·综 述·

1型糖尿病对骨折愈合影响的研究进展

蔡龙，向川*
（山西医科大学第二临床医学院骨科，太原 030001）

【摘 要】 骨折是指骨结构的连续性完全或部分断裂。当合并有1型糖尿病（T1DM）时会降低骨强度，增加骨折风险。且治疗不当会产生骨延迟愈合、不愈合及感染性骨髓炎等并发症。因糖尿病（DM）产生的高糖血症和低胰岛素血症会使晚期糖基化终末产物和炎症因子表达增加，使骨愈合过程中胶原蛋白功能、微血管结构、骨吸收和重塑过程以及生物力学环境发生改变，这些变化都不利于骨折愈合的发展。目前T1DM影响骨折愈合的分子机制尚未明确表述。针对此问题，本文通过查阅国内外近几年相关文献，进行了分析和综述，以期为临床医师对合并有糖尿病的骨折患者靶向治疗提供理论依据。

【关键词】 骨折愈合；1型糖尿病；炎症；机制
【中图分类号】 R816.8 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.10.184

Effects of type 1 diabetes mellitus on the healing of fractures

CAI Long, XIANG Chuan*
(Department of Orthopedics, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【Abstract】 Bone fracture is a complete or partial break of the bone structure. Concomitant type 1 diabetes mellitus (T1DM) weakens the bone strength and increases the risk of fractures. Moreover, improper treatment is not conducive to the healing process of the fracture, resulting in the delayed healing, bone nonunion, infectious osteomyelitis and other complications. Hyperglycemia and hypoinsulinemia caused by diabetes mellitus (DM) may increase the expression of advanced glycation end products (AGEs) and inflammatory factors, altering the collagen functions, microvascular structures, bone absorption, reconstruction and biomechanical environment in the healing process of the fractured bone. These changes are not conducive to the healing of the fracture. At present, the molecular mechanism of the effects of T1DM on the healing fractures remains little known. This review is intended to investigate such effects, and thought to be beneficial for treating patients with diabetes mellitus combined with bone fracture.

【Key words】 fracture healing; diabetes mellitus, type 1; inflammation; mechanism

Corresponding author: *XIANG Chuan*, *E-mail*: *xcml7275@163.com*

骨折是骨科十分常见的一种创伤。然而骨折愈合是一个极为复杂的过程：由起始炎症反应、原始骨痂形成、内外骨痂与桥梁骨痂融合及骨重塑4个过程共同协调完成[1]。研究表明，影响骨折愈合的因素有很多，其中糖尿病（diabetes mellitus，DM）对骨折愈合过程的影响较大，合并DM的骨折患者骨折断端发生骨延迟愈合、骨不连的概率较正常人群显著增加[2]。1型糖尿病（type 1 diabetes mellitus，T1DM）以往被称为胰岛素依赖性糖尿病，主要是因胰岛B细胞破坏导致的胰岛素分泌绝对不足，并以高血糖为特征，是一种慢性代谢性紊乱性疾病，可引起多系统的功能损害。有研究表明，T1DM患者血液中晚期糖基化终末产物（advanced glycation end products，AGEs）累积量较多，血清骨钙素水平和甲状旁腺激素（parathyroid hormone，PTH）水平明显降低，骨折风险显著增加[3,4]。亦有研究指出，DM患者的许多病理生理过程可能影响着骨愈合过程[5]。本文拟从多角度就T1DM对骨折愈合过程的影响作以下综述。

1 T1DM对骨组织局部微循环影响

骨折愈合过程需依赖血液供应，当骨组织血液供应明显减少时，骨不愈合的概率达到46%，这可能与血管的机械性损伤、骨折部位血管的解剖结构及患者的生理疾病相关[6]。在骨膜反应期和骨痂形成期，血管内皮生长因子（vascular endothelial

收稿日期：2018-01-24；修回日期：2018-04-21
通信作者：向川，E-mail：xcml7275@163.com

growth factor, VEGF)表达量增加,新生血管增多,从而促进骨膜的生长[7]。受伤局部新生血管具有转运功能,将骨母细胞转运至受伤部位,并表达骨钙蛋白、骨桥蛋白及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)来促进新生骨的形成。此外,局部新生血管还能通过调节氧张力和提供生长因子促进骨折愈合[6]。然而T1DM在很大程度上会对血管生长和结构产生较不利的影响[8]。DM引起的高血糖状态能激活ALP,提升还原型辅酶Ⅱ/辅酶Ⅰ(nicotina-mide adenine dinucleotide phosphate/nicotinamide adenine dinucleotide, NADPH/NAD^+)比值,导致氧化应激和炎症反应的发生,从而使炎症因子如白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死生长因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)表达增加,使血管内皮细胞功能发生紊乱,VEGF表达降低,最终影响微血管的形成,不能为局部组织提供必需物质,影响骨折愈合[9]。

另一方面,有研究认为T1DM可通过磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/IκB激酶复合体途径或者Ras/有丝分裂原活化蛋白激酶(Ras/mitogen-activated protein kinase, RAS/MAPK)途径抑制叉头框O(Fork head box O, FOXO)发生磷酸化,降低FOXO1表达,加速微血管内皮细胞凋亡,从而影响到局部受损骨组织微血管的形成[10,11]。亦有研究通过对DM大鼠股骨干骨折1~3周内骨折愈合情况的观察发现,与正常对照组比较,DM组大鼠VEGF-C的表达明显下降,新生血管形成明显减少[12]。还有研究通过实时荧光定量PCR分析发现,DM患者血清中晚期糖基化终产物受体(recepter of advanced glycation end products, RAGE) mRNA表达增加,而RAGE可通过由乙二醛酶介导的核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB)途径上调AGEs水平,从而促进氧化应激反应的发生,并通过c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)-(Dickopff-1)-糖原合成酶激酶(glycogen synthase kinase, GSK)3β-tau途径[13-15],最终影响局部微血管结构稳定性。

2 T1DM对骨细胞活性影响

炎症因子参与骨折愈合过程的各个阶段,能够调节成骨细胞和破骨细胞活性,影响骨痂的形成及重塑。有研究认为,正常机体内NF-κB受体活化因子配基(receptor activator of NF-KB ligand, RANKL)、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, MCSF)以及转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)的表达量在骨重塑阶段出现了下降,这可能为骨髓的形成创造有利条件。

有研究通过对大鼠骨折后第4周骨组织形态学的分析发现,T1DM慢性炎性状态会使骨髓干细胞分化延迟,随之骨细胞生成延迟[16]。Coe等[17,18]发现在T1DM大鼠骨折愈合初始阶段,高血糖状态会加重局部炎症反应,使TNF-α分泌量增多,并通过调控胱天蛋白酶-3(Caspase 3, Casp-3)活性使Bax/Bcl-2比值增加,使骨髓微环境随之发生改变,最终加快成骨细胞凋亡。且T1DM大鼠血糖水平与成骨细胞凋亡程度呈正相关[19,20],提示糖尿病骨折愈合早期就有较多的成骨细胞发生凋亡,造成骨愈合能力下降,而这可能由于低胰岛素血症抑制了骨细胞增殖、分化及成骨细胞骨形成能力。Wu等[21]通过对大鼠原代成骨细胞进行体外培养、Western blotting技术分析胰岛素受体(insulin receptor, IR)及羧化不全骨钙素(under-carboxylated osteocalcin, ucOC)水平发现,高血糖状态会降低胰岛素敏感性,且ucOC表达水平下降,成骨细胞增殖被抑制。补充研究发现,胰岛素和维生素D联合治疗能抑制高糖对成骨细胞产生的有害影响,使ucOC的百分比提高了40%左右[12],这可能与胰岛素通过IR直接调节成骨细胞基因的表达、增强成骨细胞活性、促进局部骨痂组织形成有关。在缺乏TNF-α受体基因的(p55-/p75-)小鼠骨折修复过程中,骨髓干细胞分化明显减少,软骨内组织的修复延迟了2~3周[22],表明适度的TNF-α对调节骨髓干细胞具有重要作用。另外,DM的高血糖状态能够激活Casp活性,使TNF-α表达量过度增加,从而引起骨细胞的凋亡,出现骨缺损部位修复的延迟,而通过抑制Casp-3表达后,炎症反应明显减少,骨内膜骨痂形成增加,成骨细胞活性及骨耦合亦增加[18,23]。另有证实在一些DM或DM并发症中,通过限制FOXOs活性,亦可促进骨折愈合的发展[11]。

3 T1DM对胶原蛋白功能的影响

在骨折愈合初期阶段,局部骨痂形成需要大量的胶原蛋白来维持骨痂结构和骨强度。目前发现,Ⅰ~Ⅲ、Ⅴ、Ⅸ、Ⅺ、Ⅻ、Ⅹ、Ⅳ型等胶原蛋白可直接参与骨修复过程。在骨折愈合过程中,胶原蛋白的基因表达和生成有一定规律性,且受到DM的影响。

有研究通过制作T1DM大鼠胫骨斜型骨折模型,于伤后第1,2,4,6周取骨痂组织进行检测,观察Ⅰ型胶原蛋白在正常组和观察组骨愈合过程早期骨痂形成中表达情况,发现正常组Ⅰ型胶原蛋白表达高峰在第2周出现,而观察组高峰在第3周出现,且

观察组大鼠Ⅰ型胶原蛋白表达量明显降低[24]。另外，DM能够下调Ⅰ型胶原蛋白的多态性，改变血清钙水平，影响PTH/维生素D的比率，从而导致骨矿化功能障碍、骨强度降低及骨脆性增加等，使骨愈合处二次骨折风险增加。亦有研究通过原子力学光谱法检测发现，DM能使骨的有机基质（主要是Ⅰ型胶原蛋白）发生非酶类糖基化反应，出现AGEs累积，使Ⅰ型胶原蛋白功能下降，从而降低骨的延展性和韧性，进而改变生物力学活性，这可能由于DM改变胶原纤维之间的相互作用引起[25,26]。最近Saito等[27]研究发现，DM引起的高糖血症和氧化应激会使AGEs增加，通过RANKs途径使胶原蛋白功能紊乱；且由于糖异生过程的紊乱，赖氨酸氧化酶基因表达下降，酶铰链反应降低，导致胶原蛋白功能降低，最终影响骨的质量和强度。

总之，T1DM可影响骨痂形成过程中的胶原代谢，减少胶原蛋白合成，抑制骨组织修复，但其机制尚未研究清楚，还需要进一步的考究。

4 T1DM对生物力学作用的影响

骨折愈合过程的骨生物力学可分为一期骨愈合和二期骨愈合，生物力学的建立会受到胶原蛋白、矿物质量、骨结构、骨密度等诸多因素的共同影响。在原始骨痂形成期，TNF-α能够促进间充质干细胞诱导的肥大性软骨细胞的凋亡和软骨矿化的吸收，这个过程RANKL和MCSF亦参与其中[22]。骨形态发生蛋白-5/-6（bone morphogenetic protein-5/-6，BMP-5/-6）的表达在原始骨痂形成期增多，使膜内和软骨内发生骨化，为加强骨折愈合后期骨的机械强度做充分准备[7]。

T1DM能改变骨组织生物力学特性，因此不利于骨折愈合过程的发展。研究发现，在T1DM大鼠模型中，DM会影响骨皮质骨结构，使骨小梁体积缩小并降低组织矿物质密度（tissue mineral density，TMD）值，增加骨脆性，扰乱骨强度-结构关系，而这些改变均不利于骨折愈合过程中生物力学强度的建立[28,29]。Follak等[16]通过对DM大鼠模型股骨干骨折局部矿物化组织荧光染色以及三点弯曲试验分析发现，与正常组相比，模型组骨愈合过程中破坏骨痂所需的能量、失效负载量的峰值、刚硬度以及抗压值均下降了2~3倍，提示DM不仅能显著减少骨矿化并且能够使骨矿化发生延迟。然而，一些研究却表明DM会增加骨矿化（但骨矿化的质量是降低的），还会影响钙的沉积量，改变骨生物力学，这可能与高血糖症导致的持续性炎症反应增加了前炎性细胞激素有关[4,30]。Farlay等[4]通过对临床病例研究得出了同样的结论。另外，有研究通过实时定量PCR及免疫组织化学技术分析发现，DM合并骨折的大鼠模型早期成骨标记物（Colla2，骨桥蛋白）的表达受到了抑制，这亦会导致骨膜下区域矿化组织比率和机械强度降低[12]。

综上，T1DM会影响骨愈合过程中骨矿化的质量、骨结构以及骨密度的正常建立，而这些均不利于骨折愈合生物力学稳定性的形成，原因可能与高血糖症状导致的持续性炎症反应密切相关。

5 总结

T1DM可激活炎症反应通路，促进氧化应激的发生，产生大量的AGEs和炎症因子（如TNF-α），通过复杂的调控机制降低骨折愈合过程中主要胶原蛋白的功能、减少局部微血管的生成、加剧骨细胞凋亡的发生和增加局部骨痂脆性，最终影响了骨折愈合过程，而这可能与T1DM的高血糖症产生的慢性持续性炎症状态密切相关。

【参考文献】

[1] Giganti MG, Tresoldi I, Masuelli L, *et al*. Fracture healing: from basic science to role of nutrition[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2014, 19(5): 1162-1175.

[2] Lee S, Yang Y, Tsai TH, *et al*. 5-alpha-reductase inhibitors and the risk of diabetes mellitus: a nationwide population-based study[J]. Prostate, 2016, 76(1): 41-47. DOI: 10.1002/pros.23097.

[3] Santana RB, Xu L, Chase HB, *et al*. A Role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2003, 52(6): 1502-1510.

[4] Farlay D, Armas LA, Gineyts E, *et al*. Nonenzymatic glycation and degree of mineralization are higher in bone from fractured patients with type 1 diabetes mellitus[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(1): 190-195. DOI: 10.1002/jbmr.2607.

[5] Beam HA, Parsons JR, Lin SS. The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus[J]. J Orthop Res, 2010, 20(6): 1210-1216. DOI: 10.1016/S0736-0266(02)00066-9.

[6] Lehmann W, Edgar CM, Wang K, *et al*. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) coordinately regulates the expression of specific matrix metalloproteinases (MMPS) and angiogenic factors during fracture healing[J]. Bone, 2005, 36(2): 300-310. DOI: 10.1016/j.bone.2004.10.010.

[7] Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing[J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(3): 513-520.

[8] Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, *et al*. Role of advanced glycation end product (AGE)-induced receptor (RAGE) expression in

diabetic vascular complications[J]. Microvasc Res, 2014, 95(1): 1-6. DOI: 10.1016/j.mvr.2014.06.010.

[9] Domingueti CP, Dusse LM, Carvalho Md, *et al*. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications[J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(4): 738-745. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2015.12.018.

[10] Behl Y, Krothapalli P, Desta T, *et al*. FOXO1 plays an important role in enhanced microvascular cell apoptosis and microvascular cell loss in type 1 and type 2 diabetic rats[J]. Diabetes, 2009, 58(4): 917-925. DOI: 10.2337/db08-0537.

[11] Rached MT, Kode A, Silva BC, *et al*. FOXO1 expression in osteoblasts regulates glucose homeostasis through regulation of osteocalcin in mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(1): 357. DOI: 10.1172/JCI39901.

[12] Paglia DN, Wey A, Breithart EA, *et al*. Effects of local insulin delivery on subperiosteal angiogenesis and mineralized tissue formation during fracture healing[J]. J Orthop Res, 2013, 31(5): 783-791. DOI: 10.1002/jor.22288.

[13] Xie J, Méndez JD, Méndez-Valenzuela V, *et al*. Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products(RAGE)[J]. Cell Signal, 2013, 25(11): 2185-2197. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.06.013.

[14] Su D, Coudriet GM, Hyun KD, *et al*. FOXO1 links insulin resistance to proinflammatory cytokine IL-1beta production in macrophages[J]. Diabetes, 2009, 58(11): 2624-2633. DOI: 10.2337/db09-0232.

[15] Alblowi J, Kayal RA, Siqueira M, *et al*. High levels of tumor necrosis factor-alpha contribute to accelerated loss of cartilage in diabetic fracture healing[J]. Am J Pathol, 2009, 175(4): 1574-1585. DOI: 10.2353/ajpath.2009.090148.

[16] Follak N, Klöting I, Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2005, 21(3): 288-296. DOI: 10.1002/dmrr.537.

[17] Coe LM, Irwin R, Lippner D, *et al*. The bone marrow microenvironment contributes to type I diabetes induced osteoblast death[J]. J Cell Physiol, 2011, 226(2): 477-483. DOI: 10.1002/jcp.22357.

[18] Kayal RA, Siqueira M, Alblowi J, *et al*. TNF-alpha mediates diabetes-enhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis through FOXO1[J]. J Bone Miner Res, 2010, 25(7): 1604-1615. DOI: 10.1002/jbmr.59.

[19] Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes — a meta-analysis[J]. Osteoporos Int, 2007, 18(4): 427-444. DOI: 10.1007/s00198-006-0253-4.

[20] Botolin S, Faugere MC, Malluche H, *et al*. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma 2 expression in type 1 diabetic mice[J]. Endocrinology, 2005, 146(8): 3622-3631. DOI: 10.1210/en.2004-1677.

[21] Wu YY, Yu T, Zhang XH, *et al*. 1,25(OH)2D3 inhibits the deleterious effects induced by high glucose on osteoblasts through undercarboxylated osteocalcin and insulin signaling[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2012, 132(1-2): 112-119. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2012.05.002.

[22] Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, *et al*. Impaired fracture healing in the absence of TNF-alpha signaling: the role of TNF-alpha in endochondral cartilage resorption[J]. J Bone Miner Res, 2010, 18(9): 1584-1592. DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.9.1584.

[23] Pacios S, Andriankaja O, Kang J, *et al*. Bacterial infection increases periodontal bone loss in diabetic rats through enhanced apoptosis[J]. Am J Pathol, 2013, 183(6): 1928-1935. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.08.017.

[24] Hampson G, Evans C, Petitt RJ, *et al*. Bone mineral density, collagen type 1 alpha 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus[J]. Diabetologia, 1998, 41(11): 1314-1320.

[25] Shen G. The role of type X collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage[J]. Orthod Craniofac Res, 2010, 8(1): 11-17.

[26] Gooch HL, Hale JE, Fujioka H, *et al*. Alterations of cartilage and collagen expression during fracture healing in experimental diabetes[J]. Connect Tissue Res, 2000, 41(2): 81-91.

[27] Saito M, Kida Y, Kato S, *et al*. Diabetes, collagen, and bone quality[J]. Curr Osteoporos Rep, 2014, 12(2): 181-188. DOI: 10.1007/s11914-014-0202-7.

[28] Tang SY, Vashishth D. Non-enzymatic glycation alters microdamage formation in human cancellous bone[J]. Bone, 2010, 46(1): 148-154. DOI: 10.1016/j.bone.2009.09.003.

[29] Tang SY, Zeenath U, Vashishth D. Effects of non-enzymatic glycation on cancellous bone fragility[J]. Bone, 2007, 40(4): 1144-1151. DOI: 10.1016/j.bone.2006.12.056.

[30] Garcia-Hernandez A, Arzate H, Gil-Chavarria I, *et al*. High glucose concentrations alter the biomineralization process in human osteoblastic cells[J]. Bone, 2012, 50(1): 276-288. DOI: 10.1016/j.bone.2011.10.032.

（编辑：张芙）