。方法 选择 60 例老年骨质疏松患者,根据是否发生肠道菌群失调将患者分为肠道菌群正常骨质疏松组(29 例)和肠道菌群失调骨质疏松组(31 例),另选择 51 例老年胃肠道疾病患者(肠道菌群失调无骨质疏松组)和 60 例体检肠道菌群正常无骨质疏松老人(对照组)。荧光定量 PCR 检测肠道菌群相对丰度,双能 X 线骨密度仪检测骨密度,酶联免疫吸附试验检测血清 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列(β -CTX)、骨碱性磷酸酶(B-ALP)、I 型前胶原氨基端前肽(PINP)水平。Pearson 或 Spearman 相关分析肠道菌群与骨密度和 β -CTX、B-ALP、PINP 相关性,二元 logistic 回归分析肠道菌群与老年骨质疏松的相关性。结果 双歧杆菌、梭状芽胞杆菌、韦荣氏球菌相对丰度在对照组、肠道菌群正常骨质疏松组、肠道菌群失调无骨质疏松组、肠道菌群失调骨质疏松组依次降低($F = 254.724, 141.006, 139.338, P < 0.01$)。粪便拟杆菌、单形拟杆菌、多行拟杆菌、诺迪拟杆菌相对丰度依次升高($F = 114.496, 139.730, 354.754, 1227.073, P < 0.01$)。骨密度、血清 B-ALP、PINP 水平在对照组、肠道菌群失调无骨质疏松组、肠道菌群正常骨质疏松组、肠道菌群失调骨质疏松组依次降低($F = 152.316, 25.390, 124.455, P < 0.01$)。血清 β -CTX 水平依次升高($F = 166.962, P < 0.01$)。双歧杆菌、梭状芽胞杆菌、韦荣氏球菌相对丰度与骨密度、B-ALP、PINP 呈正相关($r = 0.741, 0.805, 0.812; 0.762, 0.809, 0.821; 0.749, 0.796, 0.763, P$ 均 < 0.01)。与 β -CTX 呈负相关($r = -0.749, -0.782, -0.766, P$ 均 < 0.01)。粪便拟杆菌、单形拟杆菌、多行拟杆菌、诺迪拟杆菌相对丰度与骨密度、B-ALP、PINP 呈负相关($r = -0.752, -0.759, -0.801; -0.769, -0.763, -0.795; -0.803, -0.748, -0.762; -0.811, -0.748, -0.762, P$ 均 < 0.01)。与 β -CTX 呈正相关($r = 0.750, 0.749, 0.769, 0.758, P$ 均 < 0.01)。糖尿病、肠道菌群失调是老年骨质疏松的危险因素($P < 0.01$)。校正糖尿病影响后肠道菌群失调($OR = 1.307, 95\% CI: 1.015 \sim 1.543$)仍与老年骨质疏松的发生有关($P < 0.01$)。结论 肠道菌群失调可能与老年骨质疏松患者骨代谢紊乱和骨密度下降有关。

【关键词】 肠道菌群; 骨质疏松; 骨密度; 骨代谢; 优势菌

【中图分类号】 R446.5; R681

【文献标志码】 A

DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20222023

The correlations of intestinal flora with bone mineral density and bone metabolism in elderly patients with osteoporosis. GAN Jia-yue^{*}, YANG Bao-tong, ZHAO Da-zhi. ^{*}Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan, China

【Abstract】 Objective To investigate the correlations of intestinal flora with bone mineral density and bone metabolism in elderly patients with osteoporosis. **Methods** A total of 60 elderly osteoporosis patients were selected and divided into intestinal flora normal with osteoporosis group (29 cases) and intestinal flora disorder with osteoporosis group (31 cases) according to whether intestinal flora disorder occurred. Another 51 elderly patients with gastrointestinal diseases (intestinal flora disorder without osteoporosis group) and 60 elderly patients with normal intestinal microflora without osteoporosis (control group) were selected. Relative abundance of fluorescent quantitative PCR was applied for the detection of intestinal flora. Dual-energy X-ray absorptiometry was applied for assessment of bone density. Enzyme-linked immunosorbent assay was applied for assessment of the serum collagen type I carboxyl end peptide β special sequence (β -CTX), bone alkaline phosphatase (B-ALP) and collagen type I N-propeptide (PINP) level. Pearson or Spearman correlation was applied to analyze the correlations of intestinal flora with bone mineral density, β -CTX, B-ALP, PINP correlation. Binary Logistic regression was applied to analyze the correlation between intestinal flora and senile osteoporosis.

^{*} 基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(20180203854)

sis. Results The relative abundance of *Bifidobacterium*, *Clostridium*, and *Veronsii* were significantly reduced in the control group, intestinal flora normal with osteoporosis group, intestinal flora disorder without osteoporosis group, and intestinal flora disorder with osteoporosis group ($F = 254.724, 141.006$ and $139.338, P < 0.01$); while the relative abundance of *Bacteroidetes faecalis*, *Bacteroidetes monoformis*, *Bacteroidetes polytropis* and *Bacteroidetes nodi* were significantly increased ($F = 114.496, 139.730, 354.754, 1227.073, P < 0.01$). Bone mineral density, serum B-ALP and PinP levels were significantly reduced in the control group, intestinal flora disorder without osteoporosis group, intestinal flora normal with osteoporosis group and intestinal flora disorder with osteoporosis group ($F = 152.316, 25.390, 124.455, P < 0.01$); while serum β -CTX level was significantly increased ($F = 166.962, P < 0.01$). *Bifidobacterium*, *clostridium difficile*, and *Weirong aureus* relative abundance were significantly positively correlated with BMD, ALP and PINP ($P < 0.01$); and negatively correlated with beta CTX ($P < 0.01$). Fecal bacteroides, simplex bacteroides, multi-line bacteroides and *nordiibacteroidetes* relative abundance were significantly negatively correlated with BMD, B-ALP and PINP ($P < 0.01$); and positively correlated with beta CTX ($P < 0.05$). Diabetes mellitus and intestinal microflora disorder were risk factors for senile osteoporosis ($P < 0.01$). After adjusting for diabetes mellitus, intestinal microflora disorder ($OR = 1.307, 95\% CI: 1.015 - 1.543$) was still significantly associated with the occurrence of senile osteoporosis ($P < 0.01$). **Conclusion** The disturbance of intestinal flora may be related to bone metabolism disorder and senile osteoporosis.

【Key words】 intestinal flora; osteoporosis; bone mineral density; bone metabolism; dominant fungi

骨质疏松是一种与年龄相关的退行性疾病,由正常骨转换异常导致成骨细胞和破骨细胞之间平衡性破坏引起,以骨微结构改变,骨量和骨密度降低,易引发骨折为特点,是老年人主要的致残和致死病因之一^[1]。肠道菌群是人体最大最复杂的微生物群落,参与人体新陈代谢、免疫反应过程^[2],肠道菌群失调可导致肥胖、代谢紊乱、自身免疫性疾病等疾病^[3]。近年来研究发现糖皮质激素诱导的大鼠骨质疏松模型中存在肠道菌群多样性、结构改变^[4],肠道菌群失调可加重骨代谢紊乱,补充益生菌可增加健康个体的骨密度,预防雌激素缺乏以及继发性骨质疏松症^[5],提示肠道菌群与骨质疏松存在一定联系,但是目前国内相关临床报道仍十分少见。I型胶原羧基端肽 β 特殊序列(type I collagen breakdown products, β -CTX)是破骨细胞在骨吸收过程中降解产生的特异性产物,可直观反映骨吸收活性。骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, B-ALP)是成骨细胞分泌的参与骨质代谢的特异性标志物,可促进钙(Ca)吸收和磷(P)排泄,I型前胶原氨基端前肽(N-terminal propeptide of type I procollagen, PINP)则反映成骨细胞合成骨胶原的能力,是新骨形成的特异性敏感性指标^[6]。为明确肠道菌群失调与骨质疏松之间关系,为临床治疗提供新的方向和策略,本研究特探讨了肠道菌群与骨密度、骨代谢的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 1 月至 2021 年 12 月

我院收治的 60 例老年骨质疏松患者,纳入标准:

(1) 符合《中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)》诊断标准^[6]; (2) 年龄 ≥ 60 岁; (3) 入组前未进行抗骨质疏松、纠正骨代谢失衡治疗。排除标准: (1) 骨密度正常者; (2) 合并骨关节炎、骨结核、骨肿瘤、甲状腺亢进、库欣综合征等影响骨代谢的疾病; (3) 肠道急慢性感染,溃疡性结肠炎,消化道肿瘤、高尿酸、高脂血症、痛风等可能引起肠道菌群失调疾病; (4) 合并免疫疾病、血液系统疾病、急慢性感染者; (5) 近 6 个月服用糖皮质激素、抗甲状腺、抗癫痫等影响骨代谢的药物。

肠道菌群失调诊断标准^[7]: (1) 诱发肠道菌群失调原发病; (2) 腹泻、腹痛、腹胀等典型临床症状; (3) 粪便检测球/杆菌比大于 1:3 或粪便菌群涂片或培养提示非正常细菌增多,占绝对优势。根据是否发生肠道菌群失调将患者分为肠道菌群正常骨质疏松组(29 例)和肠道菌群失调骨质疏松组(31 例)。另在同时段选择 51 例老年胃肠道疾病患者(肠道菌群失调无骨质疏松组)和于我院门诊体检中心体检的 60 例老人作为对照组,肠道菌群失调无骨质疏松组、对照组均经骨密度测量排除骨质疏松,同时对照组排除胃肠道疾病、甲状腺功能障碍、内分泌异常、心脑血管疾病、肝肾功能障碍、免疫系统疾病、肥胖、慢性阻塞性肺疾病等。本研究已经获得我院伦理委员会批准(201800618) 4 组受试者均知情同意本研究内容和目的,签署同意书。

肠道菌群失调骨质疏松组、肠道菌群正常骨质

疏松组烟酒史比例、合并高血压比例、合并糖尿病比例、合并高脂血症比例高于对照组 ($P < 0.013$) , 肠道菌群失调骨质疏松组合并糖尿病比例高于肠道菌

群正常骨质疏松组 ($P < 0.013$) , 其他比较差异无统计学意义 ($P > 0.013$) 。见表 1。

表 1 各组基线资料比较

| 基线资料 | 肠道菌群失调 骨质疏松组 ($n = 29$) | 肠道菌群正常 骨质疏松组 ($n = 31$) | 肠道菌群失调 无骨质疏松组 ($n = 51$) | 对照组 ($n = 60$) | F/χ^2 值 | P 值 |
|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------|--------------|-------|
| 性别(例) | | | | | 0.086 | 0.993 |
| 男 | 10 | 11 | 19 | 21 | | |
| 女 | 19 | 20 | 32 | 39 | | |
| 年龄(岁) | 68.15 ± 5.19 | 68.91 ± 5.36 | 68.05 ± 5.42 | 68.25 ± 5.17 | 0.185 | 0.906 |
| 体质指数(kg/m^2) | 22.65 ± 1.69 | 22.96 ± 1.52 | 22.46 ± 1.37 | 22.91 ± 1.55 | 1.080 | 0.359 |
| 烟酒史[例(%)] | 13(44.83)* | 15(48.39)* | 19(37.26) | 10(16.67) | 12.738 | 0.005 |
| 基础疾病[例(%)] | | | | | | |
| 高血压 | 10(34.48)* | 11(35.48)* | 15(29.41) | 7(11.67) | 9.388 | 0.025 |
| 糖尿病 | 24(82.76)* Δ | 15(48.39)* | 14(27.45) | 6(10.00) | 45.590 | 0.000 |
| 绝经年限(年) | 15.23 ± 3.49 | 15.47 ± 3.05 | 14.72 ± 3.36 | 14.19 ± 3.57 | 0.775 | 0.510 |
| 骨质疏松病程(年) | 6.12 ± 1.35 | 6.05 ± 1.41 | | | 0.196 | 0.845 |

注: * 与对照组比较 $P < 0.05$; Δ 与肠道菌群正常骨质疏松组比较 $P < 0.05$

1.2 肠道菌群检测 所有受试者入组后均采集患者粪便标本, 浸入 1 mL TE buffer 震荡, 采用 Fore-gene Blood mini 试剂盒(成都福际生物技术有限公司)提取肠道菌群 DNA。SYBR Green 荧光染料(购自西安瑞禧生物科技有限公司)染色后, 雅睿 MA-6000 荧光定量 PCR 仪(济南欧莱博电子商务有限公司)上机检测。应用克隆基因构建的质粒作为标准品, 构建菌属标准曲线, 计算益生菌(双歧杆菌、梭状芽胞杆菌、韦荣氏球菌)、中性菌(大肠埃希菌、瘤胃球菌、肠球菌、毛螺科菌)、致病菌(粪便拟杆菌、单形拟杆菌、多行拟杆菌、诺迪拟杆菌)相对丰度。益生菌相对丰度降低, 致病菌相对丰度增加为菌群失调。

1.3 骨密度、骨代谢检测 骨密度: 所有受试者入组后均采用美国 Hologic Discovery A 型双能 X 线骨密度仪测定髋关节、大转子、股骨颈、胸腰椎的 BMD 值, 取 4 个部位 3 次测量的平均值。骨代谢: 所有受试者入组后第 2 天清晨采集静脉血 3 mL 注入干燥试管, 待血液自然凝固后取上层液离心 ($3\,000\text{ r}/\text{min}$, 离心半径 15 cm, 时间 10 min) 取血清上机检测, 采用酶联免疫吸附试验方法化验 β -CTX、B-ALP、PINP, 仪器为 ALISEI 全自动酶标仪(意大利 SEAC 公司), 试剂盒购自上海酶联生物公司。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计软件, Kolmogorov-Smirnov 法检验计量资料拟合优度, 符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示采用独立样本 t 检验。偏态

计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 采用 Wilcoxon 秩和检验。以例(%)表示计数资料采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验。Pearson 或 Spearman 相关系数描述肠道菌属与骨密度和骨代谢指标之间相关性, 二元 logistic 回归分析肠道菌群与老年骨质疏松的相关性。检验水准 $\alpha = 0.05$ 或 0.013。

2 结果

2.1 肠道菌群正常组和肠道菌群失调组肠道菌群丰富比较 双歧杆菌、梭状芽胞杆菌、韦荣氏球菌相对丰度在对照组、肠道菌群正常骨质疏松组、肠道菌群失调无骨质疏松组、肠道菌群失调骨质疏松组依次降低 ($P < 0.01$), 粪便拟杆菌、单形拟杆菌、多行拟杆菌、诺迪拟杆菌相对丰度依次升高 ($P < 0.01$)。4 组瘤胃球菌、毛螺科菌、大肠埃希菌、肠球菌比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

2.2 肠道菌群正常组和肠道菌群失调组骨密度和骨代谢指标比较 骨密度、血清 B-ALP、PINP 水平在对照组、肠道菌群失调无骨质疏松组、肠道菌群正常骨质疏松组、肠道菌群失调骨质疏松组依次降低 ($P < 0.01$), 血清 β -CTX 水平依次升高 ($P < 0.01$), 见表 3。

2.3 肠道菌群与骨密度和骨代谢的相关性 双歧杆菌、梭状芽胞杆菌、韦荣氏球菌相对丰度与骨密度、B-ALP、PINP 呈正相关 ($P < 0.05$), 与 β -CTX 呈负相关 ($P < 0.05$), 粪便拟杆菌、单形拟杆菌、多行拟杆菌、诺迪拟杆菌相对丰度与骨密度、B-ALP、

PINP 呈负相关 ($P < 0.05$) ,与 β -CTX 呈正相关 菌相对丰度与骨密度和骨代谢指标无相关性 ($P > 0.05$) 瘤胃球菌、毛螺科菌、大肠埃希菌、肠球 ($P < 0.05$) ,见表 4。

表 2 肠道菌群相对丰度差异

 $\bar{x} \pm s$

| 肠道菌属 | 肠道菌群失调 骨质疏松组 ($n=29$) | 肠道菌群正常 骨质疏松组 ($n=31$) | 肠道菌群失调 无骨质疏松组 ($n=51$) | 对照组 ($n=60$) | F/Z 值 | P 值 |
|--------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------|-----------|-------|
| 双歧杆菌 | 12.52 \pm 3.65 * Δ ▲ | 32.05 \pm 6.25* | 16.96 \pm 3.16 * Δ | 37.96 \pm 6.02 | 254.724 | <0.01 |
| 梭状芽胞杆菌 | 10.24 \pm 2.26 * Δ ▲ | 19.35 \pm 4.11* | 13.05 \pm 2.31 * Δ | 23.51 \pm 4.08 | 141.006 | <0.01 |
| 韦荣氏球菌 | 6.32 \pm 1.13 * Δ ▲ | 12.05 \pm 3.11* | 8.58 \pm 1.15 * Δ | 15.85 \pm 3.05 | 139.338 | <0.01 |
| 瘤胃球菌# | 6.02(2.11 ,10.02) | 6.12(2.03 ,10.87) | 6.11(2.05 ,10.13) | 6.17(2.05 ,10.96) | 0.815 | 0.143 |
| 粪便拟杆菌 | 15.52 \pm 2.63 * Δ ▲ | 8.46 \pm 2.09* | 10.42 \pm 2.59 * Δ | 6.03 \pm 2.01 | 114.496 | <0.01 |
| 单形拟杆菌 | 17.05 \pm 2.11 * Δ ▲ | 10.20 \pm 2.07* | 13.98 \pm 2.05 * Δ | 8.35 \pm 2.13 | 139.730 | <0.01 |
| 毛螺科菌# | 9.12(3.26 ,12.26) | 9.06(3.11 ,13.62) | 9.06(3.12 ,11.98) | 9.08(3.15 ,13.05) | 0.642 | 0.375 |
| 多行拟杆菌 | 10.02 \pm 1.15 * Δ ▲ | 6.02 \pm 0.43* | 8.05 \pm 1.23 * Δ | 4.15 \pm 0.41 | 354.754 | <0.01 |
| 诺迪拟杆菌 | 8.57 \pm 0.61 * Δ ▲ | 5.02 \pm 0.39* | 7.61 \pm 0.53 * Δ | 3.09 \pm 0.40 | 1 227.073 | <0.01 |
| 大肠埃希菌 | 9.26 \pm 0.85 | 9.05 \pm 0.72 | 9.22 \pm 0.81 | 8.92 \pm 0.79 | 1.840 | 0.142 |
| 肠球菌 | 9.15 \pm 0.73 | 9.03 \pm 0.63 | 9.13 \pm 0.72 | 9.05 \pm 0.71 | 0.265 | 0.851 |

注: * 与对照组比较 $P < 0.05$; Δ 与肠道菌群正常骨质疏松组比较 $P < 0.05$; ▲与肠道菌群失调无骨质疏松组比较 $P < 0.05$; #用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示

表 3 肠道菌群正常组和肠道菌群失调组骨密度和骨代谢指标的差异

 $\bar{x} \pm s$

| 肠道菌属 | 肠道菌群失调 骨质疏松组 ($n=29$) | 肠道菌群正常 骨质疏松组 ($n=31$) | 肠道菌群失调 无骨质疏松组 ($n=51$) | 对照组 ($n=60$) | F/Z 值 | P 值 |
|----------------------|------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------|---------|-------|
| 骨密度# | -3.15(-2.85 , -3.96) * Δ ▲ | -2.88(-2.51 , -3.36) * Δ | 1.29(-0.96 , 2.05) * | 1.52(-0.95 , 2.13) | 152.316 | <0.01 |
| β -CTX(ng/mL) | 0.63 \pm 0.19 * Δ ▲ | 0.50 \pm 0.13 * Δ | 0.58 \pm 0.09* | 0.42 \pm 0.10 | 25.390 | <0.01 |
| B-ALP(ng/L) | 52.27 \pm 6.35 * Δ ▲ | 82.16 \pm 10.57 * Δ | 90.02 \pm 9.52* | 95.12 \pm 12.06 | 121.455 | <0.01 |
| PINP(ng/mL) | 42.91 \pm 6.35 * Δ ▲ | 89.15 \pm 12.71 * Δ | 99.07 \pm 10.43* | 105.12 \pm 16.47 | 166.962 | <0.01 |

注: * 与对照组比较 $P < 0.05$, Δ 与肠道菌群失调无骨质疏松组比较 $P < 0.05$; ▲与肠道菌群正常骨质疏松组比较 $P < 0.05$; #用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示

表 4 肠道菌群与骨密度和骨代谢相关系数

| 指标 | 骨密度 | | β -CTX | | B-ALP | | PINP | |
|--------|--------|-------|--------------|-------|--------|-------|--------|-------|
| | r/rs 值 | P 值 | r/rs 值 | P 值 | r/rs 值 | P 值 | r/rs 值 | P 值 |
| 双歧杆菌 | 0.741 | <0.01 | -0.749 | <0.01 | 0.762 | <0.01 | 0.749 | <0.01 |
| 梭状芽胞杆菌 | 0.805 | <0.01 | -0.782 | <0.01 | 0.809 | <0.01 | 0.796 | <0.01 |
| 韦荣氏球菌 | 0.812 | <0.01 | -0.766 | <0.01 | 0.821 | <0.01 | 0.763 | <0.01 |
| 瘤胃球菌 | 0.165 | 0.725 | -0.201 | 0.623 | 0.129 | 0.915 | 0.137 | 0.883 |
| 粪便拟杆菌 | -0.752 | <0.01 | 0.750 | <0.01 | -0.759 | <0.01 | -0.801 | <0.01 |
| 单形拟杆菌 | -0.769 | <0.01 | 0.749 | <0.01 | -0.763 | <0.01 | -0.795 | <0.01 |
| 毛螺科菌 | -0.192 | 0.695 | 0.150 | 0.824 | -0.173 | 0.705 | -0.162 | 0.732 |
| 多行拟杆菌 | -0.803 | <0.01 | 0.769 | <0.01 | -0.792 | <0.01 | -0.744 | <0.01 |
| 诺迪拟杆菌 | -0.811 | <0.01 | 0.758 | <0.01 | -0.748 | <0.01 | -0.762 | <0.01 |
| 大肠埃希菌 | -0.203 | 0.620 | 0.169 | 0.815 | 0.187 | 0.687 | 0.201 | 0.623 |
| 肠球菌 | -0.173 | 0.705 | 0.143 | 0.861 | 0.195 | 0.642 | 0.188 | 0.705 |

2.4 老年骨质疏松因素分析 以老年人骨质疏松为因变量(赋值: 0 = 否, 1 = 是) ,纳入年龄、性别、体质量、高血压(赋值: 0 = 否, 1 = 是) 、糖尿病(赋值: 0 = 否, 1 = 是) 、肠道菌群失调(赋值: 0 = 否, 1 = 是)

为自变量, 向后逐步法排除无关变量, 最终结果显示糖尿病、肠道菌群失调是老年骨质疏松的危险因素 ($P < 0.01$) ,见表 5。校正糖尿病影响后肠道菌群失调 ($OR = 1.307$,95% CI : 1.015 ~ 1.543) 仍与老年

骨质疏松的发生有关($P < 0.01$)。

表 5 影响老年骨质疏松的 logistic 回归方程

| 因素 | β 值 | SE 值 | Wald χ^2 值 | OR 值 | 95% CI | P 值 |
|--------|-----------|-------|-----------------|-------|---------------|-------|
| 糖尿病 | 0.206 | 0.084 | 6.014 | 1.229 | 1.042 ~ 1.449 | 0.015 |
| 肠道菌群失调 | 0.395 | 0.106 | 13.886 | 1.484 | 1.206 ~ 1.827 | 0.000 |

3 讨论

人类肠道菌群由 1 000 多种不同的微生物组成,正常人体肠道内菌群之间相互依存和竞争,与宿主免疫系统相互作用,处于动态平衡中,但是受饮食、环境、年龄、病理状态等因素影响可发生不同程度菌群失调。肠道菌群失调可导致条件致病菌数量增加,通过调节肠道上皮的营养吸收,黏膜和全身免疫系统、跨肠道内皮屏障信号转导途径等影响远处器官^[8-9],导致代谢疾病、营养不良、神经系统疾病、恶性肿瘤和心血管疾病等^[8,10-12]。随着对肠道菌群研究的不断深入,学者们发现肠道菌群失调与骨量丢失、骨质疏松之间也存在一定关系^[13]。

本研究肠道菌群失调骨质疏松组肠道优势菌群丰度降低,机会致病菌丰富增加,同时伴骨密度降低,说明肠道菌群紊乱可能与骨骼矿物质流失以及骨质疏松症有关。Li 等^[14]发现低骨密度者存在肠道菌群紊乱,拟杆菌属数量增加,双歧杆菌和乳杆菌数量减少与骨密度降低有关,随着双歧杆菌数量的增加骨密度也相应地增加。Das 等^[15]团队也发现骨质疏松患者骨密度值的降低与肠道微生物群的变化有关。本研究发现肠道菌群失调无骨质疏松组患者已出现骨密度下降,骨代谢异常,且肠道菌群失调骨质疏松组患者表现更为严重,说明肠道菌群失调在骨质疏松未发生前已经在某种程度上影响骨代谢和骨密度。经回归分析结果显示肠道菌群失调是老年骨质疏松的危险因素,说明肠道菌群失调是导致老年人骨质疏松的原因之一。研究显示肠道菌群可通过调节内分泌调节骨骼发育,肠道菌群紊乱可抑制甾体激素生成,促使核因子- κ B 受体活化因子配体(RANKL),转化生长因子、白细胞介素-17 产生,促使外源性肾上腺皮质激素生成抑制机体对钙的吸收,促使破骨细胞分化^[16],导致骨量丢失。肠道菌群还可通过调节免疫反应参与骨代谢调节,肠道微生物及其代谢物可促使 Th 细胞活化和释放大量促炎因子,诱导 RANKL 合成,促进破骨细胞产生,影响骨代谢和重建^[17]。

本研究相关性分析结果显示益生菌丰度与骨密

度、B-ALP、PINP 呈正相关,与 β -CTX 呈负相关,而致病菌属丰度则相反,表明肠道致病菌丰富增加、益生菌丰富降低可能引起骨代谢异常。研究显示双歧杆菌是肠道最常见的优势菌和有益菌,可调节肠道营养物质以及维生素合成代谢满足骨骼代谢所需养分,维持骨量,梭状芽胞杆菌通过诱导 T 调节细胞分化参与肠道整体功能^[18]和骨骼稳态^[19]的维持。梭状芽胞杆菌可将肠道膳食纤维发酵并产生丁酸盐,丁酸盐是一种短链脂肪酸,可调节破骨细胞代谢和骨稳态,具有刺激骨骼形成,增加骨量,抑制破骨细胞分化和骨吸收的作用^[20]。韦荣氏球菌属于厚壁菌门,参与大豆异黄酮在肠道内转化为雌马酚的过程^[21],而雌马酚具有调节内源性激素的作用,韦荣氏球菌减少将引起雌马酚产生减少和雌激素缺乏,导致骨吸收抑制。可见肠道菌群紊乱可能影响正常骨代谢,破坏骨稳态平衡,进而引起骨量流失和骨质疏松的发生。

本研究创新之处在于阐述了肠道菌群与老年骨质疏松患者骨密度和骨代谢的关系,结果证实肠道菌群紊乱可能通过影响骨代谢导致骨量丢失和骨密度下降。但老年骨质疏松患者肠道微生物通过何种途径影响骨代谢和骨密度尚需进一步研究证实。本研究不足之处为样本例数偏少,可能导致统计学偏倚,尚待进一步扩大样本例数,开展多中心研究加以证实。

利益相关声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献说明:干佳玥、杨保同共同设计研究方案,实施研究过程,论文撰写。干佳玥同时负责分析试验数据、论文修改。杨保同同时负责统计学分析。赵大治负责资料收集整理,论文审核。

参考文献

- [1] 祝晓雨,张伟光,赵志刚. 骨质疏松症国内外药物治疗的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(5): 588 - 592.
- [2] 袁冰舒,赵海龙,李丽娟. 肠道细菌与肥胖及 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 天津医药, 2019, 47(10): 1102 - 1107.
- [3] 孙博文,杨孟雪,杨波,等. 肠道菌群在自身免疫性甲状腺疾病发生中的作用机制研究进展[J]. 山东医药, 2019, 59

- (33): 88-91.
- [4] 马思聪, 郝永强, 富灵杰. 基于 16S rRNA 高通量测序技术分析 I 型骨质疏松大鼠肠道菌群结构变化[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(3): 366-371.
- [5] Collins FL, Rios-Arce ND, Schepper JD, et al. The Potential of Probiotics as a Therapy for Osteoporosis[J]. Microbiol Spectr, 2017, 5(4): 10.
- [6] 马远征, 王以朋, 刘强, 等. 中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)[J]. 中国实用内科杂志, 2019, 39(1): 38-61.
- [7] 《中华消化杂志》编委会, 王兴鹏. 肠道菌群失调诊断治疗建议[J]. 中华消化杂志, 2009, 29(5): 335-337.
- [8] Hernandez CJ, Guss JD, Luna M, et al. Links Between the Microbiome and Bone[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(9): 1638-1646.
- [9] 李子林, 顾文钦, 沈恬. 骨质疏松症与肠道菌群间联系的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, 39(10): 1214-1217.
- [10] 张天清, 李小刚. 帕金森病与肠道菌群的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(4): 443-445.
- [11] 靳雅荣, 宋鑫. 肠道菌群干预肿瘤负性免疫调控机制的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(3): 215-221.
- [12] 霍星宇, 耿婕. 肠道菌群及其代谢产物与心血管疾病关系的研究进展[J]. 天津医药, 2020, 48(5): 460-464.
- [13] Ma S, Qin J, Hao Y, et al. Association of gut microbiota composition and function with an aged rat model of senile osteoporosis using 16S rRNA and metagenomic sequencing analysis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(11): 10795-10808.
- [14] Li C, Huang Q, Yang R, et al. Gut microbiota composition and bone mineral loss - epidemiologic evidence from individuals in Wuhan, China[J]. Osteoporos Int, 2019, 30(5): 1003-1013.
- [15] Das M, Cronin O, Keohane DM, et al. Gut microbiota alterations associated with reduced bone mineral density in older adults[J]. Rheumatology (Oxford), 2019, 58(12): 2295-2304.
- [16] Li JY, Chassaing B, Tyagi AM, et al. Sex steroid deficiency - associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics[J]. J Clin Invest, 2016, 126(6): 2049.
- [17] Charles JF, Ermann J, Aliprantis AO. The intestinal microbiome and skeletal fitness: connecting bugs and bones[J]. Clin Immunol, 2015, 159(2): 163-169.
- [18] Lopetuso LR, Scaldaferri F, Petito V, et al. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis[J]. Gut Pathog, 2013, 5(1): 23.
- [19] Bozec A, Zaiss MM. T Regulatory Cells in Bone Remodelling[J]. Curr Osteoporos Rep, 2017, 15(3): 121-125.
- [20] Lucas S, Omata Y, Hofmann J, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 55.
- [21] Rafii F. The role of colonic bacteria in the metabolism of the natural isoflavone daidzin to equol[J]. Metabolites, 2015, 5(1): 56-73.

(收稿日期: 2022-05-13 编辑: 陈兵)